

Josiane Braga Scarpa

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE UM GEL COM
REDUZIDA CONCENTRAÇÃO DE FLUORETO E
SUPLEMENTADO COM HEXAMETAFOSFATO EM
INIBIR A DESMINERALIZAÇÃO DO ESMALTE
DENTÁRIO. ESTUDO *IN VITRO*.**

**Araçatuba – SP
2011**

Josiane Braga Scarpa

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE UM GEL COM REDUZIDA CONCENTRAÇÃO DE FLUORETO E SUPLEMENTADO COM HEXAMETAFOSFATO EM INIBIR A DESMINERALIZAÇÃO DO ESMALTE DENTÁRIO. ESTUDO *IN VITRO*.

Trabalho de Conclusão de Curso como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Orientadora: Prof^a Dr^a Kikue Takebayashi Sasaki

Coorientador: Prof. Dr. Alberto Carlos B. Delbem

**Araçatuba - SP
2011**

Dedicatória

Dedico em especial a Deus por me conceder o dom e a honra de lidar com a vida, sua obra prima e por ter me guiado até aqui. “Daí-me, Senhor, a perseverança das ondas do mar que fazem de cada recuo um ponto de partida para um novo avanço” .
(Cecília Meireles).

A minha mãe, Ana Maria Braga Scarpa, pelos ensinamentos, zelo, carinho e proteção incansáveis em todos esses anos em que me ausentei de casa para seguir meus estudos e completar meu trabalho de conclusão. Ao meu pai, Délio Mancilha Scarpa, pelo exemplo de honestidade e vida, bem como dedicação e carinho não me deixando faltar nada nesses anos que estive em Araçatuba. Vocês são os pilares de minha formação, minha força e luz nos momentos mais difíceis. Toda vitória e progresso vêm da luta, lágrima e sofrimento por um ideal e, esta tão sonhada vitória, dedico a vocês!

Aos meus queridos irmãos, Adelita e Alexandre, por depositarem confiança nos meus passos e pelo exemplo de profissionalismo, garra e determinação!

A toda minha família, avôs(ós), tios(as) e primos (as), madrinhas, padrinhos que sempre me incentivaram e ajudaram; que me transmitiram credibilidade quando precisei! Obrigada pelas palavras de incentivo de todos os familiares que torceram por mim, em especial, à minha vó, tio Nonô e tia Maria!

Aos verdadeiros amigos por terem compartilhado momentos inesquecíveis de alegria tornando mais prazeroso o caminho percorrido!

Aos mestres da UNESP pela responsabilidade e excelência na formação de Cirurgiões-Dentistas completos na essência do saber. Mestre: Homem que ensina; aquele que é versado em alguma ciência ou arte; homem superior e de muito saber, e que serve de ensino ou lição. Muito obrigada a vocês por me ensinar as lições do ofício, semeando em mim a vontade de tocar minha própria música e escolher as notas que me cabem, com a coragem e a perícia para acreditar em mim mesma. Não se pode ensinar tudo a alguém mas pode-se ajudá-lo a encontrar por si mesmo... e vocês me ajudaram muito!

Eternamente grata a todos vocês pois educar é mais que uma arte, é a ciência moral de entregar ao mundo pessoas que fazem a diferença!

“ Vidi, Vini, Vinci”

Agradecimentos

À minha orientadora Prof^ª. Ass. Kikue Takebayashi Sassaki,
Muito obrigada pela oportunidade de realizar projetos de iniciação científica. Obrigada pela paciência para comigo, pelo carinho, por sua dedicação e principalmente por sua disponibilidade para sanar qualquer tipo de dúvidas relativas ao TCC. Obrigada pelo exemplo de profissionalismo e de pessoa.

Ao meu coorientador Prof^º. Ad. Alberto Carlos Botazzo Delbem
Agradeço seu exemplo de dedicação à pesquisa, disponibilidade, paciência e apoio durante a realização do meu trabalho.
Fica aqui minha admiração, respeito e eterna gratidão pela aprendizagem durante esta caminhada.

À doutoranda Marcelle Danelon,
Por ter sido uma irmã para mim todos esses anos; uma pessoa ímpar que esteve comigo em todos os momentos (bons ou ruins) não me abandonando nunca, me apoiando, ensinando, com muito esforço, dedicação, carinho, paciência e profissionalismo. Um exemplo de humildade a ser seguido, uma pessoa que eu nunca irei esquecer por sua sapiência de vida. Obrigada por sua disponibilidade, pelos dias incansáveis de ciclagem, por tudo o que fez por mim nesse trabalho. Obrigada pelo companheirismo e pela compreensão.
Você é uma pessoa iluminada por Deus!

À Universidade Estadual Paulista, pela oportunidade da graduação e em especial ao departamento de Odontologia Infantil e Social, disciplina de Odontopediatria pelo clima agradável de convivência e amizade de todos!

Ao frigorífico FRIBOI por permitir a coleta dos dentes bovinos para pesquisa.

Em suma, a todos que direta ou indiretamente cooperaram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos!

Epígrafe

PROCURO

*Minhas mãos tateiam o espaço
à procura de paz.
Minhas mãos são conchas vazias.
Tanto ainda a aprender,
tempo de matar e tempo de curar;
tanto mar a percorrer,
tanto ainda que sonhar!*

*E na limitação do meu tempo
todas as horas da história...*

*Minhas mãos tateiam palavras
soltas, espalhadas pela estrada.
E sonho o ilimitado, o imutável,
como um jardineiro sonha
as pétalas eternas de uma rosa.*

*Não sou apenas mãos.
Não sou apenas palavras*

*Dentro de mim um rio de perguntas
deságua num velho oceano
Não há respostas.
Falta-me a compreensão necessária
Tanto ainda a aprender!*

(Janete Cortez Escatena)

Scarpa,J.B. **Avaliação da eficácia de um gel com reduzida concentração de fluoreto e suplementado com Hexametáfosfato em inibir a desmineralização do esmalte dentário. Estudo *in vitro*.** Trabalho de Conclusão de Curso - Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2011.

Resumo

O declínio de cárie dentária nas últimas décadas tem sido atribuído ao amplo uso de fluoreto (F) sob diversas formas de apresentação e aplicação. A aplicação do gel fluoretado visa maior formação de fluoreto de cálcio (CaF_2) o qual se manteria em contato com o esmalte durante um período mais prolongado, mas sua alta concentração de F traz também maior risco de intoxicação aguda. O objetivo do presente estudo foi avaliar *in vitro* se a suplementação de um gel de concentração reduzida de F com hexametáfosfato (HMP) resulta numa capacidade em reduzir a desmineralização do esmalte dentário comparável a de um gel padrão de maior concentração de F. Foram selecionados 120 blocos de esmalte bovino através da medida da dureza de superfície (SH1) e divididos em seis grupos experimentais (n=20) tratados com os seguintes géis: 1) gel Placebo, sem F e sem HMP (grupo controle); 2) gel com HMP 9%, 3) gel com 4500 μg F/g, 4) gel com 4500 μg F/g + HMP 9%, 5) gel com 9000 μg F/g, 6) gel com 12300 μg F/g de pH ácido. Os blocos foram tratados uma única vez com os respectivos géis. Dez blocos de cada grupo foram analisados quanto à concentração de CaF_2 formado. Os outros dez blocos foram submetidos a cinco ciclagens de pH (pH 4,7- 6h e pH 7,0-18h) durante 7 dias. Após as ciclagens de pH, determinou-se a dureza de superfície final (SH2) para o cálculo da porcentagem de alteração da dureza de superfície e em seguida, a concentração de CaF_2 (retido). Os resultados foram submetidos à análise de variância seguido do teste de Bonferroni ($p < 0,05$). O tratamento com gel contendo 4500 μg F/g + HMP 9% resultou em alteração de dureza de superfície menor do que a do não suplementado ($p < 0,05$) e semelhante a dos grupos 9000 μg F/g e Gel ácido (12300 μg F/g).

A concentração de CaF_2 formado foi maior que a do grupo gel com 4500 $\mu\text{g F/g}$, entretanto, menor que a dos grupos 9000 $\mu\text{g F/g}$ e Gel ácido ($p < 0,05$). Este último apresentou o maior valor entre todos os grupos. Com relação ao CaF_2 retido, todos os grupos mostraram resultados semelhantes entre si, com exceção do grupo placebo que apresentou o menor valor. Com base nos resultados obtidos, conclui-se que é possível se obter uma eficácia equivalente a de um gel padrão em inibir a desmineralização, mesmo com concentração menor de F, suplementando-se o gel com hexametáfosfato e que essa ação não está relacionada com maior formação de fluoreto de cálcio.

Palavras-chave: Esmalte dentário. Flúor. Fosfato. Desmineralização. Gel Tópico.

Scarpa,J.B. **Evaluation of the efficacy of a gel with low concentration of fluoride and supplemented with hexametaphosphate in inhibiting demineralization of tooth enamel. *In vitro* study.** Trabalho de Conclusão de Curso - Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2011.

Abstract

The decline of tooth decay in recent decades has been attributed to widespread use of fluoride (F) in various forms of presentation and application. The application of fluoride gel is intended to make the formation of calcium fluoride (CaF_2) which would remain in contact with the enamel for a longer period, but its high concentration of F also brings increased risk of acute poisoning. The purpose of this study was to evaluate *in vitro* whether supplementation of a gel of low concentration of F with hexametaphosphate (HMP) results in an ability to reduce the demineralization of tooth enamel comparable to a standard gel of higher concentration of F. Blocks (n=120) of bovine enamel were selected by measuring the surface hardness (SH1) and divided into six experimental groups (n = 20) treated with the following gels: 1) placebo gel without F and HMP (control group); 2) 9% HMP gel; 3) 4500 $\mu\text{gF/g}$ gel; 4) 4500 $\mu\text{gF/g}$ + 9% HMP gel; 5) 9000 $\mu\text{gF/g}$ gel; 6) 12,300 $\mu\text{gF/g}$ acid gel. The blocks were treated with the respective gels during one minute. Ten blocks of each group were analyzed for concentration of CaF_2 formed. The other ten blocks were subjected to five pH-cycling (pH 4.7/ 6h and pH 7.0/18h) during 7 days. After pH-cycling the final surface hardness (SH2) was measured and the percentage of surface hardness alteration was calculated. The concentration of CaF_2 retained was also determined. The results were submitted to analysis of variance followed by Bonferroni test ($p < 0.05$). The treatment with gel containing 4,500 $\mu\text{gF/g}$ + 9% HMP resulted in a percentage of surface hardness alteration lower than the non supplemented group ($p < 0.05$) and similar to 9000 $\mu\text{gF/g}$ and

acid gel groups ($p > 0.05$). The concentration of CaF_2 formed was higher than non supplemented group, however, lower than 9000 $\mu\text{gF/g}$ and acid gel groups ($p > 0.05$). The latter showed the highest value among all groups. With respect to CaF_2 retained, all groups showed similar results, except the placebo group which showed the lowest value. Based on these results, it was concluded that it is possible to obtain an efficacy equivalent to that of a standard gel to inhibit demineralization, even with lower concentration of F, supplementing the gel with hexametaphosphate and that this action is not related to higher formation of calcium fluoride.

Keywords: Dental enamel. Fluoride. Phosphate. Demineralization. Topic gel.

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 - Porcentagem de alteração da dureza de superfície (média $\pm$ dp, n=10) de acordo com os grupos (regime de tratamento). 25

Figura 2 - Concentração (média $\pm$ dp, n= 10) de fluoreto de cálcio ($\mu\text{g F/cm}^2$) formado e retido na superfície do esmalte de acordo com os grupos (regime de tratamento). 25

LISTA DE TABELA

Tabela 1- Dosagem de Fluoreto nos géis experimentais e comercial.	24
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

ATF	Aplicação tópica de flúor
°C	Graus Celsius
Ca	Cálcio
CaF ₂	Fluoreto de cálcio
cm	Centímetro
cm ²	Centímetro quadrado
DP	Desvio padrão
F	Fluoreto
FDA	Food and Drug Administration
FFA	Fluorofosfato acidulado
g	Grama
h	Hora
HCl	Ácido clorídrico
HMP	Hexametafosfato
KCl	Cloreto de potássio
KHN	Unidade de dureza Knoop
KOH	Hidróxido de Potássio
L	Litro
N	Número de amostra
NaF	Fluoreto de sódio
P	Fósforo
pH	Potencial de Hidrogênio
s	Segundos
SH1	Dureza de superfície inicial
SH2	Dureza de superfície final
TISAB	Total Ionic Strenght Adjustment Buffer
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mm	Milímetro

mm ²	Milímetro quadrado
mol L ⁻¹	Mol por litro
mmol L ⁻¹	Milimol por litro
mV	Milivolts
µg	Micrograma
µm	Micrômetro
%ASH	Porcentagem de alteração de dureza de superfície

Sumário

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA	14
2 PROPOSIÇÃO	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS	19
4 RESULTADOS	24
5 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO	27
6 REFERÊNCIAS	30
8 ANEXOS	34

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

Ao longo do século XX, o fluoreto (F) foi o principal agente utilizado na prevenção da cárie dentária em todo o mundo, sendo oferecido à população de maneiras diversas. O F está presente na água de abastecimento público e utilizado em diversas formas e diferentes concentrações: prescrição de suplementos, aplicação tópica de géis e soluções, vernizes fluoretados e ainda pela ampla utilização dos dentifrícios fluoretados (van Rijkom et al., 1998; Marinho et al., 2003a; Marinho et al., 2003b; Marinho et al., 2004). Devido à introdução no mercado de vários métodos alternativos, o F alcançou comunidades onde não havia água de abastecimento fluoretada, o que é conhecido como “efeito halo” (Lima e Cury, 2001).

A ação dos agentes fluoretados utilizados na prevenção da cárie dentária pode ser dividida em duas grandes categorias: sistêmica e tópica. Acreditava-se que o efeito inibidor da cárie era devido à incorporação do F nos cristais de hidroxiapatita durante a formação dos dentes, o que colaborava por tornar o esmalte dentário mais resistente às quedas de pH. Este fato levou à adição de F nas águas de abastecimento público e o efeito sistêmico era considerado o principal responsável pelo declínio da cárie dentária (Hicks et al., 2004).

Atualmente sabe-se que o F tem maior importância quando disponível topicamente na cavidade bucal (Cury, 2001). Há um grande consenso de que o F importante é aquele que é mantido constantemente na cavidade bucal, o qual interfere diretamente no desenvolvimento e progressão da lesão de cárie, reduzindo a quantidade de minerais perdidos, inibindo a desmineralização e aumentando a remineralização (Ten Cate, 1990).

Vários produtos fluoretados que visam a prevenção da cárie dentária e a sua remineralização, têm sido utilizados com o intuito de manter o F tópico na cavidade bucal, colaborando para uma maior formação de fluoreto de cálcio. Dentre estes produtos encontram-se no mercado os dentifrícios fluoretados, vernizes, espumas e géis fluoretados. A aplicação desses produtos como o gel, a espuma e o verniz, tem como objetivo maior formação de CaF_2 , e, com isto favorecer a manutenção de F constante no meio bucal (Moreno, 1993, Hicks et al., 2004).

Os vernizes fluoretados foram incorporados na clínica odontológica com o mesmo objetivo de reduzir e prevenir a cárie dentária e a sua utilização tem

aumentado progressivamente desde que foi aprovada pelo FDA (Food and Drug Administration) em 1994. Cho e Lo (2006) através de revisões de literatura de estudos clínicos relacionados ao uso de vernizes fluoretados, concluíram que o verniz fluoretado possui eficácia no tratamento e prevenção da cárie dentária, assim como apresenta segurança e facilidade de aplicação.

Os produtos fluoretados de utilização profissional apresentam alta concentração de F, o que leva a uma preocupação quanto ao risco de intoxicação aguda em virtude da elevada concentração de F na cavidade bucal após a sua utilização e possibilidade de ingestão durante a aplicação na criança. Por esta razão houve uma preocupação na busca de meios mais seguros na utilização do F, principalmente em crianças. Uma forma encontrada e recentemente lançada no mercado é a espuma fluoretada, que apresenta menor risco de intoxicação à criança, pois devido à sua consistência, menor quantidade é necessária para aplicação. Jiang et al. (2007) compararam em um estudo clínico de 2 anos a redução da cárie em crianças que recebiam semestralmente aplicação tópica de espuma fluoretada com as que não recebiam. Concluíram que a utilização de espuma fluoretada foi eficaz na redução do incremento de cárie na dentição decídua em crianças de 3 a 4 anos de idade. A aplicação tópica de espumas fluoretadas reduz a incidência de cárie dentária, semelhante aos géis fluoretados (Jiang et al. 2005). Outros estudos demonstram que a incorporação de F após sua aplicação é maior (Whitford et al., 1995) e há menor risco de intoxicação.

O gel fluoretado tem sido amplamente utilizado em tratamentos preventivos, reduzindo a incidência de cárie dentária assim como no tratamento de cárie incipiente. Ferreira et al. (2005) mostraram em um estudo clínico que aplicação tópica de flúor (ATF) associada à escovação supervisionada é capaz de deter lesões de cárie incipiente. Já Villena et al. (2009) através de um estudo *in situ* observaram não haver diferenças entre os tempos de 1 a 4 min de aplicação de gel de fosfato de flúor acidulado (FFA) em termos de aumento da concentração de F no esmalte e redução de sua desmineralização frente a um desafio cariogênico. A diminuição do tempo de aplicação contribuiria para a diminuição do risco de intoxicação em crianças.

O gel fluoretado mais utilizado atualmente é o acidulado com 1,23% de fluoreto de sódio (NaF). Há evidências de que sua eficácia varie de 30 a 50% (van

Rijkom et al., 1998). Entretanto, é preciso cautela quando utilizamos em crianças, devido ao risco de intoxicação aguda se o produto for ingerido em excesso.

Por outro lado, nos últimos anos, os produtos que apresentam maior alteração na sua composição para o aumento da sua efetividade são os dentifrícios fluoretados. A adição de F ao dentifrício teve início na década de 60 e embora seu amplo uso tenha sido responsável pelo declínio na prevalência da cárie (Stookey et al., 2004), foi acompanhado por um aumento da incidência de fluorose dentária (Ten Cate, 2004). Esse fato levou alguns autores a procurarem uma forma de reduzir a concentração de F nos dentifrícios sem alterar sua eficácia.

O aumento da eficácia do dentifrício pode ser obtido pela redução de seu pH e consequente aumento na formação de fluoreto de cálcio (Brighenti et al., 2006). Estudos *in vitro* mostraram que dentifrícios de pH ácido com reduzida concentração de F (550 µgF/g) tinham eficácia similar a de dentifrícios neutros contendo 1100 µgF/g F (Brighenti et al., 2006; Alves et al., 2007).

Outro recurso para aumentar a eficácia do dentifrício é a suplementação com cálcio e/ou fosfato, uma vez que o processo da remineralização, embora seja intensificado pelo F, depende primariamente da presença desses íons na saliva (Schemehorn et al., 1999 a,b).

A eficácia de fosfatos na ação anticárie foi demonstrada por Harris et al. (1967). A suplementação com α -tricálcio-fosfato em gomas de mascar provoca um aumento na reserva de cálcio e fosfato no biofilme dental, causando uma maior resistência ao desafio cariogênico (Vogel et al., 2000). Dentre os sais de fosfato com atividade anticariogênica, o trimetafosfato (TMP) parece ser o mais importante (Gonzalez et al., 1973). Takeshita et al. (2009) demonstraram, *in vitro*, que a suplementação com TMP 1% em um dentifrício de reduzida concentração de F (500 µg F/g) mostrou uma ação semelhante a de um dentifrício padrão de 1100 µg F/g. Trabalhos clínicos utilizando dentifrícios com TMP 3% não associado a F mostraram uma ligeira redução nos incrementos de cárie quando comparados a um dentifrício placebo (Ständler, 1996).

A literatura relata também a ação do hexametafosfato (HMP) na prevenção da formação de cálculos (Schiff et al., 2005), remoção de manchas dentárias (Baig et al., 2005), proteção contra a formação de novas manchas, tendo uma boa cobertura e retenção na superfície do dente. Stookey et al., (2004) acompanharam crianças de

9 a 12 anos clinicamente e radiograficamente, comprovando que dentifrício contendo fluoreto estanhoso de 1100 µgF/g associado ao HMP provoca uma redução das lesões de cárie dentária quando comparado ao grupo controle de baixa concentração de F 500 µg F/g e obtendo ação semelhante ao dentifrício de alta concentração de F de 2800 µg F/g. Ainda Papas et al., (2007) demonstraram que o fluoreto estanhoso associado ao HMP teve ação remineralizadora no controle de cárie radicular.

Com relação aos géis, não há relatos na literatura de trabalhos com géis de concentração reduzida de F e suplementados com HMP. O estudo de uma nova formulação de gel com essas características seria importante para verificar sua efetividade sobre a redução da desmineralização e teria grande valor clínico na odontopediatria, uma vez que a concentração de F que a criança viesse a ingerir seria menor e dessa forma o risco de intoxicação e de desenvolvimento de fluorose seria reduzido.

2 PROPOSIÇÃO

A proposta do presente trabalho foi avaliar a capacidade do gel tópico, com concentração reduzida de F e suplementado com HMP, em inibir *in vitro* a desmineralização do esmalte dentário.

Para tanto, foram determinados:

- a) Porcentagem de alteração da dureza de superfície (%ASH).
- b) Conteúdo de fluoreto de cálcio (CaF_2) formado e retido na superfície do esmalte.

3 MATERIAL E MÉTODO

Delineamento Experimental

O estudo avaliou a capacidade do gel tópico, com concentração reduzida de F e suplementado com HMP, em inibir *in vitro* a desmineralização do esmalte dentário, comparando-o com géis de concentrações maiores de F. Blocos de esmalte (4x4 mm) de dentes incisivos de bovinos foram obtidos e sequencialmente polidos e selecionados através da dureza de superfície (*baseline* entre 320-380 KHN, SH1). Os blocos de esmalte (n=120) foram divididos de maneira aleatória em seis grupos (20 blocos para cada grupo) e submetidos a uma aplicação tópica com os géis experimentais: 1) Gel placebo, sem F e sem HMP, 2) Gel com HMP 9%, 3) Gel com 4500 µg F/g, 4) Gel com 4500 µg F/g + HMP 9%, 5) Gel com 9000 µg F/g, 6) Gel com 12300 µg F/g de pH ácido. Imediatamente após, dez blocos de cada grupo foram utilizados para a dosagem de fluoreto de cálcio (CaF₂) formado. Os outros blocos (n=60) foram submetidos, num período de sete dias, a cinco ciclagens de pH, sendo que nos últimos dois dias, os blocos permaneceram em nova solução remineralizadora. Após as ciclagens de pH determinou-se a dureza de superfície final (SH2) e o fluoreto de cálcio retido. Testes estatísticos (p<0,05) foram realizados após a análise da normalidade e homogeneidade dos dados.

3.1 Preparação dos blocos de esmalte (Anexos A e B)

Foram utilizados dentes incisivos centrais inferiores permanentes obtidos de bovinos com idade entre 2 e 3 anos abatidos em frigorífico e mantidos em recipientes plásticos com solução de formol a 2% pH 7,0 durante um mês. Os dentes sem defeito foram selecionados e as coroas dentárias separadas das raízes, através de disco diamantado de duas faces (KG Sorensen D 91), montado em motor de bancada (Nevoni) mantido sob refrigeração (água destilada/deionizada) (Anexo A). As coroas dentárias foram novamente limpas e lavadas em água destilada/deionizada, secas com papel absorvente e, então, fixadas em placas de acrílico (medindo 4x4 cm e 4 mm de espessura) com cera pegajosa (Horus – Herpo Prod. Dent. Ltda) pela sua face proximal. As placas foram montadas em cortadeira (Isomet Low Speed Saw – Buehler, Lake Bluff, Illinois, USA) sob refrigeração com

água destilada/deionizada e as coroas seccionadas, utilizando disco diamantado (11-4244 série 15 HC - Diamond BUEHLER) separando a superfície vestibular da lingual. As faces vestibulares foram fixadas nas placas de acrílico e seccionadas tanto no sentido longitudinal quanto transversal, na porção mais plana, utilizando-se 2 discos diamantados (11-4243 série 15HC – Diamond BUEHLER) montados em cortadeira sob refrigeração com água destilada/deionizada e separados por um disco espaçador de alumínio com 4 mm de espessura. Os blocos dentários medindo 4x4mm foram limpos com jato de água e bicarbonato de sódio e examinados com lupa estereoscópica (Citoval). Aqueles que apresentaram defeitos tais como trincas e áreas hipoplásicas de esmalte foram excluídos do experimento. Durante todos os procedimentos e entre cada etapa, os blocos foram mantidos em ambiente úmido (recipientes plásticos e gaze embebida em formol a 2% pH 7,0). Após a obtenção dos blocos de esmalte, a dentina foi ajustada para obtenção de superfícies paralelas entre esmalte e dentina (espessura ± 2 mm) (Anexo B). Os blocos foram fixados em discos de resina acrílica pré-fabricada (± 3 cm de diâmetro por ± 8 mm de espessura), com auxílio de cera pegajosa (Cera Bastão Kerr ou Cera em Bastões Horus), com a superfície dentinária voltada para cima, sendo este conjunto levado à politriz APL-4 AROTEC. Para o desgaste foram utilizadas lixas de granulação 320 (CARBIMET Paper Discs, 30-5108-320, BUEHLER), 2 pesos, durante 30 segundos sob baixa rotação e refrigeração. Em seguida, os blocos foram removidos e fixados novamente com a superfície do esmalte voltada para cima e polidos de acordo com a seguinte sequência: lixa de granulação 600, 2 pesos, tempo de 30 segundos, refrigeração a água; lixa de granulação 800, 2 pesos, 30 segundos, refrigeração a água; lixa de granulação 1200, 2 pesos, 30 segundos, refrigeração a água. Entre cada polimento, os corpos de provas foram submetidos ao ultra-som (BRANSON 2210), em água deionizada durante 2 minutos. Na sequência o esmalte foi polido com papel feltro para polimento (Polishing Cloth BUEHLER 40-7618) e suspensão de diamante (METADI Diamond Suspension 1 micron Blue Color Polish Spray, Water Base 40-6530), 1 minuto. A seguir, os corpos de provas foram lavados com jato de água deionizada durante 30 segundos e submetidos ao ultra-som (BRANSON 2210), durante 2 minutos, imersos em solução de limpeza (ULTRAMET Sonic Cleaning Solution, BUEHLER) diluída na proporção 20:1 em água deionizada.

Durante todos os procedimentos e entre um passo e outro, os blocos foram mantidos em ambiente umedecido com formol 2% pH 7,0 (Vieira et al., 2005).

3.2 Formulação e dosagem de F nos géis experimentais e comercial

Os géis foram manipulados no laboratório com os seguintes componentes: carboximetilcelulose, sacarina, glicerina, óleo de menta, água deionizada. Em alguns géis o F foi adicionado sob a forma de NaF (Merck, Germany). Foram preparados os seguintes géis: placebo (sem F e sem HMP), gel contendo 4500 µg F/g suplementado ou não com HMP 9% (Aldrich Chemistry), gel com 9% de HMP sem F, gel contendo 9000 µg F/g. No estudo foi utilizado também para fins de comparação, um gel comercial de pH ácido ($p < 3$), contendo 12.300 µg F/g (na forma de NaF, DFL Indústria e Comércio S.A, Rio de Janeiro, RJ, Brasil).

Para a dosagem de F nos géis, 100-110 mg de cada gel foram suspensos em água destilada/deionizada e o volume completado para 100 mL em balões volumétricos. Para cada produto foram preparadas três amostras e de cada amostra, as análises foram realizadas em duplicata. Na dosagem de F, alíquotas de 1 mL foram tamponadas com TISAB II (Delbem et al., 2003) e as leituras de mV realizadas utilizando-se um eletrodo específico combinado para íon flúor (9609 BN - Orion) e analisador de íons (Orion 720 A⁺), previamente calibrado com cinco padrões: 2,0; 4,0; 8,0, 16,0 e 32 µg F/mL. Os dados obtidos em mV foram convertidos em µg F/g.

3.3 Tratamento com gel e ciclagem de pH (Des>Re) (Anexo C)

Os blocos (n=120) foram imersos nos respectivos géis (3g/bloco), vinte blocos para cada grupo: 1) Gel placebo (sem HMP e sem F), 2) Gel com HMP9%, 3) Gel com 4500µg F/g, 4) Gel com 4500µg F/g + HMP9%, 5) Gel com 9000 µg F/g, 6) Gel com 12300 µg F/g de pH ácido durante um minuto (Delbem e Cury, 2002). Após esse período os blocos foram lavados com água destilada/deionizada para a remoção do gel da superfície. Dez blocos de cada grupo foram utilizados para determinação de fluoreto de cálcio formado. Os blocos restantes foram submetidos em frascos individuais durante sete dias a cinco ciclagens de pH, à temperatura de 37°C, permanecendo os últimos dois dias em solução remineralizadora (Vieira et al.,

2005). Foram imersos na solução desmineralizadora (Ca e P $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ em tampão acetato $0,075 \text{ mol L}^{-1}$, $0,04 \text{ } \mu\text{g F/mL}$ em pH 4,7 – $2,2 \text{ mL/mm}^2$) durante 6 horas e remineralizadora (Ca $1,5 \text{ mmol L}^{-1}$, P $0,9 \text{ mmol L}^{-1}$, KCl $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ em tampão cacodilato $0,02 \text{ mol L}^{-1}$, $0,05 \text{ } \mu\text{g F/mL}$ em pH 7,0 – $1,1 \text{ mL/mm}^2$) durante 18 horas. Os blocos foram lavados com jatos de água destilada/deionizada por 30 segundos, após serem removidos das soluções desmineralizadora ou remineralizadora.

3.4 Determinação da dureza do esmalte (Anexo D)

A dureza de superfície foi determinada previamente aos experimentos (SH1) e pós-experimentos (SH2), utilizando-se o microdurômetro Shimadzu HMV-2000, sob carga de 25 g por 10 s. Antes do tratamento com gel, foram realizadas cinco impressões a $100 \text{ } \mu\text{m}$ uma da outra, na região central do esmalte, obtendo-se pela média o valor da dureza de superfície inicial (SH1). Após as ciclagens de pH foram feitas outras cinco impressões equidistantes entre si e a $100 \text{ } \mu\text{m}$ em relação às impressões iniciais, obtendo-se a dureza de superfície final (SH2). A alteração da dureza de superfície (%ASH) foi calculada a partir da equação: $[\%ASH = ((SH2 - SH1) / SH1) \times 100]$.

3.5 Análise da concentração de CaF_2 no esmalte

O fluoreto de cálcio (CaF_2) foi mensurado imediatamente após a aplicação tópica dos géis experimentais (CaF_2 formado) e após as ciclagens de pH (CaF_2 retido). Os blocos foram medidos com paquímetro digital Mitutoyo CD – 15B (Mitutoyo Corp., Japão), obtendo-se a área superficial do esmalte. A concentração de F ligado fracamente ao esmalte dentário (“ CaF_2 ”) foi mensurada seguindo a metodologia proposta por Caslavsvka et al., (1975): todas as faces dos blocos foram isoladas com cera rosa, exceto a superfície de esmalte. Em seguida, foram imersos em $0,5 \text{ mL}$ de solução KOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ durante 24 h, com agitação constante à temperatura ambiente. Em seguida, a solução foi neutralizada e tamponada com $0,5 \text{ mL}$ de TISAB II pH 5,2 acrescido de HCl. A leitura de mV foi realizada utilizando-se o analisador de íons (720A – Orion Research, USA) e o eletrodo combinado íon-seletivo (9609 BN – Orion Research, USA), previamente calibrado com cinco

padrões: 0,0625; 0,125; 0,250; 0,500 e 1,0 $\mu\text{g F/mL}$. Os dados obtidos em mV foram convertidos em $\mu\text{g F/cm}^2$.

3.6 Análise estatística

Para análise estatística, foram considerados como variáveis os valores da %ASH e CaF_2 (formado e retido) presentes no esmalte e como fator de variação o tipo de gel. Os resultados da %ASH apresentaram distribuição normal (Kolmogorov-Smirnov) e homogeneidade das variâncias (Cochran) e foram submetidos à análise de variância seguida do teste de Tukey. Os resultados de CaF_2 presente no esmalte foram transformados ao inverso dos valores e depois submetidos à análise de variância seguida pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As concentrações de FI nos géis de 4500 $\mu\text{gF/g}$ suplementado e não suplementado com HMP 9% foram comparadas pelo teste t não pareado. As análises foram realizadas utilizando-se o programa GraphPad Prism, versão 5.04, estabelecendo-se o nível de significância em 5%.

4 Resultados

As concentrações de F designado como fluoreto iônico (FI) dos géis experimentais e comercial, estão apresentadas na tabela 1. As concentrações observadas de FI nos géis experimentais estão dentro da faixa de variação de 10% do valor esperado.

Tabela 1. Concentração média e desvio-padrão (DP) das medidas do F ($\mu\text{g F/g}$) iônico nos géis experimentais e comercial (n=3)

GEL	FI ($\mu\text{g/g}$)
Placebo	67,7 (12,4)
HMP 9%	88,8 (8,6)
4500 $\mu\text{gF/g}$	4681,1 (8,6)
4500 $\mu\text{gF/g}$ + HMP 9%	4726,4 (145,4)
9000 $\mu\text{gF/g}$	9067,7 (98,4)
12300 $\mu\text{gF/g}$ (Gel ácido)	10900,2 (219,6)

Os valores de dureza de superfície inicial (SH1), final (SH2) e alteração de dureza de superfície (%ASH) de cada bloco estão apresentados nas tabelas de 1 a 6 (Anexo E).

A figura 1 mostra os valores da percentagem de alteração da dureza de superfície (%ASH) de acordo com os regimes experimentais (grupos). O grupo 4500 $\mu\text{g F/g}$ + HMP 9% apresentou alteração de dureza de superfície semelhante aos grupos 9000 $\mu\text{g F/g}$ e Gel ácido ($p>0,05$) e menor que o de 4500 $\mu\text{g F/g}$ não suplementado ($p<0,05$). O tratamento com o gel de 4500 $\mu\text{g F/g}$ resultou em menor alteração de dureza de superfície do que com os géis placebo e HMP 9% ($p<0,05$), este último sendo menor que o placebo.

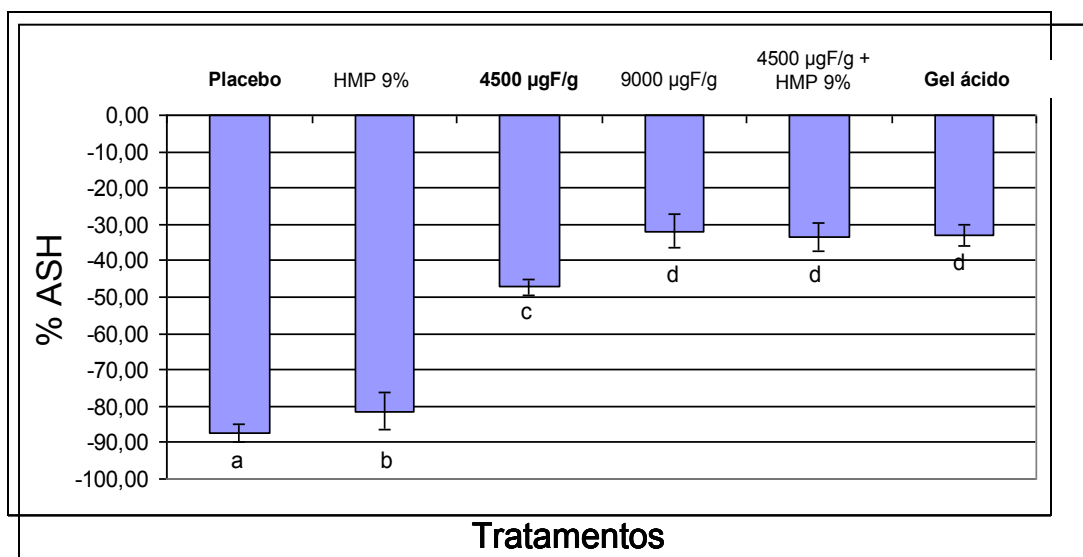


Figura 1: Porcentagem de alteração da dureza de superfície (média $\pm$ dp, n=10) de acordo com os grupos (tratamentos). Letras distintas mostram diferença significativa entre os grupos (ANOVA, Tukey, $p<0,001$).

Os valores de fluoreto de cálcio (CaF_2) formado e retido no esmalte de cada bloco estão apresentados nas tabelas 8 e 9 (Anexo F).

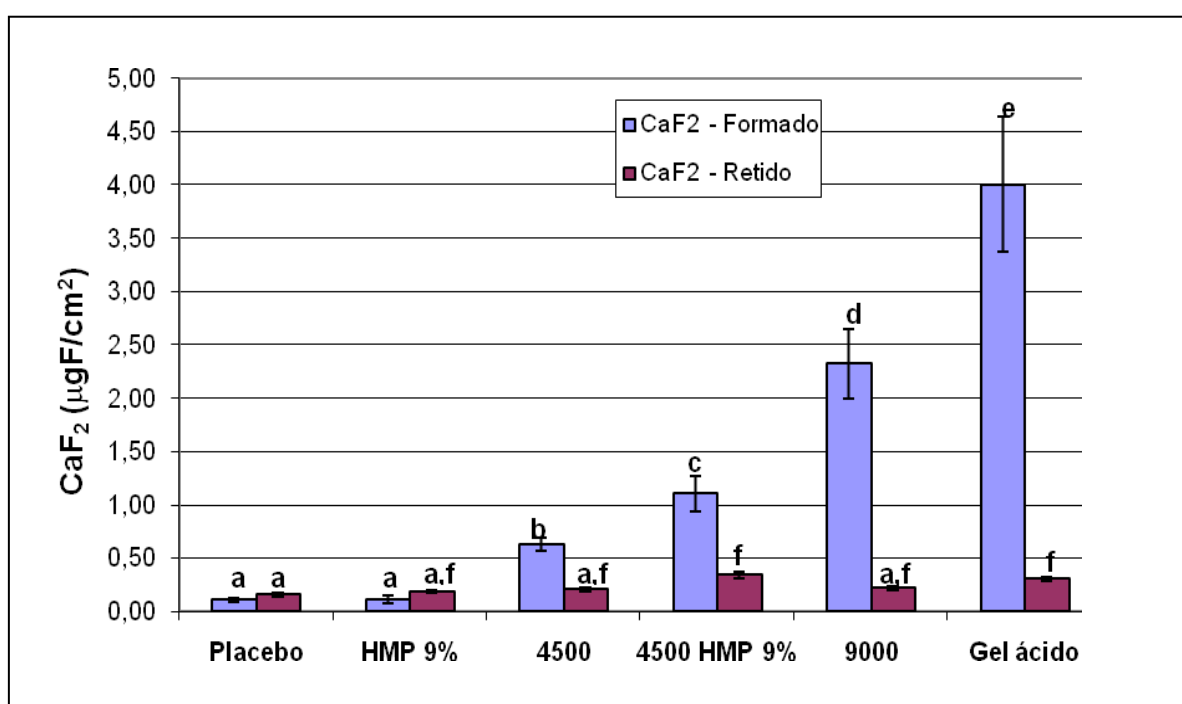


Figura 2: Concentração (média $\pm$ ep, n= 10) de fluoreto de cálcio ($\mu\text{g F/cm}^2$) formado e retido na superfície do esmalte de acordo com os grupos (tratamentos). Letras distintas mostram diferença significativa entre os grupos (ANOVA, Tukey, $p<0,001$).

A Figura 2 mostra a concentração de fluoreto de cálcio formado após aplicação tópica dos produtos e retido após as ciclagens de pH.

A concentração de CaF_2 formado no grupo de 4500 $\mu\text{g F/g}$ + HMP 9% foi maior do que a do grupo não suplementado, do grupo só com HMP 9% e do placebo; entretanto, foi menor do que dos grupos de 9000 $\mu\text{g F/g}$ e gel ácido. Este último foi o que apresentou o maior valor entre todos os grupos ($p < 0,05$). Após as ciclagens de pH, a concentração de CaF_2 retido foi menor do que o respectivo formado em todos os grupos, com exceção do placebo e HMP 9%, nos quais permaneceram inalterados ($p > 0,05$). Na comparação entre os grupos, observa-se que todos os grupos apresentaram concentrações similares de CaF_2 retido ao do gel ácido e do suplementado, com exceção do placebo.

5 Discussão e Conclusão

A aplicação dos produtos fluoretados de alta concentração é recomendada a pacientes que possuem alto risco de desenvolvimento de cárie dentária. O uso desses produtos em crianças pequenas deve ser cuidadosamente monitorado, devido ao risco de intoxicação aguda (Fomon et al., 2000; Ripa, 1990). Dessa forma, é importante que estudos laboratoriais sob condições controladas e padronizadas sejam realizados para avaliar o potencial anticariogênico de novas formulações de géis antes de realizar um estudo *in situ* ou clínico. O presente trabalho *in vitro* avaliou a eficácia de um gel contendo 4500 µg F/g associado ao HMP na concentração de 9%, mostrando que essa associação tem eficácia similar à de géis padrões de 9000 µg F/g e 12300 µg F/g (Gel ácido) em reduzir a desmineralização do esmalte, o que possibilitaria reduzir a concentração de F sem alterar sua eficácia e dessa forma, diminuir a ingestão do íon pelas crianças, prevenindo a intoxicação aguda.

A adição de qualquer composto ao gel fluoretado não deve interferir na biodisponibilidade do F. A adição de HMP 9% não alterou a concentração de FI (tabela 1) no gel de 4500 µg F/g (teste *t*, $p>0,05$), o que indica que não houve alteração na disponibilidade do F.

A escolha da concentração de 9% de HMP foi baseada em estudos anteriores nesse laboratório (Camara, 2011) onde se verificou que para um dentífrico contendo 250 µg F/g a melhor resposta em relação à alteração de dureza de superfície do esmalte como também perda mineral foi obtida quando o dentífrico era suplementado com 0,5% de HMP. Nas outras concentrações menores ou maiores testadas, o efeito foi menor. Portanto, para um gel contendo 4500 µg F/g, para se manter a mesma proporção F:HMP, foi adicionado HMP na concentração de 9%.

O estudo mostra que um gel com 4500 µg F/g é menos efetivo (%ASH) que o gel com 9000 µg F/g e Gel ácido (Figura 1). Entretanto, a adição de 9% de HMP no gel de 4500 µg F/g promoveu um aumento na dureza de superfície (SH2) quando comparado ao grupo não suplementado, chegando a valores comparáveis aos dos grupos 9000 µg F/g e Gel ácido (Figura 1).

O HMP é um polifosfato linear com 10 a 12 repetições desta subunidade [Baig et al., 2005], sendo uma variante de cadeia mais longa do pirofosfato. Em comparação a este, apresenta maior resistência ao desafio hidrolítico no ambiente oral [Winston et al., 2007] e maior afinidade e retenção à superfície do esmalte graças aos múltiplos sítios de ligação. Tem sido utilizado em dentifrícios devido à sua capacidade de prevenir a formação de cálculos [White et al., 2002; Liu et al., 2002; Schiff et al., 2005] e remover e reduzir a adsorção de pigmentos ao dente [Baig et al., 2002; Gerlach et al., 2002; Baig et al., 2005], mostrando boa cobertura e retenção na superfície do dente [Busscher et al., 2002]. A atividade anticárie produzida pelo HMP se deve a uma redução do processo de desmineralização do esmalte, uma vez que o HMP mostra uma grande afinidade à apatita do esmalte como resultado da ligação dos grupos fosfatos aos sítios de cálcio da superfície, o que explica sua alta eficiência na remoção de pigmentos do dente. Os pigmentos adsorvidos ao esmalte ou ligados à película são substituídos pela ligação dos fosfatos do HMP e enquanto ligados previnem a adsorção posterior de outros pigmentos (Baig et al., 2002). Através dessas múltiplas ligações, as moléculas de HMP formam uma camada de fosfatos condensados alterando a permeabilidade seletiva do esmalte (van Dijk et al., 1980) e nesse caso, com aumento da seletividade a cátions. Segundo van Dijk et al. (1980), os compostos que alteram a permeabilidade seletiva do esmalte podem interferir em dois processos que determinam a progressão da cárie: na difusão longitudinal através dos poros do esmalte devido à sua influência na seletividade iônica e de alguma forma, na dissolução dos cristais de apatita. Portanto, é possível que essa camada de fosfatos condensados sobre a superfície do esmalte tenha reduzido a perda de minerais durante as ciclagens de pH, resultando em maiores valores de dureza final e consequentemente, menores valores de %ASH (figura 1). Observa-se que mesmo na ausência de F, o grupo só com 9% HMP mostrou uma %ASH menor do que a do placebo (figura 1), sugerindo que o HMP tem uma ação independente do F.

Por outro lado, o efeito anticárie dos produtos tópicos de alta concentração de F está relacionado à deposição de CaF_2 ao esmalte (Hicks et al., 2004; Moreno, 1993) que é concentração e pH dependente (Moreno, 1993). A concentração do CaF_2 medido logo após a aplicação dos géis (formado) aumenta com a concentração de F presente no gel, sendo o maior valor observado no grupo de 12300 $\mu\text{gF/g}$

(Figura 2), seguido pelo grupo 9000 $\mu\text{gF/g}$. O pH ácido pode também ter contribuído para a maior formação de CaF_2 no grupo de 12300 $\mu\text{gF/g}$ (Figura 2). Os grupos placebo e aquele contendo somente HMP apresentaram valores semelhantes ($p>0,05$) e os menores entre os grupos. Embora o grupo contendo só HMP tenha apresentado concentração de CaF_2 semelhante ao do placebo, ele resultou numa %ASH menor que a do placebo, mostrando que esse efeito se deve a algum processo que não a deposição de CaF_2 , possivelmente pela formação da camada protetora de fosfatos condensados sobre a superfície do esmalte. Já no grupo 4500 $\mu\text{g F/g}$ + HMP 9%, onde está presente o F, a concentração de CaF_2 foi maior que a do grupo não suplementado, sugerindo que a presença de HMP estaria facilitando a deposição, mas foi menor que a do grupo de 9000 $\mu\text{g F/g}$ e gel ácido. Contudo, a %ASH do grupo suplementado foi similar a desses dois últimos, mostrando que outros fatores estão contribuindo para a inibição da desmineralização. Um desses fatores pode estar relacionado ao F incorporado ao esmalte após a aplicação do produto, o que deve ser avaliado em estudos posteriores.

Com relação ao fluoreto de cálcio que ficou retido após as ciclagens de pH, os resultados mostram que possivelmente os repetidos tratamentos com a solução desmineralizante de pH 4,7 acabam por dissolver o fluoreto de cálcio que se formou durante o tratamento com os géis fluoretados, de maneira que, ao final das ciclagens, a concentração final é semelhante entre os grupos 4500 $\mu\text{g F/g}$ + HMP 9% e Gel ácido e os demais grupos, com exceção do placebo (Figura 2). O CaF_2 medido é o que se encontra depositado na superfície do esmalte. As diferenças nas durezas de superfície entre os grupos sugerem que pode haver diferenças na concentração de F incorporado dentro do esmalte.

Conclui-se com base nos resultados obtidos, que a associação de HMP, na concentração de 9% a um gel de 4500 $\mu\text{g F/g}$ proporciona uma eficácia equivalente a de géis padrões de 9000 $\mu\text{g F/g}$ e 12300 $\mu\text{g F/g}$ (Gel ácido) na ação inibidora da desmineralização do esmalte, *in vitro*, pelo menos em relação à perda de dureza de superfície. Outros parâmetros, entretanto, devem ser analisados em estudos posteriores ainda *in vitro*.

REFERÊNCIAS

Alves KM, Pessan JP, Brighenti FL, Franco KS, Oliveira FA, Buzalaf MA, Sasaki KT, Delbem AC: In vitro evaluation of the effectiveness of acidic fluoride dentifrices. *Caries Res* 2007;41:263-267.

Baig AA, Kozak KM, Cox ER, Zoladz JR, Mahony L, White DJ: Laboratory studies on the chemical whitening effects of a sodium hexametaphosphate dentifrice. *J Clin Dent* 2002;13:19-24.

Baig A, He T, Buisson J, Sagel L, Suszcynsky-Meister E, White DJ: Extrinsic whitening effects of sodium hexametaphosphate--a review including a dentifrice with stabilized stannous fluoride. *Compend Contin Educ Dent* 2005;26:47-53.

Brighenti FL. et al: In vitro evaluation of acidified toothpastes with low fluoride content. *Caries Res* 2006;40:239-244.

Busscher HJ, White DJ, Van der Mei H, Baig AA, Kozak KM: Hexametaphosphate effects on tooth surface conditioning film chemistry-In vitro and in vivo studies. *J Clin Dent* 2002;13:38-43.

Camara DM. Avaliação in vitro da eficácia de dentifrícios de baixa concentração de fluoreto suplementados com hexametafosfato sobre o processo de desmineralização do esmalte. 21/02/2011.66 [dissertação]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; 2011.

Caslavska V, Moreno EC, Brudevold F: Determination of the calcium fluoride formed from in vitro exposure of human enamel to fluoride solutions. *Arch Oral Biol* 1975;20:333-339.

Cho CH, Lo C: A review of sodium fluoride varnish. *Gen Dent* 2006;54:247-53.

Cury JA: Uso do flúor e controle da cárie como doença. In: Baratieri LN. et al. *Odontologia Restauradora: fundamentos e possibilidades*. Sao Paulo: Santos; 2001. p. 31-68.

Ferreira MA. et al: Effect of regular fluoride application on incipient carious lesions. *Oral Health Prev Dent* 2005;3:141-149.

Fomon SJ, Ekstrand J, Ziegler EE. Fluoride intake and prevalence of dental fluorosis: trends in fluoride intake with special attention to infants. *J Public Health Dent* 2000;60:131–139.

Gerlach RW, Ramsey LL, Baker RA, White DJ. Extrinsic stain prevention with a combination dentifrice containing calcium phosphate surface active builders compared to two marketed controls. *J Clin Dent* 2002;13:15-18.

Gonzalez M, Jeansonne BG, Feagin FF. Trimetaphosphate and fluoride actions on mineralization at the enamel-solution interface. *J Dent Res* 1973;52:261-266.

Harris RS, Niizel AE, Walsh BN. The effect of phosphate structure on dental caries development in rats. *J Dent Res* 1967;46:290-294.

Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries: role of remineralization and fluoride in the dynamic process of demineralization nad remineralization (part 3). *J Clin Pediatr Dent* 2004;28:203-214.

Jiang H. et al: Effect of Professional application of ATF foam on caries reduction in permanent first molars in 6-7-year-old children: 24- month clinical trial. *J Den* 2005;33:469-732.

Jiang H. et al. A two-year randomized clinical trial of 1.23% fluoride foam on dental caries increment in primary teeth. *Zhonghua Kou Qiang. Yi* 2007;42:456-459.

Lima YB, Cury JA. Fluoride intake by children from water and dentifrice. *Rev Saúde Pública* 2001;35:576-81.

Liu H, Segreto VA, Baker RA, Vastola KA, Ramsey LL, Gerlach RW. Anticalculus efficacy and safety of a novel whitening dentifrice containing sodium hexametaphosphate: a controlled six month clinical trial. *J Clin Dent* 2002;13:25-28.

Marinho VCC. et al. Systematic review of controlled trials on the effectiveness of fluoride gels for the prevention of dental caries in children. *J Dent Educ* 2003a;67: 448-458.

Marinho VCC. et al. Topical fluoride (toothpastes, mouthrinses, gels, varnishes) for preventing dental caries in children and adolescents. Cochrane Database Syst. Rev 2003b;4,CD002782.

Marinho, VCC. et al. Combinations of topical fluoride (toothpastes, mouthrinses, gels or varnishes) versus single topical fluoride for preventing dental caries in children and adolescents. Cochrane Database Syst. Rev 2004;1, CD002781.

Moreno EC. Role of Ca-P-F in caries prevention: chemical aspects. Int Dent J 1993;43:71-80.

Papas A, Tao H, Martuscelli G, Singh M, Bartizek RD, Biesbrock AR. Comparative efficacy of stabilized stannous fluoride/sodium hexametaphosphate dentifrice and sodium fluoride/triclosan/copolymer dentifrice for the prevention of periodontitis in xerostomic patients: a 2-year randomized clinical trial. J Periodontol 2007;78:1505-1514.

Ripa LW. An evaluation of the use of professional (operator applied) topical fluorides. J Dent Res 1990;69:786-796.

Schemehorn BR, Wood GD, Winston AE. Laboratory enamel solubility reduction and fluoride uptake from enamel on dentifrice. J Clin Dent 1999a;10:9-

Schemrhorn BR, et al: Remineralization by fluoride enhanced with calcium and phosphate ingredients. J Clin Dent 1999b;10:13-16.

Schiff T, Saletta L, Baker RA, Winston JL, He T. Desensitizing effect of a stabilized stannous fluoride/Sodium hexametaphosphate dentifrice. Compend Contin Educ Dent 2005;26:35-40.

Städtler P. et al. The effect of sodium trimetaphosphate on caries: a 3-year clinical toothpaste trial. Caries Res 1996;30:418-422.

Stookey GK. et al. The relative anticaries effectiveness of three fluoride-containing dentifrices in Puerto Rico. Caries Res 2004;38:542-550.

Takeshita EM, Castro LP, Sasaki KT, Delbem ACB. In vitro evaluation of dentifrice with low fluoride content supplemented with trimetaphosphate. *Caries Res* 2009; 43:50-56.

Ten Cate JM. In vitro studies on the effects of fluoride on de-and remineralization. *J Dent Res* 1990;69:614-619.

van Dijk JW, Borggreven JM, Driessens FC. The effect of some phosphates and a phosphonate on the electrochemical properties of bovine enamel. *Arch Oral Biol* 1980;25:591-595.

van Rijkom HM, Truin GJ, van't Hof MA. A meta-analysis of clinical studies on caries-inhibiting effect of fluoride gel treatment. *Caries Res* 1998;32:83-92.

Vieira AEM, Delbem ACB, Sasaki KT, Rodrigues E, Cury JA, Cunha RF. Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. *Caries Res* 2005;39:514-520.

Villena RS, Tenuta LM, Cury JA. Effect of APF gel application time on enamel demineralization and fluoride uptake in situ. *Braz Dent J* 2009;20:37-41.

Vogel GL. et al. Composition of Plaque And Saliva Following Use Of An A-Tricalcium-Phosphate-Containing Chewing Gum And A Subsequent Challenge. *J Dent Res* 2000;79:58-62.

White DJ, Cox ER, Suszcynskymeister EM, Baig AA. In vitro studies of the anticalculus efficacy of a sodium hexametaphosphate whitening dentifrice. *J Clin Dent* 2002;13:33-37.

Whitford GM. et al. Enamel uptake and patient exposure to fluoride: comparison of APF gel and foam. *Pediatr Dent* 1995;17:199-203.

Winston JL, Fiedler SK, Schiff T, Baker R. An anticalculus dentifrice with sodium hexametaphosphate and stannous fluoride: a six-month study of efficacy. *J Compend Dent Pract* 2007;8:1-8.

Wong MC, Glenny AM, Isang BW, Lo EC, Worthing HV, Marinho VC. Topical fluoride as a cause of dental fluorosis in children. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;jan20:CDOO7693

Anexos

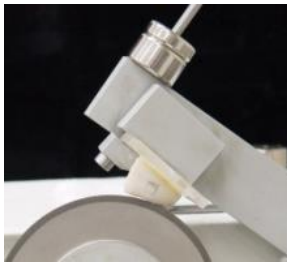
ANEXO A E B

OBTENÇÃO E PREPARO DOS BLOCOS DE ESMALTE

Confecção dos blocos de esmalte bovino (4 x 4 mm)



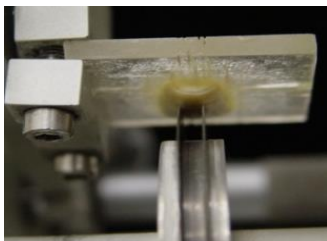
1. Coroa do dente bovino incisivo central inferior, separada da raiz através de disco diamantado de duas faces (KG Sorensen D 91), montado em motor de bancada (Nevoni), mantido sob refrigeração (água destilada/deionizada).



2. Secção da coroa utilizando disco diamantado (série 15 HC Diamond - n. 11-4244 Buehler) separando a superfície vestibular da lingual.



3. Face vestibular fixada na placa de acrílico.

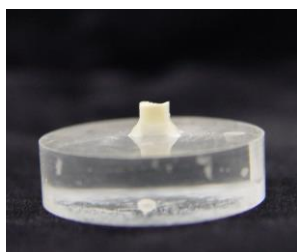


4. Secção da face vestibular no sentido longitudinal, na porção mais plana, utilizando-se 2 discos diamantados (série 15 HC Diamond -n. 11-4243 Buehler), montados em cortadeira sob refrigeração com água destilada/deionizada e separados por um disco espaçador de alumínio com 4 mm de espessura. Em seguida, foi realizado o corte no sentido transversal.
-



5. Fragmento vestibular do dente bovino, fixado sobre placa de resina. Ao lado, bloco de esmalte dentário.

Planificação da dentina e polimento do esmalte



6. Bloco de esmalte fixado em disco de resina acrílica pré-fabricada (± 3 cm de diâmetro por ± 8 mm de espessura), com auxílio de cera pegajosa (Kota Ind. e Com. LTDA), com a superfície dentinária voltada para cima.

7. Ajuste da dentina para obtenção de superfícies paralelas entre esmalte e dentina, utilizando Politriz APL-4 AROTEC e lixas de granulação 320 (CARBIMET Paper Discs, 30-5108-320, BUEHLER), 2 pesos, durante 20 segundos sob baixa rotação e refrigeração.



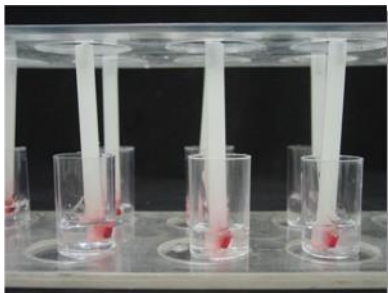
8. Blocos fixados com a superfície do esmalte voltada para cima, a qual será polida.

Seqüência do polimento de esmalte

1. Pedra-pomes, água deionizada e taça de borracha montada em contra-ângulo em baixa-rotação.
2. Na Politriz APL-4 AROTEC - lixa de granulação 600, 800 e 1200 (30 segundos – 2 pesos) e refrigeração a água. Limpeza em lavadora ultrassônica e água destilada/deionizada por 2 minutos, entre cada lixa;
3. Na Politriz APL-4 AROTEC - acabamento final com disco de papel feltro TEXMET 1000 (Buehler Polishing Cloth) (1 minuto – 2 pesos) e suspensão de diamante 1 micron base-água (Buehler);
4. Limpeza em lavadora ultrassônica utilizando solução detergente (Ultramet Sonic Cleaning Solution - Buehler) diluída 20:1 em água destilada/deionizada (2 minutos);
5. Lavagem durante 30 segundos com jato de água destilada/deionizada.

ANEXO C

CICLAGEM DE pH (Des>Re)



1. Tratamento dos blocos com g gel/bloco, por 1 minuto, antes da ciclagem de pH.

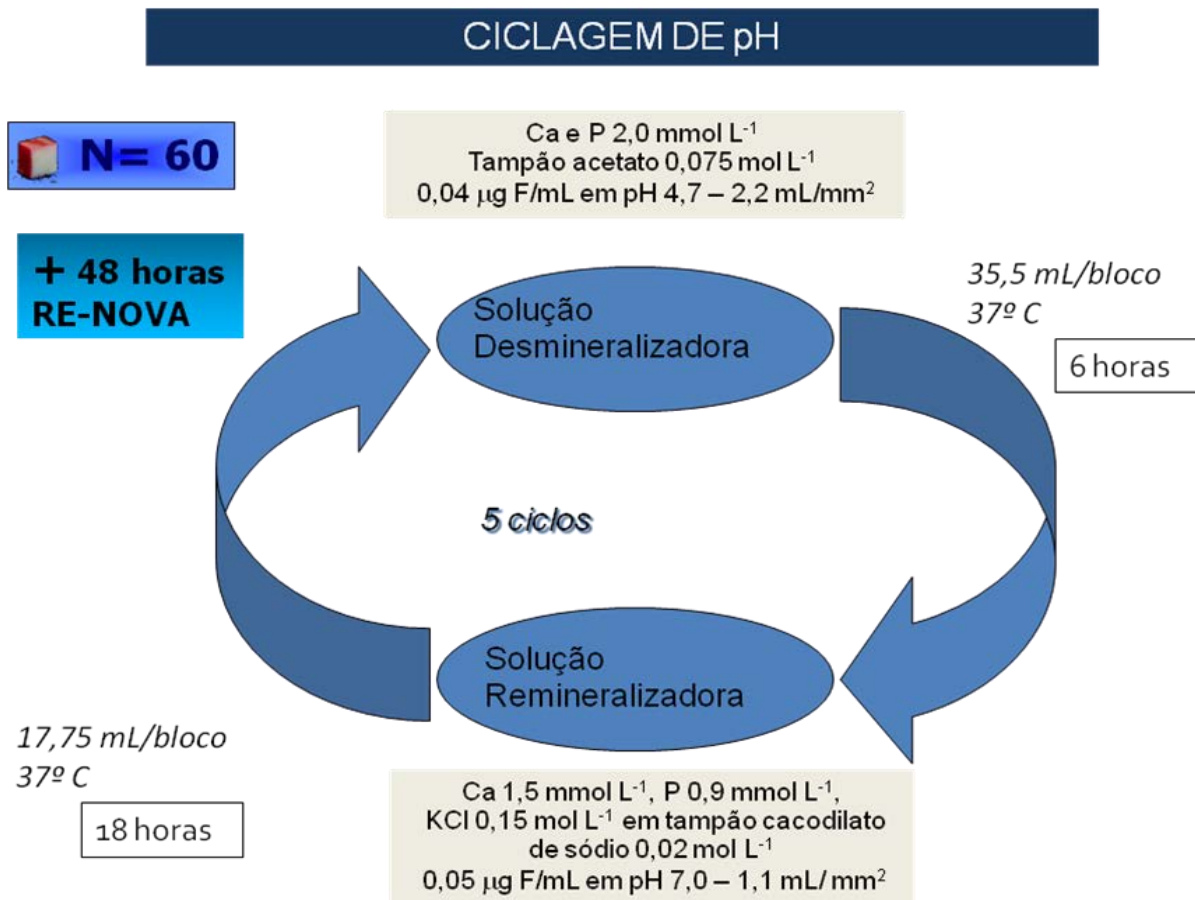


2. Lavagem dos blocos de esmalte antes e após o tratamento, durante 30 segundos com água deionizada.

3. Estufa para cultura bacteriológica (Olidef cz Ribeirão Preto – SP, Brasil) utilizada para manter os blocos de esmalte nas soluções de Des e Re em temperatura 37°C, durante o período da ciclagem.

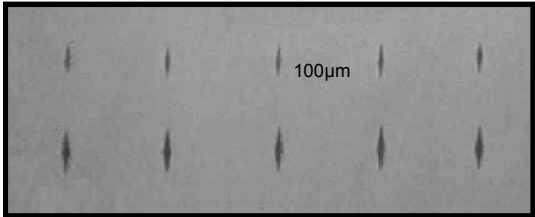


ESQUEMA REPRESENTATIVO DA CICLAGEM DE pH (DES>RE)



ANEXO D

ANÁLISE DE DUREZA SUPERFICIAL

	1. Microdurômetro Shimadzu Micro Hardness Tester HMV-2.000 (Shimadzu Corporation - Kyoto-Japan), com penetrador tipo Knoop, acoplado ao Software para análise de imagem CAMSWIN (NewAge Industries, USA).
2. Bloco de esmalte sendo submetido à leitura no microdurômetro, carga estática de 25 gramas e tempo de 10 segundos, para análise da dureza de superfície.	
 A	3. Fotomicrografia das impressões para análise de dureza de superfície inicial (SMH-inicial), e final (SMH-final) (Figura A) (Aumento: 100x)

ANEXO E

Tabela 1. Valores de dureza inicial e final (unidades Knoop) de superfície do esmalte antes e após o tratamento com gel Placebo e ciclagens de pH

PLACEBO																		
Dureza de superfície inicial (SH1)							Média		Dureza de superfície final (SH2)							Média		%ASH
Bloco 1	377	373	377	377	377	375,8			Bloco 1	55	56	60	50	53	54,8		-85,42	
Bloco 2	370	373	370	370	370	371,6			Bloco 2	42	30	48	40	35	39,0		-89,50	
Bloco 3	377	375	375	377	377	376,2			Bloco 3	40	41	50	32	37	40,0		-89,37	
Bloco 4	375	375	375	373	373	374,2			Bloco 4	42	43	36	40	45	41,2		-88,99	
Bloco 5	377	377	375	375	373	375,4			Bloco 5	40	35	52	40	46	42,6		-88,65	
Bloco 6	370	377	375	373	375	374,0			Bloco 6	34	40	44	37	41	39,2		-89,52	
Bloco 7	375	377	370	375	375	374,4			Bloco 7	64	64	63	62	57	62,0		-83,44	
Bloco 8	377	375	377	375	377	376,2			Bloco 8	52	41	50	43	49	47,0		-87,51	
Bloco 9	375	375	370	370	375	373,0			Bloco 9	47	48	52	52	51	50,0		-86,60	
Bloco 10	377	373	377	377	373	375,4			Bloco 10	40	41	42	43	45	42,2		-88,76	
						Média	374,6								Média	45,8	Média	-87,8
						dp	1,5								dp	7,7	dp	2,0

Tabela 2. Valores de dureza inicial e final (unidades Knoop) de superfície do esmalte antes e após o tratamento com gel HMP 9% e ciclagens de pH

HMP 9%															
Dureza de superfície inicial (SH1)						Média	Dureza de superfície final (SH2)						Média	%ASH	
Bloco 1	377	377	380	377	375	377,2	Bloco 1	72	63	60	61	68	64,8	-82,82	
Bloco 2	375	377	380	375	377	376,8	Bloco 2	30	40	33	34	35	34,4	-90,87	
Bloco 3	370	370	375	370	373	371,6	Bloco 3	53	51	51	72	50	55,4	-85,09	
Bloco 4	373	370	370	375	373	372,2	Bloco 4	50	46	51	52	62	52,2	-85,98	
Bloco 5	373	377	373	373	375	374,2	Bloco 5	85	89	79	79	92	84,8	-77,34	
Bloco 6	377	377	375	370	375	374,8	Bloco 6	101	95	98	90	98	96,4	-74,28	
Bloco 7	375	370	373	375	377	374,0	Bloco 7	83	87	78	73	75	79,2	-78,82	
Bloco 8	377	375	377	375	373	375,4	Bloco 8	94	93	98	94	89	93,6	-75,07	
Bloco 9	377	375	375	377	370	374,8	Bloco 9	70	66	65	69	71	68,2	-81,80	
Bloco 10	370	375	373	370	377	373,0	Bloco 10	60	77	73	76	63	69,8	-81,29	
Média						374,4	Média						69,9	Média	-81,34
dp						1,8	dp						19,4	dp	5,2

Tabela 3. Valores de dureza inicial e final (unidades Knoop) de superfície do esmalte antes e após o tratamento com gel 4500 µg F/g e ciclagens de pH

4500 µg F/g															
Dureza de superfície inicial (SH1)						Média	Dureza de superfície final (SH2)						Média	%ASH	
Bloco 1	377	377	375	375	373	375,4	Bloco 1	194	202	194	204	206	200,0	-46,72	
Bloco 2	373	377	375	375	377	375,4	Bloco 2	170	171	165	178	171	171,0	-54,45	
Bloco 3	373	370	377	373	377	374,0	Bloco 3	188	180	191	196	190	189,0	-49,47	
Bloco 4	377	375	375	370	373	374,0	Bloco 4	185	194	198	190	185	190,4	-49,09	
Bloco 5	377	375	375	373	375	375,0	Bloco 5	195	180	194	195	196	192,0	-48,80	
Bloco 6	370	375	377	375	377	374,8	Bloco 6	191	199	198	199	199	197,2	-47,39	
Bloco 7	375	377	373	377	373	375,0	Bloco 7	194	194	181	184	182	187,0	-50,13	
Bloco 8	373	370	373	377	375	373,6	Bloco 8	191	192	199	198	199	195,8	-47,59	
Bloco 9	375	377	375	370	375	374,4	Bloco 9	206	206	200	208	211	206,2	-44,93	
Bloco 10	370	377	373	375	375	374,0	Bloco 10	203	217	216	218	200	210,8	-43,64	
Média						374,6	Média						193,9	Média	-48,22
dp						0,6	dp						11,1	dp	3,0

ANEXO F

Tabela 8. Valores de Fluoreto de Cálcio FORMADO presentes no esmalte(CaF_2)

Bloco	Placebo	HMP 9%	4500	4500 HMP 9%	9000	Gel ácido
Bloco 1	0,12	0,05	0,44	0,78	1,46	3,58
Bloco 2	0,25	0,08	0,40	0,77	0,93	8,93
Bloco 3	0,10	0,46	1,03	1,72	2,68	4,20
Bloco 4	0,09	0,10	0,60	1,51	3,44	4,10
Bloco 5	0,09	0,05	0,67	0,63	1,51	4,32
Bloco 6	0,11	0,12	0,69	0,63	2,19	5,10
Bloco 7	0,08	0,06	0,40	0,54	1,53	1,89
Bloco 8	0,07	0,05	0,82	1,98	2,36	2,72
Bloco 9	0,11	0,11	0,50	1,06	4,25	2,88
Bloco 10	0,07	0,05	0,74	1,41	2,90	2,33
Média	0,11	0,11	0,63	1,10	2,33	4,01
ep	0,02	0,04	0,06	0,16	0,32	0,63

Tabela 9. Valores de Fluoreto de Cálcio RETIDO presentes no esmalte (CaF_2)

Bloco	Placebo	HMP 9%	4500	4500 HMP 9%	9000	Gel ácido
Bloco 1	0,12	0,14	0,16	0,33	0,18	0,40
Bloco 2	0,11	0,19	0,22	0,56	0,27	0,36
Bloco 3	0,10	0,15	0,17	0,23	0,14	0,39
Bloco 4	0,10	0,14	0,19	0,26	0,30	0,19
Bloco 5	0,14	0,15	0,17	0,26	0,30	0,26
Bloco 6	0,25	0,21	0,28	0,22	0,24	0,22
Bloco 7	0,23	0,20	0,23	0,36	0,19	0,29
Bloco 8	0,17	0,31	0,21	0,38	0,19	0,32
Bloco 9	0,17	0,21	0,29	0,44	0,19	0,32
Bloco 10	0,18	0,20	0,17	0,37	0,20	0,33
Média	0,16	0,19	0,21	0,34	0,22	0,31
ep	0,02	0,02	0,01	0,03	0,02	0,02