

Adelisa Rodolfo Ferreira Tiveron

“AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE RESINAS
COMPOSTAS CONTENDO TRIMETAFOSFATO DE
SÓDIO ASSOCIADO OU NÃO AO FLUORETO EM
REDUZIR A DESMINERALIZAÇÃO E PROMOVER A
REMINERALIZAÇÃO *IN VITRO*”

ARAÇATUBA

2011

Adelisa Rodolfo Ferreira Tiveron

“AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE RESINAS
COMPOSTAS CONTENDO TRIMETAFOSFATO DE
SÓDIO ASSOCIADO OU NÃO AO FLUORETO EM
REDUZIR A DESMINERALIZAÇÃO E PROMOVER A
REMINERALIZAÇÃO *IN VITRO*”

*Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia da Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Campus de Araçatuba, para obtenção do
título de Doutor em Ciência Odontológica-
Área de Concentração: Saúde Bucal da
Criança.*

Orientadora: Prof^a. Adj. Denise Pedrini

Co-orientador: Prof. Adj. Alberto Carlos Botazzo Delbem

ARAÇATUBA

2011

Catálogo na Publicação (CIP)

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

T623a

Tiveron, Adelisa Rodolfo Ferreira.

Avaliação da capacidade de resinas compostas contendo trimetafosfato de sódio, associado ou não ao fluoreto em reduzir a desmineralização e promover a remineralização *in vitro* / Adelisa Rodolfo Ferreira Tiveron. - Araçatuba : [s.n.], 2011
90 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba

Orientadora: Profa. Denise Pedrini

Coorientador: Prof. Alberto Carlos Botazzo Delbem

1. Resinas compostas 2. Fluoreto de sódio 3. Fosfatos
4. Desmineralização do dente 5. Remineralização dentária

Black D27
CDD 617.645

Dados Curriculares

Adelisa Rodolfo Ferreira Tiveron

Nascimento

03.07.1970 - Adamantina - SP

Filiação

Afonso Ferreira Marques
Catarina Rodolfo Ferreira

1988/1992

Curso de Graduação em Odontologia pela Universidade de Marília - UNIMAR.

1992/Atual

Atividades como Cirurgiã-Dentista junto à Prefeitura Municipal de Adamantina - SP.

1994

Especialização em Administração dos Serviços de Saúde pela Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP.

1999-2002

Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria, nível de Mestrado, pela Universidade de Marília - UNIMAR.

2002/Atual

Atividades como docente no Curso de Odontologia, área de Odontopediatria das Faculdades Adamantinenses Integradas - FAI.

2008-2011

Curso de Pós-Graduação em Saúde Bucal da Criança, nível de Doutorado, pela Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP.

Associações

CROSP - Conselho Regional de Odontologia de São Paulo
SBPqO - Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica
APCD - Associação Paulista dos Cirurgiões-Dentistas

Dedicatória

A Deus

“Olho em tudo, e sempre encontro a Ti, estás no céu, na terra, onde for.

Em tudo que me acontece, encontro o Teu amor.

Já não se pode mais deixar de crer no Teu amor.

É impossível não crer em Ti, é impossível não te encontrar, é impossível não
fazer de Ti meu ideal.”

Obrigada por tudo, desde a essência da minha vida, por me abençoar e guiar os
meus passos todos os dias.

Aos meus pais Catarina e Afonso,

Este trabalho é dedicado a vocês

Pelo grande incentivo, por não permitir que eu desistisse.

Agradeço a Deus todos os dias por ter nascido do amor de um casal, que soube
tão bem conduzir a difícil tarefa de educar, amar e formar bons filhos.

Devo a vocês tudo o que represento para mim mesma, meus princípios, meu
caráter, minha forma de amar e encarar a vida. Obrigada por tudo.

Amo vocês!

Aos meus queridos irmãos Jean Paulo e Anelise,

Simplesmente, obrigada por serem meus irmãos!

Entre nós existe um grande amor e união, sabemos que um pode contar com o
outro em qualquer circunstância. Eu amo muito vocês!

Espero poder retribuir tudo o que vocês fizeram e ainda fazem por mim.

Aos meus cunhados Eduardo e Raquel,

Agradeço a vocês por sempre estarem presentes e dispostos a me ajudar.

Tenho-os como meus irmãos.

Aos meus sobrinhos Guilherme e Lívia,

Tão pequenos, tão importantes!

Vocês são presentes de Deus na nossa família! Recebam meu amor e carinho!

Ao meu marido José Carlos,

Todas as palavras que poderia escrever, não expressariam todo meu amor, respeito e gratidão. Você foi fundamental nesta longa caminhada até chegar aqui, hoje! Obrigada, pela compreensão e ajuda em tudo!

Meu amor para sempre!

Aos meus filhos,

Ana Beatriz, minha linda flor do dia!

João Henrique, meu príncipe!

Meus filhos amados, tesouros da minha vida!

Não adianta pedir desculpas ou explicar minhas ausências, mas cumprir com as minhas promessas e acima de tudo agradecer-los por me amarem.

Vocês são a razão da minha vida!

A todos meus familiares e amigos,

Obrigada por se preocuparem e torcerem por mim.

Agradecimentos Especiais

A minha orientadora Prof^a. Dr^a. Denise Pedrini,

Agradeço o privilégio de ter sido sua orientada e pela orientação que ultrapassa a tese.

Você é o exemplo da professora dedicada, competente, sensível, carismática e humana. Sempre atenta e pronta para ajudar.

Agradeço todo esforço que dedicou a este trabalho, aprendi muito estando ao seu lado.

Desculpe-me por muitas vezes não corresponder às suas expectativas.

Finalmente encerramos esta etapa.

Minha eterna gratidão e admiração!

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem,

Serei eternamente grata por toda colaboração dispensada para que este trabalho pudesse ser realizado. E mais ainda por ter compreendido minhas limitações e dificuldades. Admiro-o pela competência, inteligência, humildade, acessibilidade e humor. Obrigada pela ótima convivência e pelo exemplo de dedicação e pesquisador incansável.

Meu reconhecimento, gratidão e admiração...

À Prof^a. Dr^a. Kikue Takebayashi Sassaki,

Não tenho palavras para agradecer sua valiosa contribuição ao nosso trabalho. Sua competência e dedicação são admiráveis!

Muito obrigada!

A Maria dos Santos Ferreira Fernandes

Obrigada por sua importante colaboração, ela foi essencial para que este trabalho fosse concluído com êxito.

...E aqui surgiu uma nova amizade!

**As minhas amigas Daniela Cristina de Oliveira e
Marcelle Danelon**

Que passaram a ser meu braço direito quando ingressei na pós-graduação, obrigada pelo incentivo, amor, carinho, companheirismo e por emprestarem seus lares, sou muito grata a vocês! Vocês estarão sempre em meu coração!

Minhas grandes e eternas amigas!

A Prof^a. Dr^a. Cíntia Megid Barbieri de Oliveira Pinto

Pelo grande incentivo e apoio!

Muito obrigada!

Ao aluno Gabriel Gaban,

Muito obrigada pela ajuda no desenvolvimento da parte experimental deste trabalho, você esteve sempre pronto a ajudar. Desejo que o sucesso e a felicidade estejam sempre presentes em sua vida!

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia do Câmpus de Araçatuba – UNESP, nas pessoas de sua Diretora Prof^a. Adj. Ana Maria Pires Soubhia e Vice-Diretor Prof. Titular Wilson Roberto Poi.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência Odontológica da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, na pessoa de seu Coordenador Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem.

Aos professores da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem, Dr. Célio Percinoto, Dr. Juliano Pelim Pessan, Dr. Robson Frederico Cunha, Dr^a Sandra Maria Herondina Ávila de Aguiar, pelos ensinamentos e convivência agradável.

Aos professores e funcionários da Disciplina de Clínica Integrada da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Dr^a Denise Pedrini, Dr^a Sônia Regina Panzarini Barioni, Dr^a Daniela Atili Brandini, Dr. Celso Koogi Sonoda, Dr. Wilson Roberto Poi, Dr. José Carlos Monteiro de Castro e Antonia Ferreira Artioli, pela acolhida, carinho e atenção dispensada.

Aos funcionários da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, Maria dos Santos Ferreira Fernandes, Mário Luis da Silva e Maria Bertolina Mesquita de Oliveira, pela disposição, carinho e alegria.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, Izamar, Cláudio, Alexandra, Maria Cláudia, Ana Cláudia, Isabel, Fátima, Ivone, Luzia, Denise e Marina, pela ótima recepção e trabalho prestado.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, Valéria, Diogo, Marina e Cristiane pela eficiência, simpatia e paciência.

Ao Claudio Fernando Ostini, pelo apoio e valiosa colaboração com as fotografias.

As colegas que ingressaram comigo no curso de Doutorado em Saúde Bucal da Criança, Carolina, Renata e Vanessa, pela amizade e carinho.

A amiga Daniela Cristina de Oliveira, pela grande contribuição e empenho, por sempre mostrar-se disponível em me ajudar, serei eternamente grata.

A todos os colegas do curso de Mestrado e Doutorado em Saúde Bucal da Criança da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, pela convivência agradável e amizade.

A todos os demais professores e funcionários da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, pela ajuda e atenção que me dispensaram.

Aos amigos do Laboratório, Ana Carolina Zaze, Karina Mirela R. Pinto Alves, Lilian Ferreira, Marcelle Danelon, Danielle M. Câmara, Ana Elisa Mello Vieira, Eliana M. Takeshita, Jackeline Gallo do Amaral, Marcelo Moretto, pela paciência e contribuição.

À aluna de graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Gisele Andriolo, pela ajuda na parte laboratorial.

Ao Marcos Requena, da ADFOA, pela ajuda e apoio, meus agradecimentos.

À FGM Produtos Odontológicos LTDA pela manufatura dos materiais testados neste trabalho, obrigada pela confiança.

Às Faculdades Adamantinenses Integradas (FAI), pelo apoio e oportunidade de fazer parte do corpo de docentes.

Ao coordenador do Curso de Odontologia da FAI, Prof. Ms. Jean Paulo Rodolfo Ferreira, pelo incentivo e apoio.

Aos meus colegas docentes do Curso de Odontologia da FAI, por torcerem por mim.

Aos meus alunos da graduação, agradeço a oportunidade de orientá-los e conduzi-los nos caminhos da Odontopediatria.

À Secretaria Municipal de Saúde de Adamantina, na pessoa de sua Coordenadora de Saúde Bucal, Dra. Mary Aparecida Natera Passoni, pelo apoio incondicional e amizade.

Às minhas secretárias e colaboradoras, Rosana, Heloísa, Roseli, Dina e D. Lourdes, sem os esforços de vocês tudo teria sido mais difícil.

A Prof^a. Dr^a. Rosângela dos Santos Nery, pela amizade e simpatia.

Ao Frigorífico Frimipa / Panorama - SP, pela atenção e por permitir a realização da coleta dos dentes.

A todos aqueles que embora não nomeados me brindaram com seus apoios em vários momentos. O meu reconhecido e carinhoso muito obrigada!

Epígrafe

“Se você não puder ser um pinheiro no topo da colina, seja um arbusto no vale; mas seja o melhor arbusto à margem do regato...”

Se não puder ser árvore, seja um pouco da relva... e dê alegria aos que passam no caminho...

Se não puder ser almíscar, seja então uma tília; mas a tília mais viva do lago!

Não podemos ser todos capitães; temos que ser tripulação. Há algum lugar para todos nós aqui.

Se não puder ser uma estrada real, seja uma vereda.

Se não puder ser o sol, seja uma pequena estrela...

Não é pelo tamanho que terá êxito ou fracasso... mas seja o melhor, do que quer que você seja!”

Douglas Malloch

Resumo Geral

Tiveron ARF. Avaliação da capacidade de resinas compostas contendo trimetafosfato de sódio associado ou não ao fluoreto em reduzir a desmineralização e promover a remineralização *in vitro* [tese]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista, 2011.

O objetivo deste estudo foi verificar a capacidade de resinas compostas contendo trimetafosfato de sódio (TMP) associado ou não ao fluoreto em reduzir a desmineralização e promover a remineralização do esmalte *in vitro*. Foram selecionados 156 blocos de esmalte de incisivos bovinos (4x3x3 mm), pelo teste de dureza de superfície inicial e confeccionados 240 corpos-de-prova das resinas compostas. **Estudo para verificar a redução da desmineralização (DES>RE):** foram definidos os seguintes grupos: sem TMP e fluoreto de sódio; sem TMP e com fluoreto de sódio a 1,6%; TMP 1,5%, 14,1% ou 36,8% com ou sem fluoreto de sódio a 1,6%. Noventa e seis corpos-de-prova foram adaptados aos blocos de esmalte e submetidos às ciclagens de pH. A seguir, analisou-se a dureza de superfície e em secção longitudinal e a concentração de F no esmalte. Foi determinada a liberação de F e TMP (n = 6) e a dureza (n = 6) das resinas. Testes paramétricos e não paramétricos foram realizados, após a verificação da homocedasticidade dos dados ($p < 0,05$). A presença de F no esmalte foi similar nas resinas fluoretadas ($p > 0,05$), porém maior que os demais grupos ($p < 0,05$). A associação TMP 14,1% e F apresentou menor desmineralização com maior intensidade na região superficial da lesão ($p < 0,05$). A presença de TMP aumentou a liberação de F e reduziu a dureza dos materiais. **Estudo para verificar a capacidade de remineralização (RE>DES):** lesão de cárie artificial foi induzida nos 60 blocos e após determinou-se a dureza de superfície pós-desmineralização. Os grupos foram definidos: sem TMP e

fluoreto de sódio; sem TMP e com fluoreto de sódio a 1,6%; com 14,1% de TMP com ou sem fluoreto de sódio a 1,6%. Após os corpos-de-prova serem adaptados aos blocos, foram submetidos às ciclagens de pH. Analisou-se a dureza de superfície e em secção longitudinal e a concentração de F no esmalte. Testes paramétricos e não paramétricos foram realizados, após a verificação da homocedasticidade dos dados ($p < 0,05$). A presença de F no esmalte foi diferente entre as resinas fluoretadas ($p < 0,05$), porém maior que os demais grupos ($p < 0,05$). A associação TMP 14,1% e F aumentou a remineralização com maior intensidade na região profunda da lesão ($p < 0,05$). Concluiu-se que a resina contendo trimetafosfato de sódio associado ao fluoreto apresentou capacidade em reduzir a perda mineral e favorecer a remineralização do esmalte.

Palavras-chave: Resinas compostas. Fluoreto de sódio. Fosfatos. Desmineralização do dente. Remineralização dentária.

General Abstract

Tiveron ARF. *In vitro* evaluation of the capacity of composite resins containing sodium trimetaphosphate associated or not with fluoride for reducing demineralization and promoting remineralization [thesis]. Araçatuba: São Paulo State University, 2011.

The purpose of this *in vitro* study was to verify the capacity of composite resins containing sodium trimetaphosphate (TMP) associated or not with fluoride for reducing demineralization and promoting remineralization on enamel. One hundred fifty-six enamel blocks (4x3x3 mm) were prepared from extracted bovine incisors and selected through the initial surface hardness test and then 240 specimens of the composite resins were confectioned. **Analysis of the demineralization reduction (DES>RE):** The following groups were defined: without TMP and sodium fluoride; without TMP and with 1.6% sodium fluoride; 1.5%, 14.1% or 36.8% TMP with or without 1.6% sodium fluoride. A total of 96 specimens were adjusted to the enamel blocks and submitted to pH-cyclings. Following, superficial and cross-sectional hardness and F concentration on enamel were verified. F and TMP release (n = 6) and hardness (n = 6) of the composite resins were determined. Parametric and non-parametric tests were performed, after the verification of data homoscedasticity ($p < 0.05$). The presence of F on enamel was similar in fluoride resins ($p > 0.05$), but higher than the other groups ($p < 0.05$). The association of 14.1% TMP and F presented lower demineralization with the higher intensity on the lesion surface ($p < 0.05$). The presence of TMP increased the F release and decreased the materials' hardness. **Analysis of the remineralization capacity (RE>DES):** Artificial carious lesions were induced on the 60 blocks and, then, the post-demineralization surface hardness was determined. The groups were defined: without TMP and sodium fluoride;

without TMP and with 1.6% sodium fluoride; with 14.1% TMP and with or without 1.6% sodium fluoride. Specimens were adjusted to the enamel blocks and submitted to pH-cyclings. Superficial and longitudinal hardness and F concentration on enamel were analyzed. Parametric and non-parametric tests were performed, after the verification of data homoscedasticity ($p < 0.05$). The presence of F on enamel was different among the fluoride resins ($p < 0.05$); however, it was higher than the other groups ($p < 0.05$). The association of 14.1% TMP and F increased the remineralization more intensely in the deeper region of the lesion ($p < 0.05$). It was concluded that the resin containing sodium trimetaphosphate associated with fluoride present ability for reducing mineral loss and supporting the remineralization on enamel.

Keywords: Composite resins. Sodium fluoride. Phosphates. Tooth demineralization. Tooth remineralization.

Lista de Abreviaturas

%	Porcentagem
°C	Grau Celsius
µm	Micrometro
µg F/mL	Micrograma de fluoreto por mililitro
µg F/mm ³	Micrograma de fluoreto por milímetro cúbico
µg F/cm ²	Micrograma de fluoreto por centímetro quadrado
µg P/cm ²	Micrograma de fósforo por centímetro quadrado
µg/cm ²	Micrograma por centímetro quadrado
ANOVA	Análise de variância
Ca	Cálcio
Cap.	Capítulo
CEEA	Comissão de ética na experimentação animal
c-d-p	Corpo-de-prova
DES	Desmineralização
DP	Desvio padrão
%DS	Porcentagem de perda da dureza de superfície (Cap. 1); Porcentagem de recuperação da dureza de superfície (Cap. 2)
DS ₁	Dureza de superfície inicial
DS ₂	Dureza de superfície final (Cap. 1); Dureza de superfície pós-desmineralização (Cap. 2)
DS ₃	Dureza de superfície final (Cap. 2)
DSL	Dureza em secção longitudinal

et al.	E colaboradores
EP	Erro padrão
F	Fluoreto
Fig.	Figura
GMC	Geraldo Maia Campos
HA	Hidroxiapatita
HCl	Ácido clorídrico
IDSL	Área integrada do perfil diferencial
Δ IDSL	Diferença da área integrada do perfil diferencial
i.e.	id est (isto é)
IL	Illinois
Inc.	Incorporation
KCl	Cloreto de potássio
kg/mm ²	Quilograma por milímetro quadrado
KHN	Dureza Knoop
Δ KHN	Perda integrada da dureza de subsuperfície (Cap. 1); Recuperação integrada da dureza de subsuperfície (Cap. 2)
LTDA	Limitada
mL	Mililitro
mL/mm ²	Mililitro por milímetro quadrado
mm	Milímetro
mol /L	Molaridade
mmol/ L	Milimolaridade
mW/cm ²	Miliwatts por centímetro quadrado
MA	Massachusetts

n	Número de repetições
nm	Nanometro
NaF	Fluoreto de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
p	Nível de significância
P	Fósforo
ppm	Parte por milhão
pH	Potencial hidrogeniônico
RE	Remineralização
S.A.	Sociedade anônima
SC	Santa Catarina
SP	São Paulo
TISAB	Tampão ajustador de força iônica total
TMP	Trimetafosfato de sódio
USA	United States of America
VIP	Variable Intensity Polymerizer
>	Maior
<	Menor
x	Vezes
+	Mais
-	Menos
=	Igual
*	Asterisco
/	Dividido por

Lista de Tabelas

Tabelas Capítulo 1

Tabela 1	Valores médios (DP) obtidos das análises nos blocos de esmalte (n = 12) após a ciclagem de pH de acordo com os grupos.	42
Tabela 2	Valores de Δ IDS _L calculado para 2 regiões da lesão no esmalte de acordo com os grupos.	44

Tabelas Capítulo 2

Tabela 1	Valores médios (DP) obtidos das análises nos blocos de esmalte (n = 12) após a ciclagem de pH de acordo com os grupos	62
Tabela 2	Valores de Δ IDS _L calculado para 3 regiões da lesão no esmalte de acordo com os grupos	64

Lista de Figuras

Figuras Capítulo 1

Figura 1	Perfil da dureza diferencial (dureza x profundidade) calculado pela subtração dos perfis dos grupos com TMP dos grupos sem TMP ou F. Valores positivos indicam dureza maior em função da profundidade.	43
Figura 2	Valores médios de fluoreto liberado nas soluções DES e RE em função do tempo (15 dias). Barras verticais mostram o erro padrão da média. *Valores médios (DP) de fluoreto total liberado nas soluções DES e RE durante 15 dias. Letras distintas mostram diferença estatística entre os grupos (Tukey, $p < 0,0001$).	45
Figura 3	Valores médios de fósforo (TMP) liberado nas soluções DES e RE em função do tempo (15 dias). Barras verticais mostram o erro padrão da média. *Valores médios (DP) de fósforo (TMP) total liberado nas soluções DES e RE durante 15 dias. Letras distintas mostram diferença estatística entre os grupos (Tukey, $p < 0,0001$).	46
Figura 4	Valores médios (EP) de dureza de superfície dos materiais ($n = 6$). Letras distintas mostram diferença estatística entre os grupos (Tukey, $p < 0,0001$).	47

Figura Capítulo 2

Figura 1	Perfil da dureza diferencial (dureza x profundidade) calculado pela subtração dos perfis dos grupos com TMP dos grupos sem TMP ou F. Valores positivos indicam dureza maior em função da profundidade.	63
----------	--	----

Sumário

<i>Introdução Geral</i>	24
 <i>Capítulo 1</i>	26
<i>Resumo</i>	27
<i>Introdução</i>	28
<i>Material e Método</i>	29
<i>Resultados</i>	34
<i>Discussão</i>	36
<i>Conclusão</i>	39
<i>Referências</i>	39
 <i>Capítulo 2</i>	48
<i>Resumo</i>	49
<i>Introdução</i>	50
<i>Material e Método</i>	51
<i>Resultados</i>	55
<i>Discussão</i>	56
<i>Conclusão</i>	58
<i>Referências</i>	58
 <i>Anexos</i>	65

*Introdução Geral **

A contínua busca por um material biologicamente aceitável, com estética satisfatória, atividade anticárie e que apresente propriedades físicas e mecânicas similares aos tecidos dentários naturais, tem resultado no desenvolvimento de compósitos odontológicos que possibilitem diferentes alternativas restauradoras. Uma vez que as recidivas de cárie ainda constituem a principal causa de falhas de restaurações [1], a capacidade de um material restaurador em prevenir a cárie pode possibilitar o sucesso da restauração.

Atualmente, os materiais com ação anticárie são os que apresentam e liberam fluoreto, cálcio ou fosfato para o meio bucal. Os cimentos de ionômero de vidro liberam grandes quantidades de fluoreto e apresentam um potencial anticárie, entretanto, possuem baixa resistência à fratura e estética [2,3]. A liberação de fluoreto de resinas compostas é significativamente menor que os cimentos de ionômero de vidro e resinas modificadas por poliácidos [4,5]. Portanto, é questionável que resinas fluoretadas possam prevenir cáries secundárias [4], pois a quantidade de fluoreto liberada decresce com o tempo atingindo níveis muito baixos [6]. Obter uma resina composta com bom potencial anticárie pela adição de outros ativos pode ser uma alternativa.

A associação de fosfatos à redução da cárie dentária teve início na década de 60 [7-11], quando foram adicionados em dietas [8,12], gomas de mascar [13,14] e mais tarde em dentifrícios [11,15]. Entre os sais de fosfato, o trimetafosfato de sódio (TMP) apresenta um bom potencial cariostático [8]. Estudos recentes [15-17] demonstraram um aumento na capacidade de redução da perda mineral quando associado ao fluoreto.

Os fosfatos têm uma grande afinidade pela hidroxiapatita (HA) impedindo o desprendimento de íons e reduzindo a área de superfície disponível para dissolução

[18,19]. Isto produz um efeito anticárie no esmalte [8-11,15,16] e sua adição a materiais resinosos poderia melhorar o desempenho das restaurações. O TMP é um fosfato de cadeia cíclica condensada onde sua propriedade de ligação com a HA é menor do que os polifosfatos, porém o TMP permanece ligado ao esmalte por um maior período de tempo, apresentando superior efeito anticárie devido à baixa habilidade em causar desagregação de microcristais de HA, ao mesmo tempo exercendo efeitos comparáveis a outros polifosfatos [20].

Apesar do fosfato não insolubilizar o fluoreto quando associados [15,16], o padrão de adsorção dos fosfatos é muito rápido e compete com a adsorção de fluoreto iônico [21]. Assim, uma adequada proporção entre fosfato e fluoreto é importante para um melhor desempenho do produto [16,17].

Nesse sentido, considerou-se importante verificar se a adição do TMP a resina composta, sem insolubilizar o fluoreto, poderia aumentar a eficácia do material, atuando na desmineralização e remineralização do esmalte, uma vez que não existem produtos comerciais com essas características. Diante do exposto, o trabalho foi dividido em 2 capítulos, ambos estudos *in vitro*. No capítulo 1, a abordagem foi direcionada na avaliação do efeito do TMP associado ou não ao fluoreto na desmineralização do esmalte, na dureza e liberação de fluoreto e TMP de resinas compostas. No capítulo 2, foi utilizado o material que apresentou melhor resultado no capítulo 1, com e sem fluoreto, verificando a capacidade das resinas compostas em promover a remineralização do esmalte.

Capítulo 1

*Efeito do trimetafosfato de sódio (TMP)
associado ou não ao fluoreto (F) em resinas compostas na
desmineralização do esmalte, na dureza e
liberação de F e TMP*

Efeito do trimetafosfato de sódio (TMP) associado ou não ao fluoreto (F) em resinas compostas na desmineralização do esmalte, na dureza e liberação de F e TMP*

Resumo

Objetivos: O objetivo deste estudo foi verificar o efeito do trimetafosfato de sódio (TMP) associado ou não ao fluoreto (F) na desmineralização do esmalte *in vitro*, na dureza e liberação de F e TMP de resinas compostas.

Métodos: Foram selecionados 96 blocos de esmalte de incisivos bovinos (4x3x3 mm), pelo teste de dureza de superfície inicial. Corpos-de-prova (n = 24) foram confeccionados para cada resina composta: sem TMP e fluoreto de sódio; sem TMP e com fluoreto de sódio a 1,6%; TMP 1,5%, 14,1% ou 36,8% com ou sem fluoreto de sódio a 1,6%. Corpos-de-prova foram adaptados aos blocos de esmalte e submetidos às ciclagens de pH. A seguir, analisou-se a dureza de superfície e em secção longitudinal e a concentração de F no esmalte. Foi determinada a liberação de F e TMP e a dureza dos materiais. Testes paramétricos e não paramétricos foram realizados, após a verificação da homocedasticidade dos dados ($p < 0,05$).

Resultados: A presença de F no esmalte foi similar nas resinas fluoretadas ($p > 0,05$), porém maior que os demais grupos ($p < 0,05$). A associação TMP 14,1% e F apresentou menor desmineralização com maior intensidade na região superficial da lesão ($p < 0,05$). A presença de TMP aumentou a liberação de F e reduziu a dureza dos materiais.

Significância: O aumento na capacidade de liberação de F e diminuição na perda mineral do esmalte promovido pela adição de TMP e F em resinas compostas, com pouca alteração na dureza, parece aumentar a possibilidade de utilização de materiais resinosos em pacientes com atividade de cárie.

*Normalização segundo a revista *Dental Materials* (Anexo B)

Palavras-chave: Resinas compostas; Fluoreto de sódio; Fosfatos; Esmalte dentário; Desmineralização do dente; Dureza.

1. Introdução

Os materiais restauradores devem apresentar boas propriedades físicas, químicas, estéticas, além de atividade anticárie. Em geral, materiais que liberam grandes quantidades de fluoreto (F) têm maior potencial preventivo de cárie e é desejável que as propriedades físicas e mecânicas não sejam afetadas. Os cimentos de ionômero de vidro têm sido aceitos como materiais que apresentam um potencial anticárie, entretanto, possuem estética e propriedades mecânicas inferiores quando comparados às resinas compostas [1]. Atualmente há interesse em uma resina composta que apresente uma maior capacidade de liberação de fluoreto [2], uma vez que seu baixo potencial anticárie está relacionado a menor quantidade de fluoreto liberado [3]. A adição de outros agentes às resinas poderia melhorar esse potencial.

Os fosfatos têm uma grande afinidade pela hidroxiapatita impedindo o desprendimento de íons e reduzindo a área de superfície disponível para dissolução [4,5]. Isto produz um efeito anticárie no esmalte [6-9] e sua adição a materiais resinosos poderia melhorar o desempenho das restaurações. Entretanto, apesar do fosfato não insolubilizar o fluoreto quando associados [8,9], o padrão de adsorção dos fosfatos é muito rápido e compete com o do fluoreto [10]. Uma adequada proporção entre fosfato e fluoreto é importante para um melhor desempenho do produto [9,11].

Dentre os sais de fosfato, o trimetafosfato de sódio (TMP) parece ser o mais efetivo [12] e sua associação com fluoreto reduz a perda mineral *in vitro* em esmalte [8,9,11]. Entretanto, é necessário verificar se a adição de TMP em materiais resinosos influenciaria as propriedades mecânicas, o padrão de liberação do fluoreto e sua capacidade anticárie.

Nesse sentido, seria interessante avaliar as propriedades do TMP associado ou não ao fluoreto em resina composta, uma vez que não existem produtos comerciais com essas características. Assim, este estudo *in vitro* verificou o efeito do trimetafosfato de sódio associado ou não ao fluoreto na desmineralização do esmalte, na dureza e liberação de F e TMP de resinas compostas.

2. Material e Métodos

2.1. Preparo dos blocos de esmalte e dos corpos-de-prova

Blocos de esmalte (4x4x3 mm) foram obtidos de incisivos bovinos e suas superfícies foram planificadas com as lixas de granulação 600 e 1200, carga de 4 libras, sob refrigeração a água e polidas com feltro (Polishing Cloth Buehler 40-7618, Buehler, Lake Bluff, IL, USA) e suspensão de diamante (Metadi Monocrystalline Diamond Suspension, 1 micron, Blue Color Polish Spray, Water Base 40-6530 – Buehler, Lake Bluff, IL, USA), com carga de 4 libras. O desgaste resultou na remoção de aproximadamente 120 μm em profundidade do esmalte. Após o polimento, secções transversais foram realizadas a uma distância de 1 mm da borda do bloco, em cortadeira sob refrigeração a água deionizada, obtendo-se blocos com 4x3x3 mm. Teste de dureza de superfície inicial (DS_1) foi realizado para seleção de 96 blocos de esmalte que apresentassem valores entre 320 a 380 kg/mm^2 (Anexo E).

Foram confeccionados 24 corpos-de-prova para cada resina composta fluida experimental de média viscosidade (FGM Produtos Odontológicos LTDA, Joinville, SC, Brasil) analisada: sem TMP e fluoreto de sódio (controle); sem TMP e com fluoreto de sódio a 1,6% (NaF); TMP 1,5%, 14,1% ou 36,8% com ou sem fluoreto de sódio a 1,6% (Anexo F). As resinas possuem na composição 65,4% de carga constituída de: pó de vidro de Bário, alumino silicato, sílica pirogênica e TMP. A fotopolimerização foi realizada com

auxílio de aparelho fotopolimerizador VIP (Bisco, Schaumburg, IL, USA), por período de 40 segundos, com intensidade de 500 mW/cm^2 , nas superfícies superior e inferior [13].

2.2. Ciclagem de pH

Doze corpos-de-prova de cada material ($3 \times 2 \times 1 \text{ mm}$) foram justapostos às bordas seccionadas dos blocos de esmalte e fixados com auxílio de cera pegajosa [14] (Anexo F). Os conjuntos blocos/corpos-de-prova foram submetidos a 5 ciclagens de pH [15], a uma temperatura de 37°C , sendo imersos nas soluções de desmineralização – DES (6 horas – Ca e P $2,0 \text{ mmol/L}$ em tampão acetato $0,075 \text{ mol/L}$, $0,04 \text{ ppm F}$ em pH $4,7 - 2,2 \text{ mL/mm}^2$) e remineralização - RE (18 horas – Ca $1,5 \text{ mmol/L}$, P $0,9 \text{ mmol/L}$, KCl $0,15 \text{ mol/L}$ em tampão cacodilato $0,02 \text{ mol/L}$, $0,05 \text{ ppm F}$ em pH $7,0 - 1,1 \text{ mL/mm}^2$). Os blocos foram lavados com jatos de água deionizada por 30 segundos, após remoção das soluções DES e RE. Decorrido o 5º dia, a solução RE foi trocada, e os blocos permaneceram nesta solução por 48 horas (Anexo F).

2.3. Avaliação da dureza do esmalte e dos materiais

Para o teste de dureza de superfície inicial (DS_1) foi utilizado o microdurômetro Shimadzu Micro Hardness Tester HMV-2.000 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), com penetrador tipo Knoop, carga estática de 25 gramas e tempo de 10 segundos [16]. Foram realizadas 5 impressões no esmalte separadas entre si por uma distância de $100 \mu\text{m}$, a uma distância de $300 \mu\text{m}$ da borda seccionada [14] (Anexo E). Concluída a ciclagem de pH, os materiais unidos aos blocos de esmalte foram removidos, e os blocos foram submetidos ao teste de dureza de superfície final (DS_2) (Anexo F), utilizando a mesma metodologia do teste de DS_1 , para o cálculo da porcentagem de perda da dureza de superfície ($\%DS = [(DS_2 - DS_1)/DS_1] \times 100$).

Para determinar a dureza em secção longitudinal (DSL), metade de cada bloco (2x3x3 mm) foi incluída em resina acrílica (Buehler Transoptic Powder, Lake Bluff, IL, USA) e a superfície cortada foi exposta e polida (Anexo G). Para o teste de dureza foi utilizado o microdurômetro Micromet 5114 hardness tester (Buehler, Lake Bluff, IL, USA e Mitutoyo Corporation, Kanagawa, Japan) e o software Buehler OmniMet (Buehler, Lake Bluff, IL, USA), carga de 5 gramas por 10 segundos em aumento de 1000 vezes. A 300 μm da borda que permaneceu em contato com o material, foram realizadas, em cada bloco, 13 impressões nas profundidades de: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 70, 90, 110, 220 e 330 μm (Anexo G). A área integrada da dureza (KHN x μm) da lesão até o esmalte hígido foi calculada utilizando a regra trapezoidal (GraphPad Prism, versão 3.02) e subtraída da área integrada da dureza do esmalte hígido obtendo a perda integrada da dureza de subsuperfície (ΔKHN) [8]. O perfil de dureza diferencial para os grupos com TMP e sem TMP (i.e. os valores de dureza em profundidade das resinas com TMP menos o controle e TMP+F menos NaF) em cada concentração foi calculado. A área integrada (IDSL) do perfil diferencial foi determinada em 2 regiões em profundidade na lesão definindo os valores de ΔIDSL .

Seis corpos-de-prova de cada material (5 mm de diâmetro e 2 mm de espessura) (Anexo H), mantidos 24 horas em recipiente plástico e em ambiente úmido, foram submetidos ao teste de dureza de superfície. O teste foi determinado utilizando o microdurômetro Shimadzu Micro Hardness Tester HMV-2.000 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), sob carga estática (Knoop) de 100 gramas e tempo de 5 segundos (Anexo H). Foram realizadas 5 impressões na superfície de topo do material distantes 500 μm entre si [13].

2.4. Liberação de F e TMP dos materiais

Seis corpos-de-prova de cada material foram colocados em tubos de ensaio de polipropileno com tampa, suspensos por um fio de aço inoxidável. Cada tubo continha 2 mL das soluções DES ou RE [13] (Anexo I). Inicialmente, os corpos-de-prova foram armazenados 6 horas em solução DES (Ca e P 2,0 mmol/L em tampão acetato 0,075 mol/L, em pH 4,7). Em seguida, as amostras foram transferidas para novos tubos contendo solução RE (Ca 1,5 mmol/L, P 0,9 mmol/L, KCl 0,15 mol/L em tampão cacodilato 0,02 mol/L, em pH 7,0) permanecendo por 18 horas. Os tubos foram deixados sob agitação constante (mesa agitadora TE-420 Orbital - Tecnal), à temperatura de 37°C. Estes procedimentos foram repetidos durante 15 dias (Anexo I).

Os corpos-de-prova foram lavados com água deionizada e secos com papel absorvente antes de serem imersos em nova solução. As soluções foram recolhidas diariamente, identificadas e armazenadas em tubos de ensaio de polipropileno a 4°C para leitura do F e TMP liberado.

2.5. Análise de F no esmalte e F e TMP nas soluções DES e RE

As outras metades dos blocos foram novamente seccionadas para obtenção de um bloco 2x1x3 mm e submetidas ao procedimento de microabrasão utilizando lixa auto-adesiva (granulação 400, Silicon-Carbide, Buehler, Lake Bluff, IL, USA) em frasco de poliestireno cristal (J-10, Injeplast, São Paulo, SP, Brasil), baseado no trabalho de Alves et al. [17] (Anexo J). Após a remoção de uma camada de 50 µm de esmalte de cada bloco foi acrescentado 0,5 mL de HCl 1,0 mol/L no interior dos frascos. Estes foram mantidos sob agitação constante por 1 hora em mesa agitadora (TE-420 Orbital, Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil), seguido da adição de 0,5 mL de NaOH 1,0 mol/L. Para análise de fluoreto foi utilizado eletrodo específico Orion 9409-BN (Orion Research, Inc., Beverly, MA, USA), previamente calibrado com soluções padrão (0,04 a 0,64 µg F/mL), e microeletrodo de

referência, acoplados a um analisador de íons Orion 720 A (Orion Research, Inc., Beverly, MA, USA) (Anexo J). Para determinação do fluoreto uma alíquota de 0,04 mL da amostra foi tamponada com 0,04 mL de TISAB II (“tampão ajustador de força iônica total”). Os valores foram expressos em $\mu\text{g F/mm}^3$.

Para a dosagem de fluoreto das soluções DES e RE, o eletrodo específico combinado para íon fluoreto (9609 BN, Orion Research, Inc., Beverly, MA, USA) foi calibrado com soluções padrão de 0,0625 a 2,0 $\mu\text{g F/mL}$. Para as dosagens foram pipetadas 0,5 mL das soluções DES e RE e acrescido 0,5 mL de TISAB II. As leituras foram realizadas sob agitação constante em agitador magnético (TE-081, Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) (Anexo J). Esses valores foram convertidos para $\mu\text{g F/cm}^2$.

O TMP liberado pelos materiais foi dosado após hidrólise em meio ácido seguido da determinação do fósforo (P) liberado. Para isto, alíquotas de 0,2 mL das soluções DES e RE foram acrescidos de 0,2 mL de ácido clorídrico (HCl) a 1,0 mol/L e aquecidas em banho fervente, a 100°C, por 1 hora. Após a hidrólise, a concentração de P nas soluções foi determinada pelo método colorimétrico, em placas de 96 poços (Placa para cultura de células de fundo chato - Modelo 92096 – TPP, Switzerland). Alíquotas de 0,04 e 0,1 mL das soluções DES e RE, respectivamente, foram utilizadas para as leituras em leitor de placas (PowerWave 340, Biotek), no comprimento de onda de 660 nm (Anexo J). A diferença na concentração de P determinada nas soluções DES e RE antes e após hidrólise ácida foi considerada como a proveniente de TMP presente nas soluções. Esses valores foram convertidos para $\mu\text{g P/cm}^2$.

As concentrações de F e TMP das soluções DES e RE foram determinadas separadamente. Posteriormente, os resultados das soluções DES e RE foram somados (DES + RE), completando um período de 24 horas e um ciclo da metodologia utilizada (ciclagem de pH), nos 15 dias analisados.

2.6. Análise estatística

Os resultados foram analisados estatisticamente considerando como fator de variação os materiais, e as variáveis, as análises de dureza (DS_2 , %DS, ΔKHN , $\Delta IDSL$ e dureza dos materiais), concentração de F ($\mu g F/mm^3$) presente no esmalte e concentração de F ($\mu g F/cm^2$) e TMP ($\mu g P/cm^2$) liberados nas soluções DES e RE. Os valores de DS_2 , %DS e $\Delta IDSL$ apresentaram distribuição normal (Kolmogorov–Smirnov) e homocedasticidade (Teste de Cochran), como também os resultados de F no esmalte, após transformação logarítmica. Estas variáveis foram submetidas a análise de variância (1-way ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni ($p < 0,05$). Os dados de ΔKHN mostraram distribuição heterogênea e foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis seguidos pelo teste de múltipla comparação de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$). O programa BioStat 5.0 foi utilizado com limite de significância de 5%. Os resultados da liberação de F e de TMP (dados transformados – raiz quadrada) nas soluções DES e RE e da dureza dos materiais mostraram homocedasticidade e foram submetidos a análise de variância (2-way ANOVA) seguida pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) (programa GMC versão 2002).

3. Resultados

O valor médio (DP) da DS_1 para todos os blocos foi 353,5 (13,5) kg/mm^2 e não houve diferença significativa entre eles ($p = 0,989$). Os valores dos grupos com fluoreto (Tabela 1) apresentaram uma menor perda mineral (DS_2 e %DS) em relação aos demais grupos ($p < 0,001$). Entre os grupos fluoretados o TMP 14,1%+F apresentou a menor perda mineral ($p < 0,001$). Com relação à perda de dureza de subsuperfície, o grupo TMP 14,1%+F apresentou menor valor de ΔKHN , porém semelhante estatisticamente ao grupo TMP 1,5%+F ($p = 0,272$). Os materiais que contêm fluoreto em sua composição apresentaram

maior concentração de fluoreto no esmalte em relação aos demais grupos ($p < 0,001$), porém foram semelhantes entre si ($p = 0,704$).

<Tabela 1>

O perfil da dureza diferencial em secção longitudinal evidenciou diferença quando os grupos com TMP e com ou sem fluoreto foram comparados (Fig. 1). Valores de dureza positivos foram maiores na parte superficial da lesão (região A, 5 – 30 μm). Na ausência de fluoreto valores negativos foram observados em profundidade na lesão (região B, 40 – 110 μm).

<Fig. 1>

As diferenças entre as resinas com TMP em todas as regiões (Fig. 1) estudadas foram expressas como valores de ΔIDSL (Tabela 2). Maiores porcentagens de TMP em resina sem fluoreto produziram melhor efeito anticárie na região superficial do esmalte e piores em profundidade. Na presença de fluoreto o aumento na porcentagem de TMP mostrou uma maior desmineralização na região A.

<Tabela 2>

Os valores médios das concentrações de F e TMP liberados nas soluções DES e RE durante 15 dias foram descritos nas Figs. 2 e 3. O padrão de liberação de F foi diferente entre os materiais com associação TMP/F e o grupo NaF (Fig. 2). As associações liberaram o F em maior quantidade nos primeiros 6 dias apresentando maiores valores totais liberados em relação ao grupo NaF ($p < 0,001$). O grupo NaF apresentou uma grande liberação apenas no primeiro dia permanecendo constante nos demais dias. Com relação à liberação de TMP nas soluções de ciclagem pelos materiais (Fig. 3), observou-se que os grupos que contêm maior concentração de TMP com ou sem fluoreto em sua composição foram os que apresentaram maiores valores ($p < 0,001$). O padrão de liberação do TMP foi

maior nos materiais contendo 36,8% de TMP (com ou sem fluoreto). Os demais grupos com TMP liberaram maiores valores no primeiro dia.

<Fig. 2>

<Fig. 3>

Em relação aos testes de dureza dos materiais (Fig. 4) o aumento na porcentagem de TMP reduziu a dureza de superfície ($p < 0,0001$). A incorporação de fluoreto às resinas não influenciou na dureza dos materiais ($p = 0,081$).

<Fig. 4>

4. Discussão

Além de apresentar adequadas propriedades mecânicas e estéticas, os materiais restauradores devem possuir atividade anticárie. Resinas que contêm fluoreto já são comercializadas na odontologia, porém sua liberação é pequena e seu efeito anticárie duvidoso [3]. O presente estudo mostrou que a adição de TMP nas resinas compostas influenciou o processo de desmineralização e remineralização do esmalte, bem como, a liberação do fluoreto e a dureza do material.

A resina com fluoreto produziu uma ação mais superficial no esmalte com redução de 3,7x da perda mineral, porém o efeito em profundidade no esmalte foi menor (1,8x) (Tabela 1). Estes dados confirmam a literatura que mostra que o fluoreto apresenta uma ação mais superficial no esmalte do que em profundidade [18]. Com a adição de TMP o efeito na desmineralização foi maior particularmente na área da lesão, reduzindo a perda mineral ao redor de 7,0x com 14,1% de TMP. De acordo com Takeshita et al. [9], a facilitação de um fluxo de cálcio para as camadas mais profundas do esmalte e a diminuição da difusão de ácidos no interior do esmalte explicaria o efeito do TMP na área da lesão.

O presente estudo mostra que o TMP afetou o processo de desmineralização e remineralização do esmalte e seu modo de ação foi relacionado ao desenvolvimento da lesão em profundidade no esmalte. Um perfil de dureza diferencial diferente de desmineralização foi observado através da lesão entre os grupos com TMP. O TMP liberado das resinas sem fluoreto produziu uma ação mais superficial (5 – 30 μm) na área da lesão. Este efeito foi relacionado à porcentagem de TMP na resina e a liberada assim como a maior desmineralização no esmalte mais profundo (40 – 110 μm). Isto deve estar relacionado à cinética de liberação a partir dos materiais que é lenta e decrescente ao longo do tempo. Assim, o fluxo de cálcio que o TMP produz para o interior do esmalte [19] ficou restrito a camada mais superficial da lesão ou não foi eficaz em bloquear a difusão de ácido para o esmalte em profundidade [9]. De acordo com a literatura [6], o TMP preservaria a estabilidade e a integridade mineral do esmalte superficial. Quando combinado ao fluoreto o padrão de inibição da desmineralização foi intensificado sendo maior na área superficial da lesão (Fig. 1 e Tabela 2). Embora o TMP e o fluoreto atuem em sítios de ação independentemente e simultaneamente [6,9], concentrações maiores de um dos ativos podem interferir na ação anticárie do outro. A presença de fluoreto elevou o padrão de liberação do TMP no grupo TMP 36,8% levando a uma redução de 33% no efeito anticárie na área mais superficial da lesão (Tabela 2).

O presente estudo mostrou que é possível a inclusão de TMP a uma resina com liberação proporcional a sua concentração no material (Fig. 3). Este é um dado importante visto que não há relato na literatura sobre a adição de fosfatos cíclicos em resinas compostas. Com a presença do TMP não houve um aumento de fluoreto no esmalte, como observado em estudo com dentifrícios [8]. Mas a presença do fluoreto foi importante para a verificação do efeito, principalmente em profundidade no esmalte. Apesar de não aumentar o fluoreto no esmalte, a presença de TMP aumentou em pelo menos 2x a

liberação de fluoreto pelas resinas e também alterou o padrão de liberação dos materiais que contêm fluoreto (Fig. 2). As resinas liberam níveis mais elevados de fluoreto nas primeiras 24 horas, diminuindo rapidamente esta liberação nos dias subsequentes [20]. Esta maior disponibilidade de fluoreto no meio mostrou um efeito na redução da desmineralização do esmalte. O fluoreto presente em concentrações baixas, porém constantes nos fluídos orais, durante os desafios ácidos é capaz de inibir a desmineralização [18]. Apesar da maior liberação de fluoreto, a presença do TMP na resina esteve relacionada a uma redução na dureza do material. Mesmo com uma diminuição ao redor de 14%, a dureza das resinas apresentou valor dentro da média (22 - 34 kg/mm²) para este tipo de material [21], porém a inclusão do NaF na resina não influenciou esta propriedade (Fig. 4). Em geral, materiais com alta liberação de fluoreto apresentavam baixa propriedade mecânica [22].

Porém uma liberação maior de fluoreto ou de TMP não melhorou o desempenho da resina. Apesar de agirem independentemente na redução da perda mineral, uma adequada proporção TMP: F é necessária para se obter um melhor efeito anticárie [11]. A proporção molar de TMP: F sugerida é entre 1,24: 1 e 3,72: 1 [8,11]. A resina fluoretada com TMP 14,1% manteve uma proporção média de 2,50: 1, durante o período de liberação, o que confirma os resultados da ciclagem de pH.

Os resultados apontam para uma combinação entre dois componentes cariostáticos, como o fluoreto e o TMP, que podem ser altamente efetivos em prevenir o início e desenvolvimento de lesões cariosas, mas são necessários mais estudos para comprovar o teor realmente adequado de TMP em materiais, além de testes para avaliar as propriedades mecânicas, solubilidade e estudo *in situ* com formação de biofilme, antes de apontarmos resultados conclusivos.

5. Conclusão

Concluiu-se que a adição de TMP a resina composta fluoretada foi capaz de disponibilizar TMP ao meio, aumentar a liberação de fluoreto e reduzir a desmineralização do esmalte *in vitro*, com pouca alteração na dureza, sendo que os melhores resultados foram observados com a concentração de TMP a 14,1%.

Agradecimentos

Os autores agradecem a FGM Produtos Odontológicos LTDA pela manufatura das resinas compostas utilizadas na pesquisa.

Referências

- [1] Preston AJ, Mair LH, Agalamanyi EA, Higham SM. Fluoride release from aesthetic dental materials. J Oral Rehabil 1999;26:123-9.
- [2] Glasspoole EA, Erickson RL, Davidson CL. A fluoride-releasing composite for dental applications. Dent Mater 2001;17:127-33.
- [3] Itota T, Al-Naimi OT, Carrick TE, Yoshiyama M, McCabe JF. Fluoride release from aged resin composites containing fluoridated glass filler. Dent Mater 2005;21:1033-8.
- [4] Barbour ME, Shellis RP, Parker DM, Allen GC, Addy M. An investigation of some food-approved polymers as agents to inhibit hydroxyapatite dissolution. Eur J Oral Sci 2005;113:457-61.
- [5] Barbour ME, Shellis RP, Parker DM, Allen GC, Addy M. Inhibition of hydroxyapatite dissolution by whole casein: the effects of pH, protein concentration, calcium, and ionic strength. Eur J Oral Sci 2008;116:473-8.
- [6] Gonzalez M. Effect of trimetaphosphate ions on the process of mineralization. J

Dent Res 1971;50:1056-64.

- [7] Städtler P, Müller-Bruckschwaiger K, Schäfer F, Huntington E. The effect of sodium trimetaphosphate on caries: a 3-year clinical toothpaste trial. *Caries Res* 1996;30:418-22.
- [8] Takeshita EM, Castro LP, Sasaki KT, Delbem AC. *In vitro* evaluation of dentifrice with low fluoride content supplemented with trimetaphosphate. *Caries Res* 2009;43:50-6.
- [9] Takeshita EM, Exterkate RAM, Delbem ACB, ten Cate JM. Evaluation of different fluoride concentrations supplemented with trimetaphosphate on enamel De- and Remineralization in vitro. *Caries Res* 2011;45:494-7.
- [10] Anbar M, Farley EP, Denson DD, Maloney KR. Localized fluoride release from fluorine-carrying polyphosphonates. *J Dent Res* 1979;58:1134-45.
- [11] Manarelli MM, Vieira AEM, Matheus AA, Sasaki KT, Delbem ACB. Effect of mouth-rinses with fluoride and trimetaphosphate on enamel erosion: an in vitro study. *Caries Res* 2011;45:506-9.
- [12] Harris RS, Nizel AE, Walsh BN. The effect of phosphate structure on dental caries development in rats. *J Dent Res* 1967;46:290-4.
- [13] Silva KG, Pedrini D, Delbem ACB, Cannon M. Effect of pH variations in a cycling model on the properties of restorative materials *Oper Dent* 2007;32:328-35.
- [14] Rodrigues E, Delbem ACB, Pedrini D, Oliveira MSR. pH-cycling model to verify the efficacy of fluoride-releasing materials in enamel demineralization. *Oper Dent* 2008;33:658-65.
- [15] 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;39:514-20.
- [16] Argenta RMO, Tabchoury CPM, Cury JA. A modified pH-cycling model to evaluate fluoride effect on enamel demineralization. *Pesqui Odontol Bras* 2003;17:241-6.
- [17] Alves KMRP, Pessan JP, Brighenti FL, Franco KS, Oliveira FAL, Buzalaf MAR, Sasaki KT, Delbem ACB. *In vitro* evaluation of the effectiveness of acidic fluoride dentifrices. *Caries Res* 2007;41:263-7.
- [18] Buzalaf MAR, Pessan JP, Honório HM, ten Cate JM. Mechanisms of action of fluoride for caries control. *Monogr Oral Sci* 2011;22:97-114.
- [19] 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;25:591-5.
- [20] Ulukapi H, Benderli Y, Soyman M. Determination of fluoride release from light-cured glass-ionomers and a fluoridated composite resin from the viewpoint of curing time. *J Oral Rehabil* 1996;23:197-201.
- [21] Chinelatti MA, Chimello DT, Ramos RP, Palma-Dibb RG. Evaluation of the surface hardness of composite resins before and after polishing at different times. *J Appl Oral Sci* 2006;14:188-92.
- [22] Moreau JL, Xu HHK. Fluoride releasing restorative materials: effects of pH on mechanical properties and ion release. *Dent Mater* 2010;26:e227-35.

Tabela 1 – Valores médios (DP) obtidos das análises nos blocos de esmalte (n = 12) após a ciclagem de pH de acordo com os grupos.

Grupos	Análises			
	DS ₂	%DS	ΔKHN	F (μg/mm ³)
Controle	52,0 (39,0) ^{a*}	-85,3 (11,1) ^a	10552,3 (626,3) ^a	0,48 (0,16) ^a
TMP1,5%	62,6 (41,8) ^a	-82,4 (11,6) ^a	10934,4 (1278,0) ^a	0,65 (0,16) ^b
TMP14,1%	90,2 (26,7) ^b	-74,7 (7,0) ^b	10654,1 (893,7) ^a	0,84 (0,16) ^c
TMP36,8%	98,7 (33,2) ^b	-72,0 (9,5) ^b	9611,6 (1076,0) ^a	0,93 (0,32) ^c
NaF	194,1 (19,8) ^c	-45,2 (6,2) ^c	5932,8 (1631,6) ^b	2,16 (0,96) ^d
TMP1,5%+F	215,8 (30,5) ^c	-39,0 (7,9) ^c	3298,2 (1009,9) ^{b,c}	2,34 (1,09) ^d
TMP14,1%+F	249,6 (23,5) ^d	-29,6 (5,7) ^d	1525,7 (586,2) ^c	2,58 (0,92) ^d
TMP36,8%+F	212,1 (30,9) ^c	-39,5 (8,1) ^c	4897,3 (729,2) ^b	2,21 (0,82) ^d

*Letras distintas mostram diferença entre os grupos (DS₂, %DS e F: Bonferroni, p < 0,05. ΔKHN: Student-Newman-Keuls, p < 0,05).

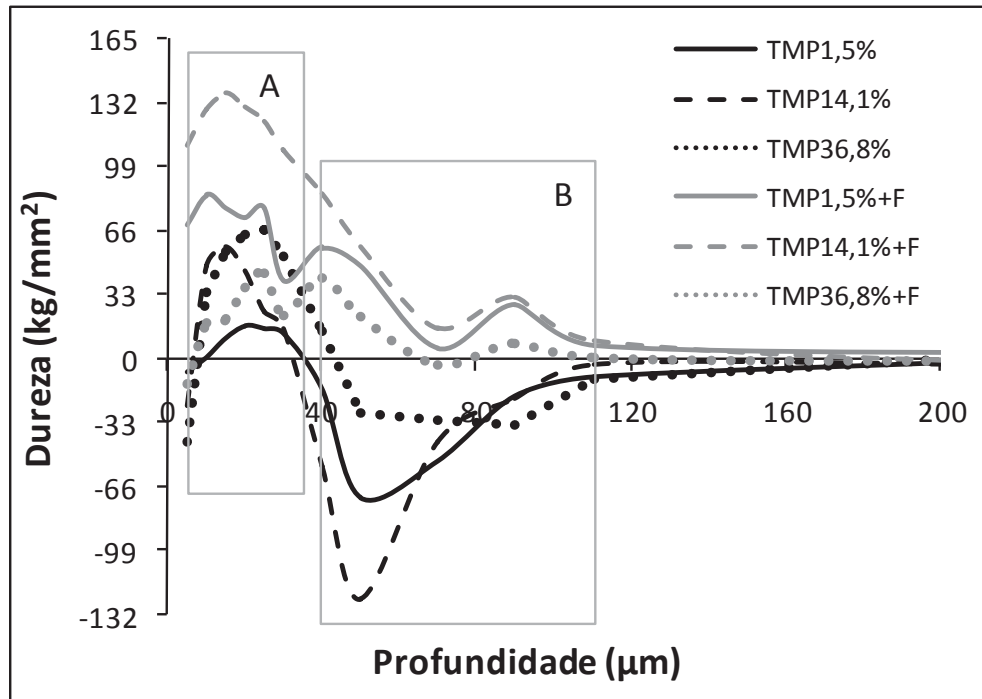


Fig. 1 – Perfil da dureza diferencial (dureza x profundidade) calculado pela subtração dos perfis dos grupos com TMP dos grupos sem TMP ou F. Valores positivos indicam dureza maior em função da profundidade.

Tabela 2 – Valores de Δ IDS_L calculado para 2 regiões da lesão no esmalte de acordo com os grupos.

Grupos	Δ IDS _L ¹ , Dureza x μ m	
	região A (5 – 30 μ m)	região B (40 – 110 μ m)
TMP1,5%	238,0 (765,7) ^{a*}	-796,7 (776,3) ^a
TMP14,1%	819,5 (628,4) ^b	-1018,7 (498,5) ^a
TMP36,8%	1265,3 (726,2) ^c	-660,4 (715,3) ^a
TMP1,5%+F	2092,1 (800,2) ^d	603,0 (460,0) ^{b,c}
TMP14,1%+F	3620,9 (481,9) ^e	796,4 (313,6) ^b
TMP36,8%+F	851,5 (420,5) ^{b,c}	302,3 (263,8) ^c

¹ Δ IDS_L: Estes valores foram calculados utilizando a área integrada do perfil diferencial da dureza dos respectivos grupos com TMP e o perfil do grupo sem TMP ou F em relação à profundidade de cada região. Valores positivos indicam dureza integrada maior e vice-versa. Valores denotam as médias com o desvio-padrão em parênteses. *Letras distintas indicam diferença estatística significativa entre os grupos (Bonferroni, $p < 0,0001$).

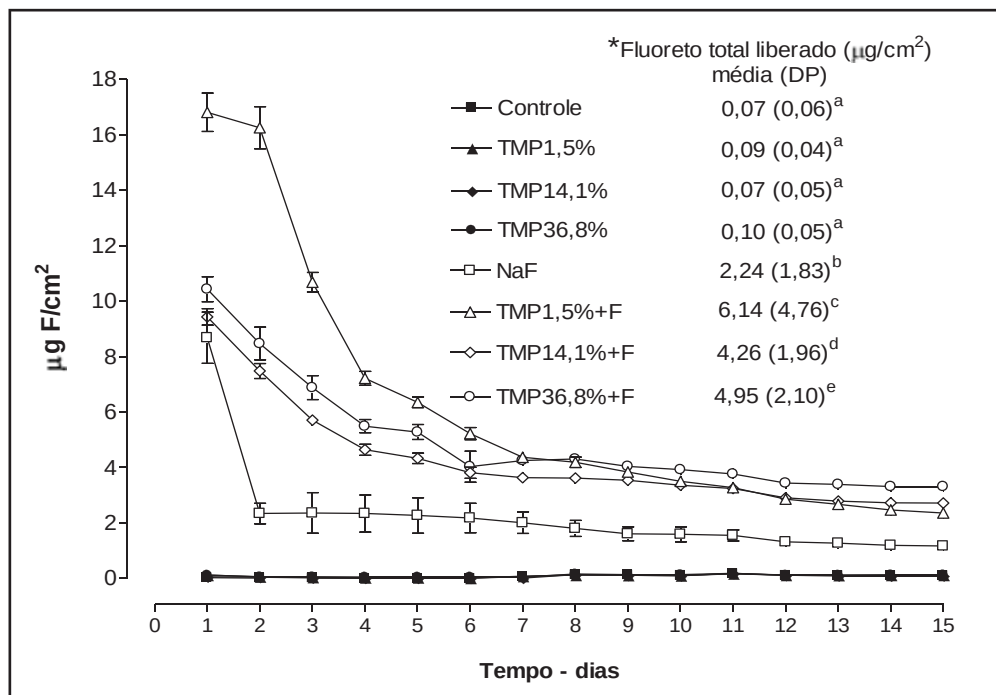


Fig. 2 – Valores médios de fluoreto liberado nas soluções DES e RE em função do tempo (15 dias). Barras verticais mostram o erro padrão da média. *Valores médios (DP) de fluoreto total liberado nas soluções DES e RE durante 15 dias. Letras distintas mostram diferença estatística entre os grupos (Tukey, $p < 0,0001$).

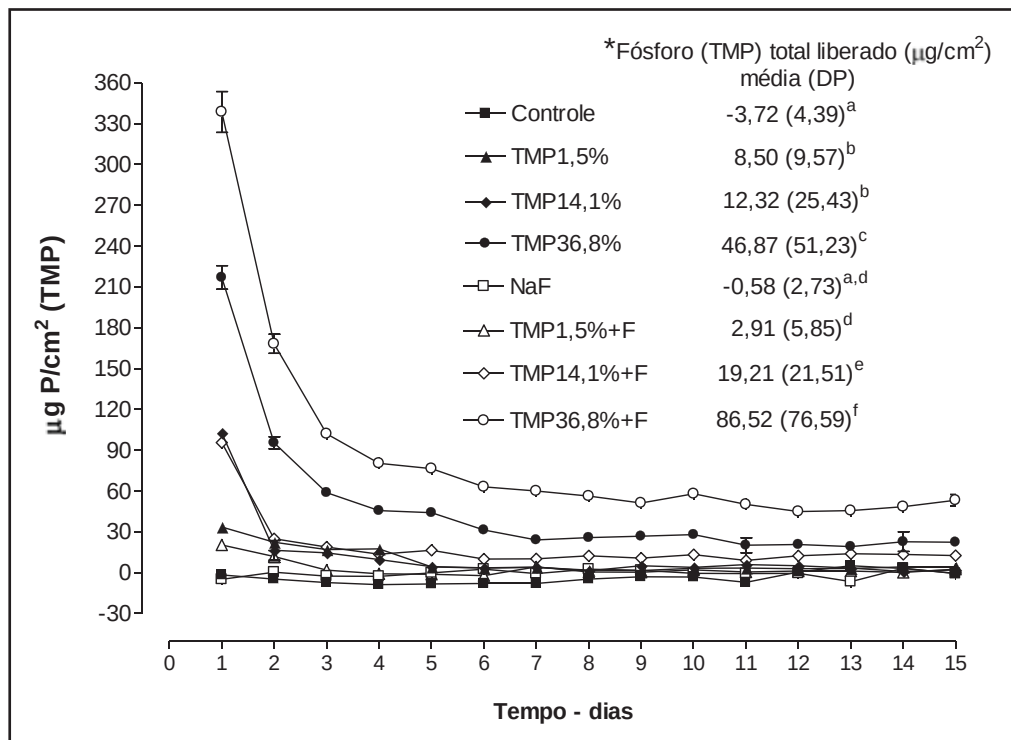


Fig. 3 – Valores médios de fósforo (TMP) liberado nas soluções DES e RE em função do tempo (15 dias). Barras verticais mostram o erro padrão da média. *Valores médios (DP) de fósforo (TMP) total liberado nas soluções DES e RE durante 15 dias. Letras distintas mostram diferença estatística entre os grupos (Tukey, $p < 0,0001$).

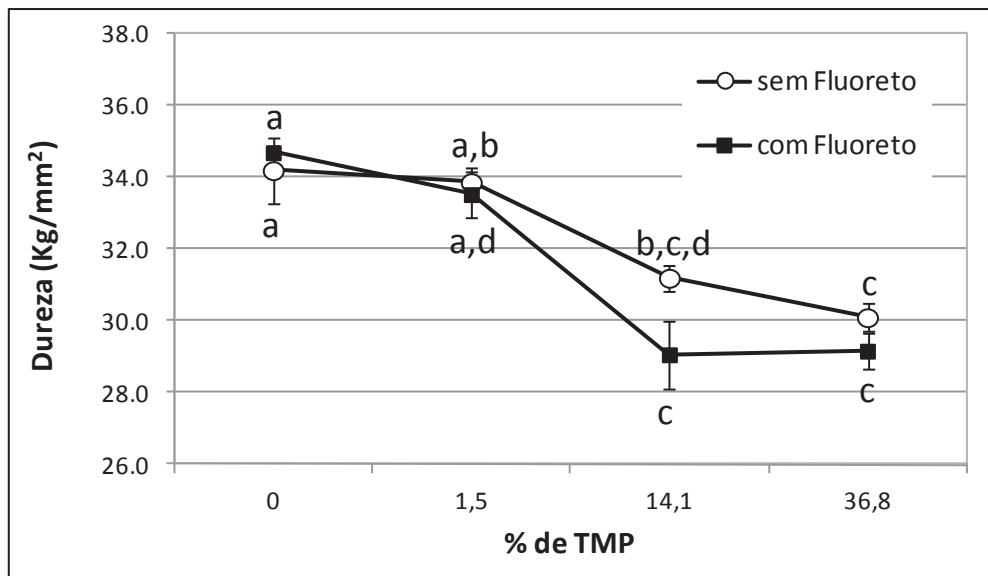


Fig. 4 – Valores médios (EP) de dureza de superfície dos materiais (n = 6). Letras distintas mostram diferença estatística entre os grupos (Tukey, $p < 0,0001$).

Capítulo 2

*Avaliação in vitro da capacidade de resinas compostas
contendo trimetafosfato de sódio associado ou não ao
fluoreto em promover a remineralização*

Avaliação *In Vitro* da Capacidade de Resinas Compostas Contendo Trimetafosfato de Sódio Associado ou não ao Fluoreto em Promover a Remineralização.*

Relevância clínica

A associação de dois ativos com ação no esmalte favorece a remineralização sugerindo que formulações de resina com esta composição possam ser utilizadas em procedimentos clínicos onde há um maior desafio cariogênico.

RESUMO

O objetivo deste estudo *in vitro* foi verificar a capacidade de resinas compostas contendo trimetafosfato de sódio (TMP) associado ou não ao fluoreto (F) em promover a remineralização do esmalte. Foram selecionados 60 blocos de esmalte de incisivos bovinos (4x3x3 mm), pelo teste de dureza de superfície inicial. Lesão de cárie artificial foi induzida nos blocos e após determinou-se a dureza de superfície pós-desmineralização. Corpos-de-prova (n = 12) foram confeccionados para cada resina composta analisada: sem TMP e fluoreto de sódio; sem TMP e com fluoreto de sódio a 1,6%; TMP 14,1% com ou sem fluoreto de sódio a 1,6%. Após serem adaptados aos blocos, foram submetidos às ciclagens de pH. A seguir, analisou-se a dureza de superfície e em secção longitudinal e a concentração de F no esmalte. Testes paramétricos e não paramétricos foram realizados, após a verificação da homocedasticidade dos dados ($p < 0,05$). A presença de F no esmalte foi diferente entre as resinas fluoretadas ($p < 0,05$), porém maior que os demais grupos ($p < 0,05$). A associação TMP 14,1% e F aumentou a remineralização com maior intensidade na região profunda da lesão ($p < 0,05$). Concluiu-se que a resina contendo trimetafosfato de sódio associado ao fluoreto apresentou capacidade remineralizadora.

*Normalização segundo a revista *Operative Dentistry* (Anexo C)

INTRODUÇÃO

Diante de novos materiais introduzidos na prática odontológica é importante não só analisar sua propriedade anticárie como também a capacidade em promover a remineralização de lesões iniciais no esmalte. Os benefícios e efeitos do fluoreto sobre a dentição humana têm levado sua incorporação em materiais restauradores, o qual tem elevado o efeito anticariogênico destes sobre os materiais não fluoretados.¹ A liberação de fluoreto (F) no meio bucal favorece a remineralização de lesões de cáries *in situ*,² uma vez que o fluoreto é incorporado no esmalte e na dentina adjacente às resinas compostas fluoretadas.³ Como as resinas apresentam reduzida capacidade de liberação de fluoreto^{4,5} devem-se propor modificações ou associações que possam contribuir para o seu melhor desempenho.

O uso de fosfatos inorgânicos tem mostrado aumentar o potencial anticárie ou anti-erosivo do fluoreto.⁶⁻⁹ Os sais de fosfato demonstraram superior efeito anticárie em vários estudos.^{10,11} O trimetafosfato de sódio (TMP), um fosfato cíclico condensado, apresentou maior potencial cariostático¹² e sua associação em dentifrícios e enxaguatórios bucais⁶⁻⁸ demonstrou efeito em reduzir a perda mineral. Em estudo *in vitro* foi adicionado a uma resina composta diferentes concentrações de TMP observando um melhor efeito anticárie com uma quantidade de 14,1% associado ao fluoreto*. Estes resultados estiveram relacionados a uma maior capacidade do material em liberar F e TMP com pouca alteração na dureza da resina.

Uma vez que uma nova composição de resina foi desenvolvida há necessidade de avaliar se a associação TMP e F ativaria o processo de remineralização do esmalte dentário. Portanto, diante da ausência de estudos na literatura considerou-se importante

*Tiveron ARF. Efeito do trimetafosfato de sódio (TMP) associado ou não ao fluoreto (F) em resinas compostas na desmineralização do esmalte, na dureza e liberação de F e TMP. 2011. Cap. 1.

verificar *in vitro* a capacidade de resinas contendo TMP associado ou não ao F em promover a remineralização do esmalte.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparo e Seleção dos Blocos de Esmalte

Blocos de esmalte (4x4x3 mm) foram obtidos de incisivos bovinos e suas superfícies foram planificadas com as lixas de granulação 600 e 1200, carga de 4 libras, sob refrigeração a água e polidas com feltro (Polishing Cloth Buehler 40-7618, Buehler, Lake Bluff, IL, USA) e suspensão de diamante (Metadi Monocrystalline Diamond Suspension, 1 micron, Blue Color Polish Spray, Water Base 40-6530 – Buehler, Lake Bluff, IL, USA) com carga de 4 libras. O desgaste resultou na remoção de aproximadamente 120 μm em profundidade do esmalte. Após o polimento, secções transversais foram realizadas a uma distância de 1 mm da borda do bloco, em cortadeira sob refrigeração a água deionizada, obtendo-se blocos com 4x3x3 mm. Teste de dureza de superfície inicial (DS_1) foi realizado para seleção de blocos de esmalte que apresentassem valores dureza entre 320 a 380 Kg/mm^2 , utilizando o microdurômetro Shimadzu Micro Hardness Tester HMV-2.000, com penetrador tipo Knoop, carga estática de 25 gramas e tempo de 10 segundos.¹³ Foram realizadas 5 impressões no esmalte separadas entre si por uma distância de 100 μm , a uma distância de 300 μm da borda seccionada¹⁴ (Anexo E).

Indução de Cárie Artificial

A superfície de cada bloco selecionado para o estudo, exceto esmalte, foi isolada com uma fina camada de esmalte cosmético de unha (Risqué Esmaltes, Niasi Indústria de Cosméticos, Taboão da Serra, SP, Brazil). Lesões artificiais de cárie foram produzidas através da imersão em solução contendo 1,3 mmol/L Ca, 0,78 mmol/L P em tampão

acetato 0,05 mol/L, em pH 5,0; 0,05 ppm F (2 mL/mm²), por um período de 16 horas, a uma temperatura de 37°C.¹⁵ Os blocos foram submetidos à dureza de superfície pós-desmineralização (DS₂), sendo realizadas 5 impressões entre as 5 iniciais (DS₁) à distância de 300 µm da borda seccionada, com carga estática de 25 gramas e tempo de 10 segundos (Anexo K).

Preparo dos Corpos-de-Prova

Foram confeccionados 12 corpos-de-prova (3x2x1 mm) para cada resina composta fluida experimental de média viscosidade (FGM Produtos Odontológicos LTDA, Joinville, SC, Brasil) analisada: sem TMP e fluoreto de sódio (controle); sem TMP e com fluoreto de sódio a 1,6% (NaF); com 14,1% de TMP com ou sem fluoreto de sódio a 1,6% (Anexo K). As resinas possuem na composição 65,4% de carga constituída de: pó de vidro de Bário, alumino silicato, sílica pirogênica e TMP. A fotopolimerização foi realizada com auxílio de aparelho fotopolimerizador VIP (Bisco, Schaumburg, IL, USA), por período de 40 segundos, com intensidade de 500 mW/cm², nas superfícies superior e inferior¹⁶.

Ciclagem de pH e Análise de Dureza de Superfície

Os corpos-de-prova de cada material foram justapostos às bordas seccionadas dos 48 blocos de esmalte e fixados com auxílio de cera pegajosa (Anexo K).¹⁴ Os conjuntos blocos/corpos-de-prova foram submetidos individualmente a 6 ciclagens de pH,^{14,17} a uma temperatura de 37°C, sendo imersos na solução de remineralização - RE (1,5 mmol/L Ca, 0,9 mmol/L P, 0,15 mol/L KCl em tampão cacodilato 0,02 mol/L, 0,04 ppm F, em pH 7,0; 4 mL por bloco), a qual foi trocada 2 vezes ao dia (8 e 16 horas). Os desafios cariogênicos foram realizados com a solução de desmineralização - DES (2,0 mmol/L Ca e P em tampão acetato 0,075 mol/L, 0,03 ppm F, em pH 4,7; 12 mL para cada bloco) durante 2 horas (12

às 14 horas) (Anexo K). Os blocos foram lavados com jatos de água deionizada por 30 segundos, após remoção das soluções DES/RE, que foram trocadas diariamente. Concluídas as 6 ciclagens de pH, os materiais unidos aos blocos de esmalte foram removidos e submetidos ao teste de dureza de superfície final (DS₃). Foram realizadas 5 impressões, a 300 µm da borda seccionada, entre os testes iniciais (DS₁) e pós-desmineralização (DS₂), separadas entre si por uma distância de 100 µm (Anexo K). Estes dados foram utilizados para calcular a porcentagem de recuperação da dureza de superfície ($\%DS = [(DS_3 - DS_2) / (DS_1 - DS_2)] \times 100$).

Avaliação da Dureza em Secção Longitudinal do Esmalte (DSL)

Após a análise de dureza de superfície, 12 blocos que foram submetidos a dureza de superfície pós-desmineralização (DS₂) e todos os blocos do experimento foram seccionados longitudinalmente. Metade de cada bloco (2x3x3 mm) foi incluída em resina acrílica (Buehler Transoptic Powder, Lake Bluff, IL, USA) e a superfície cortada foi exposta e polida (Anexo L). Para o teste de dureza foi utilizado o microdurômetro Micromet 5114 hardness tester (Buehler, Lake Bluff, IL, USA e Mitutoyo Corporation, Kanagawa, Japan) e o software Buehler OmniMet (Buehler, Lake Bluff, IL, USA), carga de 5 gramas por 10 segundos em aumento de 1000 vezes. A 300 µm da borda que permaneceu em contato com o material, foram realizadas, em cada bloco, 13 impressões nas profundidades de: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 70, 90, 110, 220 e 330 µm (Anexo L). A área integrada da dureza (KHN x µm) da lesão até o esmalte hígido foi calculada utilizando a regra trapezoidal (GraphPad Prism, versão 3.02) e subtraída da área integrada da dureza do esmalte hígido obtendo a recuperação integrada da dureza de subsuperfície (ΔKHN).⁶ O perfil de dureza diferencial para os grupos (i.e. os valores de dureza em profundidade das resinas menos os valores do esmalte após indução de cárie artificial) foi

calculado. A área integrada (IDSL) do perfil diferencial foi determinada em 3 regiões em profundidade na lesão definindo os valores de Δ IDSL.

Análise da Concentração de Fluoreto Presente no Esmalte

As outras metades dos blocos foram novamente seccionadas para obtenção de um bloco 2x1x3 mm e submetidas ao procedimento de microabrasão utilizando lixa auto-adesiva (granulação 400, Silicon-Carbide, Buehler, Lake Bluff, IL, USA) em frasco de poliestireno cristal (J-10, Injeplast, São Paulo, SP, Brasil), baseado no trabalho de Alves et al.¹⁸ (Anexo J). Após a remoção de uma camada de 50 μ m de esmalte de cada bloco foi acrescentado 0,5 mL de HCl 1,0 mol/L no interior dos frascos. Estes foram mantidos sob agitação constante por 1 hora em mesa agitadora (TE-420 Orbital, Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil), seguido da adição de 0,5 mL de NaOH 1,0 mol/L. Para análise de fluoreto foi utilizado eletrodo específico Orion 9409-BN (Orion Research, Inc., Beverly, MA, USA), previamente calibrado com soluções padrão (0,04 a 0,64 μ g F/mL), e microeletrodo de referência, acoplados a um analisador de íons Orion 720 A (Orion Research, Inc., Beverly, MA, USA) (Anexo L). Para determinação do fluoreto uma alíquota de 0,04 mL da amostra foi tamponada com 0,04 mL de TISAB II (“tampão ajustador de força iônica total”). Os valores foram expressos em μ g F/mm³.

Análise Estatística

Os resultados foram analisados estatisticamente considerando como fator de variação os materiais, e as variáveis, as análises de dureza (DS₃, %DS, Δ KHN e Δ IDSL) e concentração de fluoreto (μ g F/mm³) presente no esmalte. Os valores de DS₃ e Δ KHN apresentaram distribuição normal (Kolmogorov–Smirnov) e homocedasticidade (Teste de

Cochran), como também os resultados de F no esmalte, após transformação logarítmica. Estas variáveis foram submetidas à análise de variância (1-way ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni ($p < 0,05$). Os dados da %DS e Δ IDSL mostraram distribuição heterogênea e foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis seguidos pelo teste de múltipla comparação de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$). O programa Bio Stat 5.0 foi utilizado com limite de significância de 5%.

RESULTADOS

O valor médio (DP) da DS_1 para todos os blocos foi 355,2 (11,9) kg/mm^2 e não houve diferença significativa entre eles ($p = 0,389$). Após indução da lesão de cárie artificial, o valor médio (DP) da DS_2 para todos os blocos foi 60,7 (25,3) sem diferença entre os grupos ($p = 0,295$). Os valores dos grupos com fluoreto (Tabela 1) apresentaram uma menor perda mineral (DS_3 e %DS) em relação aos demais grupos ($p < 0,001$). Com relação à recuperação integrada da dureza de subsuperfície, o grupo TMP 14,1%+F apresentou menor valor de Δ KHN ($p < 0,001$). As resinas que contêm fluoreto em sua composição apresentaram maior concentração de fluoreto no esmalte em relação aos demais grupos ($p < 0,001$), sendo que a resina composta contendo TMP 14,1%+F promoveu maior valor estatisticamente significativo.

O perfil da dureza diferencial em secção longitudinal evidenciou diferença quando os grupos com TMP, com ou sem fluoreto, foram comparados (Figura 1). Valores de dureza positivos foram maiores na parte superficial da lesão (região A, 5 – 20 μm). Na ausência de fluoreto valores negativos foram observados em profundidade na lesão (região B, 25 – 50 μm). Na região C, observou valores positivos para os grupos TMP 14,1%+F, controle e Na F.

As diferenças entre as resinas em todas as regiões (Figura 1) estudadas foram expressas como valores de ΔIDSL (Tabela 2). A presença de TMP nas resinas (sem ou com F) não aumentou a remineralização do esmalte em comparação ao grupo controle e NaF, respectivamente, considerando as regiões A e B. O grupo TMP 14,1%+F apresentou maior ganho mineral na região C ($p < 0,001$). Os grupos controle e NaF apresentaram valores similares na região C ($p = 0,827$).

DISCUSSÃO

Poucos trabalhos estudam a capacidade de resinas compostas em promover a remineralização devido à baixa liberação de fluoreto. Baseado em um estudo de desmineralização *in vitro* observou-se que é possível melhorar a disponibilização de F para o meio e reduzir a perda mineral, a partir de uma resina, com a adição de TMP*. Utilizando o método descrito por Rodrigues et al.¹⁴ e a proporção molar TMP: F de 2,5: 1 sugerida por Tiveron* verificou-se uma melhora da resina em promover a remineralização da lesão de cárie artificial.

Considerando os dados da área da lesão (ΔKHN) e fluoreto presente no esmalte (Tabela 1) a associação TMP e F parece estabelecer que o melhor efeito está relacionado a maior presença de fluoreto no esmalte. Analisando os resultados de DS_3 e %DS observa-se que a capacidade remineralizadora não foi influenciada pela presença do TMP. Estes dados confirmam a literatura que mostra que o fluoreto apresenta uma ação mais superficial no esmalte do que em profundidade.¹⁹ O fluoreto remineraliza áreas de esmalte superficial desmineralizado mais rápido que as áreas profundas, sugerindo uma parcial remineralização do corpo da lesão.²⁰ No presente estudo, o fluoreto favoreceu a remineralização na região mais superficial da lesão (5 – 50 μm). Porém, quando não associado ao TMP, apresentou a mesma capacidade que o grupo controle entre 50 a 110

*Tiveron ARF. *Efeito do trimetafosfato de sódio (TMP) associado ou não ao fluoreto (F) em resinas compostas na desmineralização do esmalte, na dureza e liberação de F e TMP*. 2011. Cap. 1.

µm (Tabela 2). Ao analisar o processo de remineralização através da lesão (Figura 1) observa-se um perfil de dureza diferencial diferente determinado pela presença do TMP na resina. O TMP é adsorvido ao esmalte alterando sua permeabilidade seletiva, reduzindo ou facilitando a difusão de íons entre a solução e o esmalte.^{19,21} De acordo com Gonzalez,¹⁰ seu acúmulo na superfície mineral não afetaria o mecanismo de deposição dos íons cálcio e fluoreto, além de agir sobre a deposição de fosfato de cálcio. O presente estudo mostrou que o TMP afetou o processo de remineralização do esmalte e seu modo de ação foi relacionado à maior mineralização da lesão em profundidade no esmalte. Semelhante ao observado no estudo de Takeshita et al.,⁷ o TMP associado ao fluoreto apresenta uma ação mais profunda (50 – 110 µm) na área da lesão (Tabela 2). A facilitação de um fluxo de cálcio para as camadas mais profundas do esmalte e a diminuição da difusão de ácidos no interior do esmalte explicaria o efeito do TMP na área da lesão.⁷ Apesar de apresentar uma menor capacidade de ligação com a hidroxiapatita que os polifosfatos,²² o TMP permanece ligado ao esmalte por um período maior de tempo²³ o que favorece o transporte de íons para o interior da lesão.^{21,24} Isto pode explicar uma maior presença de fluoreto observado no grupo TMP14,1%+F (Tabela 1).

Os achados do estudo confirmam o potencial do TMP como um agente remineralizador na presença de fluoreto. O perfil de dureza em secção longitudinal do esmalte sugere um modo de ação diferente ou sítio de ação em profundidade no esmalte. Isto pode ajudar a propor novas formulações, modificações ou associações de agentes de prevenção de cárie duplos ativos que possam contribuir para o melhor desempenho de materiais restauradores.

CONCLUSÃO

Nas condições deste estudo, concluiu-se que a resina contendo trimetafosfato de sódio associado ao fluoreto apresentou capacidade remineralizadora.

Agradecimentos

Os autores agradecem a FGM Produtos Odontológicos LTDA pela manufatura das resinas utilizadas na pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Baliga MS & Bhat SS (2010) Effect of fluorides from various restorative materials on remineralization of adjacent tooth: an in vitro study *Journal of the Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry* **28(2)** 84-90.
2. Cain BE, Corpron RE, Fee CL, Strachan DS & Kowalski CJ (1994) Dose related remineralization using fluoride-releasing devices in situ *Caries Research* **28(4)** 284-290.
3. Tantbirojn D, Retief DH & Russell CM (1992) Enamel, cementum and dentin fluoride uptake from a fluoride-releasing resin composite *American Journal of Dentistry* **5(4)** 226-232.
4. Glasspoole EA, Erickson RL & Davidson CL (2001) A fluoride-releasing composite for dental applications *Dental Materials* **17(2)** 127-133.
5. Moreau JL & Xu HHK (2010) Fluoride releasing restorative materials: effect of pH on mechanical properties and ion release *Dental Materials* **26(11)** e227-235.
6. Takeshita EM, Castro LP, Sasaki KT & Delbem ACB (2009) *In vitro*

- evaluation of dentifrice with low fluoride content supplemented with trimetaphosphate *Caries Research* **43(1)** 50-56.
7. Takeshita EM, Exterkate RAM, Delbem ACB & ten Cate JM (2011) Evaluation of different fluoride concentrations supplemented with trimetaphosphate on enamel De- and Remineralization in vitro *Caries Research* **45(5)** 494-497.
 8. Manarelli MM, Vieira AEM, Matheus AA, Sasaki KT & Delbem ACB (2011) Effect of mouth-rinses with fluoride and trimetaphosphate on enamel erosion. An *in vitro* study *Caries Research* **45(6)** 506-509.
 9. Moretto MJ, Magalhães AC, Sasaki KT, Delbem ACB & Martinhon CC (2010) Effect of different fluoride concentrations of experimental dentifrices on enamel erosion and abrasion *Caries Research* **44(2)** 135-140.
 10. Gonzalez M (1971) Effect of trimetaphosphate ions on the process of mineralization *Journal of Dental Research* **50** 1056-1064.
 11. Städtler P, Müller-Bruckschwaiger K, Schäfer F & Huntington E (1996) The effect of sodium trimetaphosphate on caries: a 3-year clinical toothpaste trial *Caries Research* **30(6)** 418-422.
 12. Harris RS, Nizel AE & Walsh BN (1967) The effect of phosphate structure on dental caries development in rats *Journal of Dental Research* **46(1)** 290-294.
 13. Argenta RMO, Tabchoury CPM & Cury JA (2003) A modified pH-cycling model to evaluate fluoride effect on enamel demineralization *Pesquisa Odontológica Brasileira* **17(3)** 241-246.
 14. Rodrigues E, Delbem ACB, Pedrini D & Cavassan L (2010) Enamel remineralization by fluoride-releasing materials: proposal of a pH-cycling

- model *Brazilian Dental Journal* **21(5)** 446-451.
15. Queiroz CS, Hara AT, Leme FP & Cury JA (2008) pH-cycling models to evaluate the effect of low fluoride dentifrice on enamel de- and remineralization *Brazilian Dental Journal* **19(1)** 21-27.
 16. Silva KG, Pedrini D, Delbem ACB & Cannon M (2007) Effect of pH variations in a cycling model on the properties of restorative materials *Operative Dentistry* **32(4)** 328-335.
 17. Vieira AEM, Delbem ACB, Sasaki KT, Rodrigues E, Cunha RF & Cury JA (2005) Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel *Caries Research* **39(6)** 514-520.
 18. Alves KMRP, Pessan JP, Brighenti FL, Franco KS, Oliveira FAL, Buzalaf MAR, Sasaki KT & Delbem ACB (2007) *In vitro* evaluation of the effectiveness of acidic fluoride dentifrices *Caries Research* **41(4)** 263-267.
 19. van Dijk JW, Borggreven JM & Driessens FC (1980) The effect of some phosphates and a phosphonate on the electrochemical properties of bovine enamel *Archives of Oral Biology* **25(8-9)** 591-595.
 20. Cury JA & Tenuta LM (2009) Enamel remineralization: controlling the caries disease on treating early caries lesions? *Brazilian Oral Research* **23(suppl 1)** 23-30.
 21. Tung MS & Brown WE (1983) Characterization and modification of electrochemical properties of teeth *Journal of Dental Research* **62(1)** 60-64.
 22. Barbour ME, Shellis RP, Parker DM, Allen GC & Addy M (2005) An investigation of some food-approved polymers as agents to inhibit hydroxyapatite dissolution *European Journal of Oral Sciences* **113(6)** 457-461.

23. McGaughey C & Stowell EC (1977) Effects of polyphosphates on the solubility and mineralization of HA: relevance to a rationale for anticaries activity *Journal of Dental Research* **56(6)** 579-587.
24. Ingram GS & Edgar WM (1994) Interactions of fluoride and non-fluoride agents with the caries process *Advances in Dental Research* **8(2)** 158-165.

Tabela 1: Valores médios (DP) obtidos das análises nos blocos de esmalte (n = 12) após a ciclagem de pH de acordo com os grupos

Grupos	Análises			
	DS ₃	%DS	ΔKHN	F (μg/mm ³)
Controle	103,0 (24,3) ^{a*}	17,6 (3,5) ^a	8167,7 (1244,6) ^a	0,76 (0,17) ^a
TMP14,1%	111,1 (21,6) ^a	16,3 (4,6) ^a	8897,5 (1744,4) ^a	0,70 (0,20) ^a
NaF	170,0 (23,5) ^b	36,1 (6,0) ^b	5231,4 (975,0) ^b	1,28 (0,20) ^b
TMP14,1%+F	162,6 (39,1) ^b	33,8 (2,5) ^b	3310,0 (1238,1) ^c	1,61 (0,42) ^c

*Letras distintas mostram diferença entre os grupos (DS₃, ΔKHN e F: Bonferroni, p < 0,05. %DS: Student-Newman-Keuls, p < 0,05).

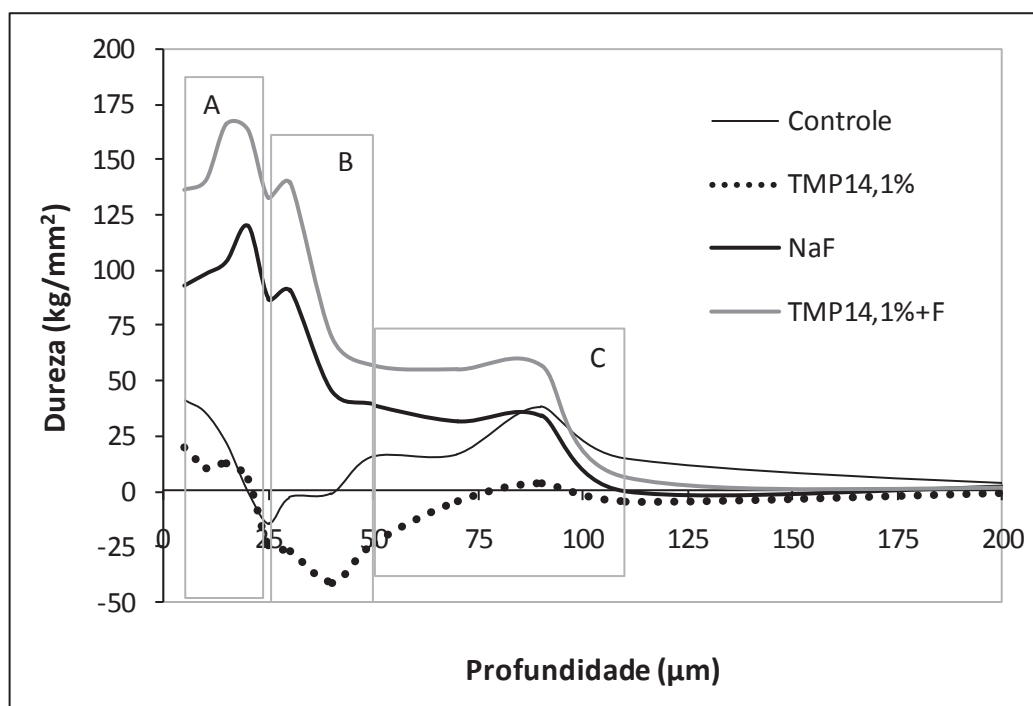


Figura 1. Perfil da dureza diferencial (dureza x profundidade) calculado pela subtração dos perfis dos grupos com TMP dos grupos sem TMP ou F. Valores positivos indicam dureza maior em função da profundidade.

Tabela 2: Valores de Δ IDS_L calculado para 3 regiões da lesão no esmalte de acordo com os grupos

Grupos	Δ IDS _L ¹ , Dureza x μ m		
	região A (5 – 20 μ m)	região B (25 – 50 μ m)	região C (50 – 110 μ m)
Controle	351,5 (207,9) ^{a*}	61,7 (543,0) ^a	391,7 (407,4) ^a
TMP14,1%	129,4 (544,5) ^a	-535,0 (893,4) ^a	-90,6 (531,0) ^b
NaF	2062,8 (692,1) ^b	1,174,9 (393,4) ^b	430,9 (200,9) ^a
TMP14,1%+F	3027,4 (804,1) ^b	1798,2 (514,8) ^b	738,9 (212,6) ^c

¹ Δ IDS_L: Estes valores foram calculados utilizando a área integrada do perfil diferencial da dureza dos respectivos grupos com área desmineralizada em relação a profundidade de cada região. Valores positivos indicam dureza integrada maior e vice-versa. Valores denotam as médias com o desvio-padrão em parênteses.

*Letras distintas indicam diferença estatística significativa entre os grupos (Student-Newman-Keuls, $p < 0.0001$).

Anexos

Anexo A

Referências bibliográficas – Introdução geral

- [1] Tyas MJ. Placement and replacement of restorations by selected practitioners. Aust Dent J 2005;50:81-9.
- [2] Preston AJ, Mair LH, Agalamanyi EA, Higham SM. Fluoride release from aesthetic dental materials. J Oral Rehabil 1999;26:123-9.
- [3] Glasspoole EA, Erickson RL, Davidson CL. A fluoride-releasing composite for dental applications. Dent Mater 2001;17:127-33.
- [4] Itota T, Al-Naimi OT, Carrick TE, Yoshiyama M, McCabe JF. Fluoride release from aged resin composites containing fluoridated glass filler. Dent Mater 2005;21:1033-8.
- [5] Moreau JL, Xu HHK. Fluoride releasing restorative materials: effects of pH on mechanical properties and ion release. Dent Mater 2010;26:e227-35.
- [6] Yap AUJ, Tham SY, Zhu LY, Lee HK. Short-term fluoride release from various aesthetic restorative materials. Oper Dent 2002;27:259-65.
- [7] Nizel AE, Harris RS. The effects of phosphates on experimental dental caries: a literature review. J Dent Res 1964;43:1123-36.
- [8] Harris RS, Nizel AE, Walsh BN. The effect of phosphate structure on dental caries development in rats. J Dent Res 1967;46:290-4.
- [9] Gonzalez M. Effect of trimetaphosphate ions on the process of mineralization. J Dent Res 1971;50:1056-64.

- [10] Gonzalez M, Jeansonne BG, Feagin FF. Trimetaphosphate and fluoride actions on mineralization at the enamel-solution interface. *J Dent Res* 1973;52:261-6.
- [11] Städtler P, Müller-Bruckschwaiger K, Schäfer F, Huntington E. The effect of sodium trimetaphosphate on caries: a 3-year clinical toothpaste trial. *Caries Res* 1996;30:418-22.
- [12] Henry CA, Navia JM. Sodium trimetaphosphate influence on the early development of rat caries and concurrent microbial changes. *Caries Res* 1969;3:326-38.
- [13] Finn SB, Frew RA, Leibowitz R, Morse W, Manson-Hing L, Brunelle J. The effect of sodium trimetaphosphate (TMP) as a chewing gum additive on caries increments in children. *J Am Dent Assoc* 1978;96:651-5.
- [14] Vogel GL, Zhang Z, Carey CM, Ly A, Chow LC, Proskin HM. Composition of plaque and saliva following use of an α -tricalcium-phosphate-containing chewing gum and a subsequent challenge. *J Dent Res* 2000;79:58-62.
- [15] Takeshita EM, Castro LP, Sasaki KT, Delbem AC. *In vitro* evaluation of dentifrice with low fluoride content supplemented with trimetaphosphate. *Caries Res* 2009;43:50-6.
- [16] Takeshita EM, Exterkate RAM, Delbem ACB, ten Cate JM. Evaluation of different fluoride concentrations supplemented with trimetaphosphate on enamel De- and Remineralization in vitro. *Caries Res* 2011;45:494-7.
- [17] Manarelli MM, Vieira AEM, Matheus AA, Sasaki KT, Delbem ACB. Effect of mouth-rinses with fluoride and trimetaphosphate on enamel erosion: an in vitro study. *Caries Res* 2011;45:506-9.
- [18] Barbour ME, Shellis RP, Parker DM, Allen GC, Addy M. An investigation of

some food-approved polymers as agents to inhibit hydroxyapatite dissolution.

Eur J Oral Sci 2005;113:457-61.

- [19] Barbour ME, Shellis RP, Parker DM, Allen GC, Addy M. Inhibition of hydroxyapatite dissolution by whole casein: the effects of pH, protein concentration, calcium, and ionic strength. Eur J Oral Sci 2008;116:473-8.
- [20] McGaughey C, Stowell EC. Effects of polyphosphates on the solubility and mineralization of HA: relevance to a rationale for anticaries activity. J Dent Res 1977; 56:579-87.
- [21] Anbar M, Farley EP, Denson DD, Maloney KR. Localized fluoride release from fluorine-carrying polyphosphonates. J Dent Res 1979;58:1134-45.

Anexo B

Normalização: Revista Dental Materials *Capítulo 1*

DENTAL MATERIALS

Guide for Authors

Authors are requested to submit their original manuscript and figures via the online submission and editorial system for Dental Materials. Using this online system, authors may submit manuscripts and track their progress through the system to publication. Reviewers can download manuscripts and submit their opinions to the editor. Editors can manage the whole submission/review/revise/publish process. Please register at: <http://ees.elsevier.com/dema>.

Dental Materials now only accepts online submissions. The Artwork Quality Control Tool is now available to users of the online submission system. To help authors submit high-quality artwork early in the process, this tool checks the submitted artwork and other file types against the artwork requirements outlined in the Artwork Instructions to Authors on www.elsevier.com/artworkinstructions. The Artwork Quality Control Tool automatically checks all artwork files when they are first uploaded. Each figure/file is checked only once, so further along in the process only new uploaded files will be checked.

Manuscripts

The journal is principally for publication of **Original Research Reports**, which should preferably investigate a defined hypothesis. Maximum length 6 journal pages (approximately 20 double-spaced typescript pages) including illustrations and tables.

Systematic Reviews will however be considered. Intending authors should communicate with the Editor beforehand, *by email*, outlining the proposed scope of the review. Maximum length 10 journal pages (approximately 33 double-spaced typescript pages) including figures and tables.

Three copies of the manuscript should be submitted: each accompanied by a set of illustrations. The requirements for submission are in accordance with the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals", *Annals of Internal Medicine*, 1977,126, 36-47. All manuscripts must be written in American English. Authors are urged to write as concisely as possible.

The Editor and Publisher reserve the right to make minimal literary corrections for the sake of clarity. Authors for whom English is not the first language should have their manuscripts read by colleagues fluent in English. If extensive English corrections are needed, authors may be charged for the cost of editing. For additional reference, consult issues of *Dental Materials* published after January 1999 or the Council of Biology Editors Style Manual (1995 ed.).

All manuscripts should be accompanied by a **letter of transmittal**, signed by each author, and stating that the manuscript is not concurrently under consideration for publication in another journal, that all of the named authors were involved in the work leading to the publication of the paper, and that all the named authors have read the paper before it is submitted for publication.

Always keep a backup copy of the electronic file for reference and safety.

Manuscripts not conforming to the journal style will be returned. In addition, manuscripts which are not written in fluent English will be rejected automatically without refereeing.

Format

General

- number all pages consecutively.
- type double-spaced on A4 or 8.5 x 11-inch bond paper, with margins of 30 mm.
- double-space references.
- indent or space paragraphs.
- arrange article in the following order: Title, Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusion, Acknowledgements, References, Tables, Figures, Captions.
- start each section on a separate page.

Title page

- Title (capitalize the first letter of the first word) e.g. Comparison of the color stability of ten new composites.
- Authors (first name, middle initial, surname) e.g. Kenneth J. Anusavice 1, Victoria Marker 2
- Authors' addresses (abbreviated) e.g.

1 Department of Biomaterials, University of Florida, Gainesville, Florida, USA

2 Department of Biomaterials Science, Baylor College of Dentistry, Dallas, Texas, USA

- Short Title (45 characters) e.g. Color stability of composites
- **Corresponding Author details (essential): Name, complete address, phone, fax, and E-mail numbers**

Abstract (structured format)

- 250 words or less.
- subheadings should appear in the text of the abstract as follows: Objectives, Methods, Results, Significance. (For Systematic Reviews: Objectives, Data, Sources, Study selection, Conclusions). The Results section may incorporate small tabulations of data, normally 3 rows maximum.

Keywords

Up to 10 keywords should be supplied e.g. dental material, composite resin, adhesion.

Introduction

This must be presented in a structured format, covering the following subjects, although actual subheadings should not be included:

- succinct statements of the issue in question;
- the essence of existing knowledge and understanding pertinent to the issue (reference);
- the aims and objectives of the research being reported relating the research to dentistry, where not obvious.

Materials and methods

- describe the procedures and analytical techniques.
- only cite references to published methods.
- include at least general composition details and batch numbers for all materials.
- identify names and sources of all commercial products e.g. "The composite (Silar, 3M Co., St. Paul, MN, USA)..." "... an Au-Pd alloy (Estheticor Opal, Cendres et Metaux, Switzerland)."
- specify statistical significance test methods.

Results

- refer to appropriate tables and figures.
- refrain from subjective comments.
- make no reference to previous literature.
- report statistical findings.

Discussion

- explain and interpret data.
- state implications of the results, relate to composition.
- indicate limitations of findings.
- relate to other relevant research.

- suggest directions for future research.

Conclusion (if included)

- must NOT repeat Results or Discussion
- must concisely state inference, significance, or consequences

Acknowledgements

As appropriate, e.g.:

"Based on a thesis submitted to the graduate faculty, University of Virginia, in partial fulfilment of the requirements for the M.S. degree."

"This investigation was supported in part by Research Grant DE 00000 from the National Institute of Dental Research, Bethesda, MD 20892."

References - must now be given **according to the following numeric system**: Cite references in text in numerical order. Use square brackets: in-line, not superscript e.g. [23]. All references must be listed at the end of the paper, double-spaced, without indents. For example:

1. Moulin P, Picard B and Degrange M. Water resistance of resin-bonded joints with time related to alloy surface treatments. J Dent, 1999; 27:79-87.
2. Taylor DF, Bayne SC, Sturdevant JR and Wilder AD. Comparison of direct and indirect methods for analyzing wear of posterior composite restorations. Dent Mater, 1989; 5:157-160.

Avoid referencing abstracts if possible. If unavoidable, reference as follows:

3. Demarest VA and Greener EH. Storage moduli and interaction parameters of experimental dental composites. J Dent Res, 1996; 67:221, Abstr. No. 868.

Tables and figures

All tables and figures must be thoroughly discussed in the text of the manuscript.

Tables

- one table to a page, each with a title.
- number tables in order of mention using Arabic numerals.
- must be able to "stand alone" apart from text.
- when appropriate, standard deviations of values should be indicated in parentheses; (do NOT use $\pm$ notation).
- results of statistical analysis must be included, use superscript letters to indicate significant differences.
- for explanatory footnotes, use symbols (*, #, **, ##).

Figures

- Do not import the figures into the text file but, instead, indicate their approximate locations directly in the electronic text. Images to be supplied separately in jpg, gif or other graphics file.

- only black and white photographs for print publication.
- omit titles and other information contained in the figure caption.
- maximum of 6 figures per manuscript.
- figures grouped together should have similar dimensions and be labelled "a, b, c", etc.
- place magnification markers directly on the micrographs.
- authors should consider that the majority of figures will be reduced to the width of a single column (approximately 85 mm). Preferably figures should exactly match, or be no more than 1.5 times that width.
- authors can indicate if they feel a figure should be full page width.

Dental Materials has been selected for inclusion in a new 'colourful e-products' workflow. Figures that appear in black and white in the printed version of the journal can be IN COLOUR, online, in ScienceDirect. Authors wishing to make use of this facility should ensure that 1. the artwork is in an acceptable format (TIFF, EPS or MS Office files) and at the correct resolution 2. RGB colourspace is used and 3. for colour online and black and white in print, both colour and black and white artwork (file and/or hardcopy) is provided. **There will be no charges to the authors for colour figures online.**

Graphs

- unique, concise axis labels; do not repeat the Figure caption.
- uniform size for graphs of similar type.
- type size that will be easily read when the graph is reduced to one column width.
- lines that are thick and solid (100% black).

Captions to tables and figures

- list together on a separate page.
- should be complete and understandable apart from the text.
- include key for symbols or abbreviations used in Figures.
- individual teeth should be identified using the FDI two-digit system.

General Notes on Text

Abbreviations and acronyms: terms and names to be referred to in the form of abbreviations or acronyms must be given in full when first mentioned.

Correct Usage

- use S.I. units (International System of Units). If non-SI units must be quoted, the SI equivalent must immediately follow in parentheses.
- use correct symbols for μ , L (as in μm , mL, etc.)
- put leading zeros in all numbers less than 1.0
- write out number of ten or fewer (ten rats) except when indicating inanimate quantities (10 mL)
- always use digits for dates, dimensions, degrees, doses, time, percentages, ratios, statistical results, measurements, culture cells, and teeth.

- the complete names of individual teeth must be given in the text.

General Policy

- receipt of manuscripts will be acknowledged.
- after initial review, authors will be notified of status.
- every effort is made to obtain timely reviews; please remember that the referees and the editor are volunteers.
- a list of revisions and responses to reviewers' critiques must accompany resubmitted revised manuscripts.

On Submission: Agreement, by the act of ticking a box, to the statement, "This paper has been compiled with the knowledge, input and approval of all the named authors."

On acceptance, authors will be required to sign a ***transfer of copyright agreement***. If figures, tables, or other excerpts, are included from copyrighted works the author is responsible for obtaining written permission from the copyright holder prior to submitting the final version of the paper. Full credit must be given to such sources.

Offprints and page charges: no page charges are levied on articles published in *Dental Materials*. Each corresponding author receives 25 offprints of their article free of charge after it has been published; they will also have the opportunity to order additional copies.

Submission Package Checklist:

- *letter of transmittal* signed by all authors.
- One electronic copy of the manuscript.
- One electronic copy of each image and table, all labelled.

For further guidance on electronic submission, please contact Author Services, Log-In Department, Elsevier Ltd, The Boulevard, Langford Lane, Kidlington, Oxford, OX5 1GB, UK. E-mail: authors@elsevier.co.uk, fax: +44 (0)1865 843905, tel: +44 (0)1865 843900.

Anexo C

Normalização: Revista Operative Dentistry
Capítulo 2

OPERATIVE DENTISTRY

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

New Instructions as of 20 September 2008

Operative Dentistry requires electronic submission of all manuscripts. All submissions must be sent to Operative Dentistry using the [Allen Track upload site](#). Your manuscript will only be considered officially submitted after it has been approved through our initial quality control check, and any problems have been fixed. You will have 6 days from when you start the process to submit and approve the manuscript. After the 6 day limit, if you have not finished the submission, your submission will be removed from the server. You are still able to submit the manuscript, but you must start from the beginning. Be prepared to submit the following manuscript files in your upload:

- A Laboratory or Clinical Research Manuscript file must include:
 - o A title
 - o a running (short) title
 - o a clinical relevance statement
 - o a concise summary (abstract)
 - o introduction, methods & materials, results, discussion and conclusion
 - o references (see below)
 - o The manuscript **MUST NOT** include any:
 - Identifying information such as:
 - Authors
 - Acknowledgements
 - Correspondence information
 - Figures
 - Graphs
 - Tables
- An acknowledgement, disclaimer and/or recognition of support (if applicable) must in a separate file and uploaded as supplemental material.
- All figures, illustrations, graphs and tables must also be provided as individual files. These should be high resolution images, which are used by the editor in the actual typesetting of your manuscript. Please refer to the instructions below for acceptable formats.
- All other manuscript types use this template, with the appropriate changes as listed below.

Complete the online form which includes complete author information and select the files you would like to send to Operative Dentistry. Manuscripts that do not meet our formatting and data requirements listed below will be sent back to the corresponding author for correction.

GENERAL INFORMATION

- All materials submitted for publication must be submitted exclusively to Operative Dentistry.
- The editor reserves the right to make literary corrections.
- Currently, color will be provided at no cost to the author if the editor deems it essential to the manuscript. However, we reserve the right to convert to gray scale if color does not contribute significantly to the quality and/or information content of the paper.
- The author(s) retain(s) the right to formally withdraw the paper from consideration and/or publication if they disagree with editorial decisions.
- International authors whose native language is not English must have their work reviewed by a native English speaker prior to submission.
- Spelling must conform to the American Heritage Dictionary of the English Language, and SI units for scientific measurement are preferred.
- While we do not currently have limitations on the length of manuscripts, we expect papers to be concise; Authors are also encouraged to be selective in their use of figures and tables, using only those that contribute significantly to the understanding of the research.
- Acknowledgement of receipt is sent automatically. If you do not receive such an acknowledgement, please contact us at editor@jopdent.org rather than resending your paper.
- **IMPORTANT:** Please add our e-mail address to your address book on your server to prevent transmission problems from spam and other filters. Also make sure that your server will accept larger file sizes. This is particularly important since we send page-proofs for review and correction as .pdf files.

REQUIREMENTS

• FOR ALL MANUSCRIPTS

1. **CORRESPONDING AUTHOR** must provide a WORKING / VALID e-mail address which will be used for all communication with the journal.
NOTE: Corresponding authors **MUST** update their profile if their e-mail or postal address changes. If we cannot contact authors within seven days, their manuscript will be removed from our publication queue.
2. **AUTHOR INFORMATION** must include:
 - Full name of all authors
 - complete mailing address **for each author**
 - degrees (e.g. DDS, DMD, PhD)
 - affiliation (e.g. Department of Dental Materials, School of Dentistry, University of Michigan)

3. **MENTION OF COMMERCIAL PRODUCTS/EQUIPMENT** must include:
 - Full name of product
 - full name of manufacturer
 - city, state and/or country of manufacturer
4. **MANUSCRIPTS AND TABLES** must be provided as Word files. Please limit size of tables to no more than one US letter sized page. (8 ½" x 11")
5. **ILLUSTRATIONS, GRAPHS AND FIGURES** must be provided as TIFF or JPEG files with the following parameters
 - line art (and tables that are submitted as a graphic) must be sized at approximately 5" x 7" and have a resolution of 1200 dpi.
 - gray scale/black & white figures must have a minimum size of 3.5" x 5", and a maximum size of 5" x 7" and a minimum resolution of 300 dpi and a maximum of 400 dpi.
 - color figures must have a minimum size of 2.5" x 3.5", and a maximum size of 3.5" x 5" and a minimum resolution of 300 dpi and a maximum of 400 dpi.
 - color photographs must be sized at approximately 3.5" x 5" and have a resolution of 300 dpi.

• OTHER MANUSCRIPT TYPES

1. **CLINICAL TECHNIQUE/CASE STUDY MANUSCRIPTS** must include:
 - arunning (short) title
 - purpose
 - description of technique
 - list of material sused
 - potential problems
 - summary of advantages and disadvantages
 - references (see below)
2. **LITERATURE AND BOOK REVIEW MANUSCRIPTS** must include:
 - A running (short) title
 - a clinical relevance statement based on the conclusions of the review
 - conclusions based on the literature review...without this, the review is just an exercise
 - references (see below)

• FOR REFERENCES

REFERENCES must be numbered (superscripted numbers) consecutively as they appear in the text and, where applicable, they should appear after punctuation.

The reference list should be arranged in numeric sequence at the end of the manuscript and should include:

1. Author(s) last name(s) and initial (ALL AUTHORS must be listed) followed by the date of publication in parentheses.
2. Full article title.
3. Full journal name in italics (no abbreviations), volume and issue numbers and first and last page numbers complete (i.e. 163-168 NOT attenuated 163-68).
4. Abstracts should be avoided when possible but, if used, must include the above plus the abstract number and page number.
5. Book chapters must include chapter title, book title in italics, editors' names (if appropriate), name of publisher and publishing address.
6. Websites may be used as references, but must include the date (day, month and year) accessed for the information.
7. Papers in the course of publication should only be entered in the references if they have been accepted for publication by a journal and then given in the standard manner with "In press" following the journal name.
8. **DO NOT** include unpublished data or personal communications in the reference list. Cite such references parenthetically in the text and include a date.

EXAMPLES OF REFERENCE STYLE

- Journal article: two authors

Evans DB & Neme AM (1999) Shear bond strength of composite resin and amalgam adhesive systems to dentin *American Journal of Dentistry* **12 (1)** 19-25.

- Journal article: multiple authors

Eick JD, Gwinnett AJ, Pashley DH & Robinson SJ (1997) Current concepts on adhesion to dentin *Critical Review of Oral and Biological Medicine* **8 (3)** 306-335.

- Journal article: specialissue/supplement

Van Meerbeek B, Vargas M, Inoue S, Yoshida Y, Peumans M, Lambrechts P & Vanherle G (2001) Adhesives and cements to promote preservation dentistry *Operative Dentistry* (**Supplement 6**) 119-144.

- Abstract:

Yoshida Y, Van Meerbeek B, Okazaki M, Shintani H & Suzuki K (2003) Comparative study on adhesive performance of functional monomers *Journal of Dental Research* **82 (Special Issue B)** Abstract #0051 p B-19.

- Corporate publication:

ISO-Standards (1997) ISO 4287 Geometrical Product Specifications Surface texture: Profile method – Terms, definitions and surface texture parameters *Geneve: International Organization for Standardization* **1st edition** 1-25.

- Book: single author

Mount GJ (1990) *An Atlas of Glass-ionomer Cements* Martin Duntz Ltd, London.

- Book: twoauthors

Nakabayashi N &Pashley DH (1998) *Hybridization of Dental Hard Tissues* Quintessence Publishing, Tokyo.

- Book: chapter

Hilton TJ (1996) Direct posterior composite restorations In: Schwarts RS, Summitt JB, Robbins JW (eds) *Fundamentals of Operative Dentistry* Quintessence, Chicago 207-228.

- Website: single author

Carlson L (2003) Web site evolution; Retrieved online July 23, 2003 from: <http://www.d.umn.edu/~lcarlson/cms/evolution.html>

- Website: corporate publication

National Association of Social Workers (2000) NASW Practice research survey 2000. NASW Practice Research Network, 1. 3. Retrieved online September 8, 2003 from: <http://www.socialworkers.org/naswprn/default>

Anexo D

Comissão de ética na experimentação animal - CEEA



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba



COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto "**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE MATERIAIS QUE LIBERAM TRIMETAFOSFATO DE SÓDIO ASSOCIADO OU NÃO AO FLUORETO EM INIBIR A DESMINERALIZAÇÃO E REMINERALIZAÇÃO *in vitro***" sob responsabilidade do **Prof. Adj. Denise Pedrini Ostini** e colaboração de **Adelisa Rodolfo Ferreira Tiveron** e **Alberto Carlos Botazzo Delbem** está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA em 23/04/2009 de acordo com o protocolo 2009-003012.

Araçatuba, 23 de Abril de 2009

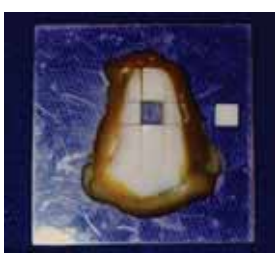
Prof.ª Adj. Tereza Cristina Cardoso da Silva
Presidente da CEEA- FOA/UNESP

Anexo E

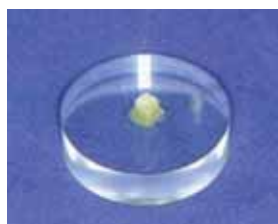
Preparo e seleção dos blocos de esmalte



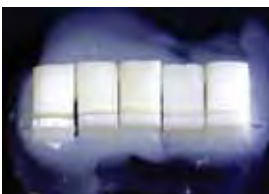
- Coroa de dente bovino fixada com cera pegajosa em placa de acrílico.
- Secção da coroa em cortadeira elétrica para obtenção da face vestibular.



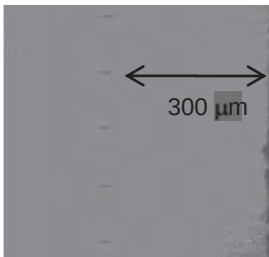
- Secções longitudinal e transversal da face vestibular, em cortadeira elétrica, para obtenção do bloco de esmalte bovino 4x4x3 mm.



- Bloco fixado com cera pegajosa em base acrílica, com dentina voltada para cima.
- Planificação da dentina e polimento do esmalte em politriz elétrica.



- Secção transversal de 1 mm/bloco em cortadeira elétrica, obtendo-se blocos com 4x3x3 mm.



- Microdurômetro Shimadzu HMV-2.000 acoplado ao "Software" para realização dos testes de dureza de superfície.
- Fotomicrografia do teste de dureza de superfície inicial com 5 impressões à 300 μm da borda seccionada.

Anexo F

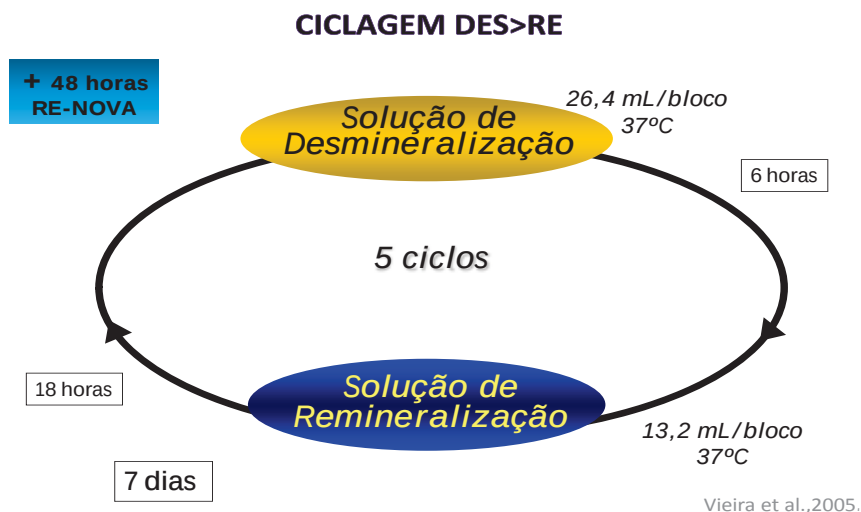
Confecção dos corpos-de-prova, ciclagem de pH (DES>RE) e dureza de superfície



- Resina composta fluida experimental de média viscosidade: Controle, NaF, TMP 1,5%, 14,1% e 36,8% com e sem fluoreto.
- Remoção dos corpos-de-prova da matriz após fotopolimerização.



- União do bloco de esmalte bovino ao corpo-de-prova com auxílio de cera pegajosa.
- Bloco de esmalte e corpo-de-prova isolados com esmalte de unha e fixados à haste metálica com cera.





- Microdurômetro Shimadzu HMV-2.000 acoplado ao "Software" para realização dos testes de dureza de superfície.

- Fotomicrografia do teste de dureza de superfície após ciclagem de pH (DES>RE):

a- dureza inicial

b- dureza final

Anexo G

Preparo dos blocos de esmalte para determinar a dureza em secção longitudinal



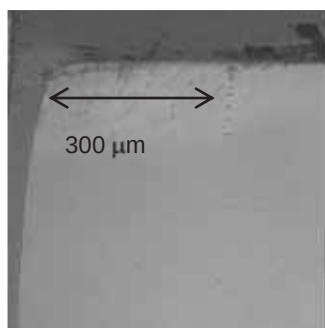
- Os blocos (4x3x3 mm) foram fixados em lâminas de vidro e seccionados longitudinalmente ao meio.



- Uma das metades de cada bloco (2x3x3 mm) foi levada a embutidora, com identificação e incluída em resina acrílica.



- Microdurômetro Micromet 5114 hardness tester e o Software Buehler OmniMet, utilizado para o teste de dureza.



- Fotomicrografia do teste de dureza em secção longitudinal. Em cada bloco foram feitas 13 impressões a 300 μm da borda que permaneceu em contato com o material.

Anexo H

Confecção dos corpos-de-prova e teste de dureza de superfície dos materiais



- Matriz de aço para confecção dos corpos-de-prova de cada material (5 mm de diâmetro e 2 mm de espessura).



- Corpos-de-prova confeccionados utilizados no teste de dureza de superfície.



- Microdurômetro Shimadzu HMV-2.000 acoplado ao "Software" para realização dos testes de dureza de superfície nos corpos-de-prova.

Anexo I

Liberação de F e TMP dos materiais



- Confecção dos corpos-de-prova (5 mm de diâmetro e 2 mm de espessura) com fio de aço.

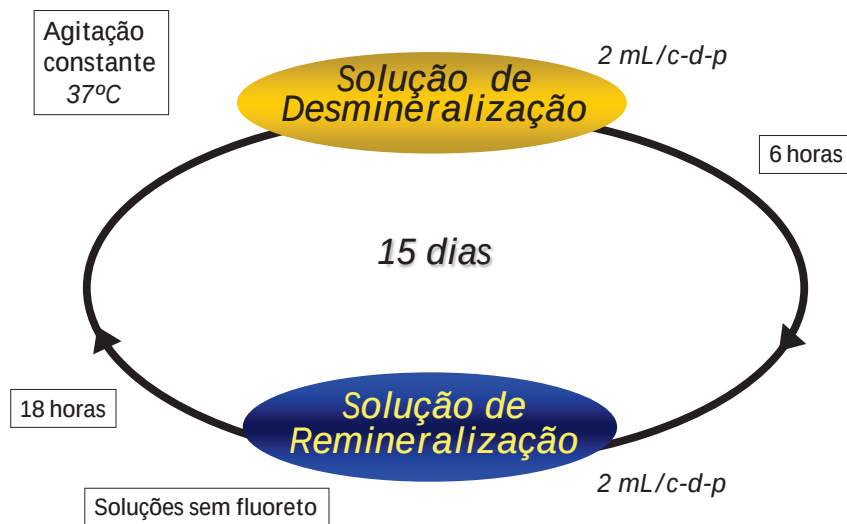


- Os corpos-de-prova foram colocados em tubos de ensaio, suspensos por fio de aço. Cada tubo continha 2 mL da solução DES ou RE.



- Os tubos foram deixados sob agitação constante, à temperatura de 37°C, por 15 dias.

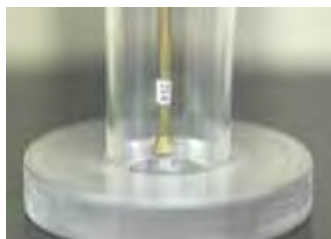
**CICLAGEM DOS MATERIAIS PARA DOSAR A CONCENTRAÇÃO DE F E
TMP DAS SOLUÇÕES DES E RE**



Silva et al., 2007.

Anexo J

Análise de F no esmalte e F e TMP nas soluções DES e RE



- Procedimento de microabrasão: remoção de uma camada de 50 μm com lixa de granulação 320 adaptada ao frasco J-10.



- Eletrodo específico Orion 9409-BN e microeletrodo de referência, acoplados ao analisador de íons Orion 720 A, para a leitura de fluoreto presente no esmalte.



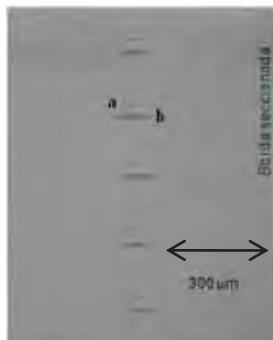
- Analisador e eletrodo específico para íon fluoreto (9609 BN) para a leitura de fluoreto presente nas soluções de ciclagem, sob agitação constante com agitador magnético.



- Leitura das amostras por meio do leitor de placas pelo método colorimétrico, para doseamento de P do TMP.

Anexo K

Indução da lesão artificial de cárie, confecção dos corpos-de-prova, ciclagem de pH (RE>DES) e dureza de superfície



- Blocos de esmalte bovino isolados com esmalte de unha mergulhados em solução de cárie artificial por 16 horas a 37°C.

- Fotomicrografia do teste de dureza de superfície pós-desmineralização:

a- dureza inicial

b- dureza pós-desmineralização



- Resina composta fluida experimental de média viscosidade: Controle, NaF, TMP 14,1% com e sem fluoreto.

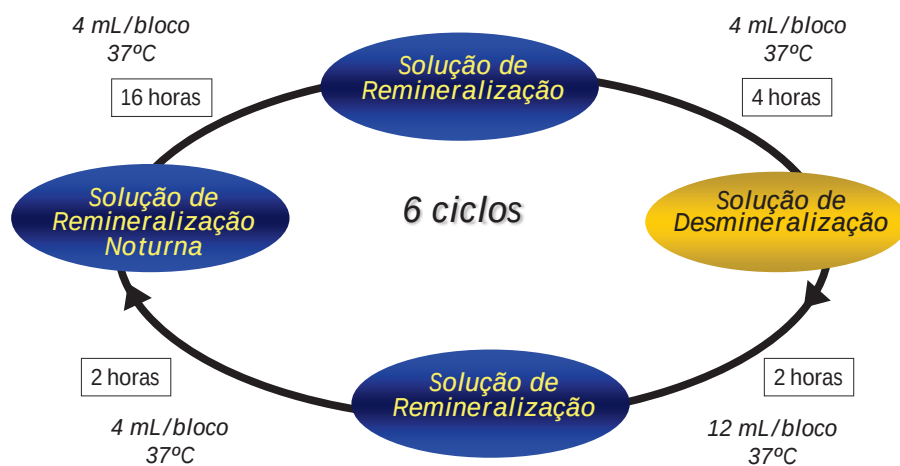
- Matriz metálica com cavidade de 3 mm de largura, 2 mm de altura e 1 mm de espessura para confecção dos corpos-de-prova.



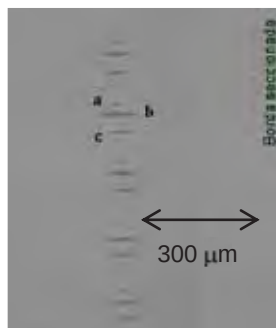
- Bloco de esmalte e corpo-de-prova isolados com esmalte de unha e fixados à haste metálica com cera.

- O conjunto mergulhado em solução de ciclagem contida em frascos J-40.

CICLAGEM RE>DES



Vieira et al., 2005; Rodrigues et al., 2010



- Fotomicrografia do teste de dureza de superfície final após ciclagem de pH, utilizando Microdurômetro Shimadzu HMV- 2.000:
a- dureza inicial
b- dureza pós-desmineralização
c- dureza final

Anexo L

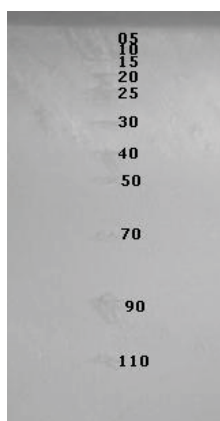
Preparo dos blocos de esmalte para determinar a dureza em secção longitudinal e dosagem de F no esmalte (RE>DES).



- Os blocos (4x3x3 mm) foram fixados em lâminas de vidro e seccionados longitudinalmente ao meio.



- Uma das metades de cada bloco (2x3x3 mm), previamente identificada, foi levada a embutidora, e incluídas em resina acrílica.



- Fotomicrografia do teste de dureza em secção longitudinal. Em cada bloco (2x3x3 mm) foram feitas 13 impressões a 300 μ m da borda que permaneceu em contato com o material.



- Eletrodo específico Orion 9409-BN e microeletrodo de referência, acoplados ao analisador de íons Orion 720 A, para a leitura de fluoreto presente no esmalte.