



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

VANESSA FONTENELE MARQUES

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL REMINERALIZADOR DE GÉIS CONTENDO
NANO-HIDROXIAPATITA EM LESÕES INICIAIS DE CÁRIE EM ESMALTE**

FORTALEZA-CE

2016

VANESSA FONTENELE MARQUES

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL REMINERALIZADOR DE GÉIS CONTENDO
NANO-HIDROXIAPATITA EM LESÕES INICIAIS DE CÁRIE EM ESMALTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Lima Santiago
Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Gislaine Cristina Padovani

FORTALEZA-CE

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

-
- M321a Marques, Vanessa Fontenele.
Avaliação do potencial remineralizador de géis contendo nano-hidroxiapatita em lesões iniciais de cárie em esmalte./ Vanessa Fontenele Marques. – 2016.
34 f.: il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará; Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem; Departamento de Odontologia; Programa de Pós-Graduação em Odontologia; Mestrado em Odontologia, Fortaleza, 2016.
Área de Concentração: Clínica Odontológica.
Orientação: Prof. Dr. Sérgio Lima Santiago.
Co-Orientação: Profa. Dra. Gislaine Cristina Padovani.
1. Cárie Dentária. 2. Remineralização Dentária. 3. Nanopartículas. 4. Durapatita. 5. Flúor. I. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA

VANESSA FONTENELE MARQUES

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL REMINERALIZADOR DE GÉIS CONTENDO
NANO-HIDROXIAPATITA EM LESÕES INICIAIS DE CÁRIE EM ESMALTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

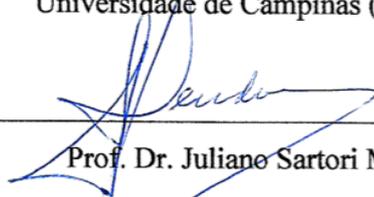
Aprovada em: 31 / 05 / 16

BANCA EXAMINADORA



Prof.^a. Dr.^a. Gislaime Cristina Padovani (Coorientadora)

Universidade de Campinas (UNICAMP)



Prof. Dr. Juliano Sartori Mendonça

Universidade Federal do Ceará (UFC)



Prof.^a. Dr.^a. Vanara Florêncio Passos

Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

Aos meus pais, pelo amor, dedicação e incentivo
a mim destinados durante esses anos de minha vida.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pelo dom da vida e pelas oportunidades que me foram dadas em trilhar meu caminho acadêmico e hoje poder concluir mais um ciclo. Pelas vezes em que me amparou, quando pensei não ser capaz e me mostrou o inverso.

Aos meus pais, ANA MÁRCIA FONTENELE MARQUES e JOÃO MOREIRA MARQUES, e à minha irmã, VALÉRIA FONTENELE MARQUES, que me impulsionam e me encorajam a buscar o conhecimento incansavelmente.

Ao meu noivo e amigo, ÉMERSON LÉLIO COUTINHO BARROS, pela paciência, compreensão e presença durante todo esse período.

Aos meus orientadores, Prof. Dr. SÉRGIO LIMA SANTIAGO, que tão bem me acolheu e que, mesmo por um período distante, sempre se fez presente, pela confiança em mim depositada e paciência ao longo desses dois anos; e à Prof^ª. Dr^ª. GISLAINE CRISTINA PADOVANI, por ter aceitado ser minha orientadora e tê-lo feito com maestria.

Aos professores: Dr^ª. LIDIANY KARLA AZEVEDO RODRIGUES, Dr. JULIANO SARTORI MENDONÇA e Dr. VICTOR PINHEIRO FEITOSA, por terem sido tão solícitos quando necessitei.

À Prof^ª. Dr^ª. DENISE SÁ MAIA CASSELLI, minha orientadora durante todo o período de graduação e que muito me incentivou a estar aqui neste momento.

Ao meu amigo e técnico de laboratório DAVID QUEIROZ DE FREITAS, que de um coração tão grande se tornou muito especial.

Aos amigos que construí no Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará: CINTHIA NARA GADELHA TEIXEIRA, ERNANDA MARIA DE ARAÚJO SALES, JÉSSICA RODRIGUES MENDES CARNEIRO, MARIA DENISE RODRIGUES DE MORAES e MARCELO VICTOR SIDOU LEMOS, os quais levarei para sempre em minha vida.

Aos colaboradores DAVINO MACHADO ANDRADE NETO, Prof. Dr. PIERRE BASÍLIO ALMEIDA FECHINE e SAID GONÇALVES DA CRUZ FONSECA, pela enorme contribuição para o desenvolvimento desta pesquisa.

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

À Universidade Federal do Ceará, na pessoa do magnífico reitor Prof. Dr. HENRY DE HOLANDA CAMPOS.

À Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem (FFOE), da Universidade Federal do Ceará (UFC), na pessoa de sua diretora, Prof^ª. Dr^ª. LIDIANY KARLA AZEVEDO RODRIGUES GERAGE.

Ao curso de Odontologia, na pessoa do seu coordenador, Prof. Dr. JULIANO SARTORI MENDONÇA.

Ao coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia (PPGO) da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem (FFOE), da Universidade Federal do Ceará (UFC), Prof. Dr. VICENTE DE PAULO ARAGÃO SABOIA.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado.

Aos professores participantes da banca examinadora, pela disponibilidade, além das valiosas colaborações e sugestões.

RESUMO

A formação de cárie incipiente de esmalte é um processo reversível e regulado pelo grau de saturação de minerais nos fluidos orais. O processo de reversão se dá através da remineralização. O objetivo do presente trabalho foi avaliar, *in vitro*, o potencial remineralizador de géis experimentais contendo nano-hidroxiapatita, associada ou não ao flúor, através de um modelo de indução de lesão de cárie inicial em esmalte. Foram utilizados incisivos bovinos cortados em blocos de esmalte e aleatorizados em cinco grupos: G_C (gel sem flúor e sem nano-hidroxiapatita); G_F (gel de flúor experimental); G_N (gel de nano-hidroxiapatita); G_{NF} (gel de nano-hidroxiapatita e flúor); G_{FC} (gel de flúor comercial 1.23%). Os espécimes foram submetidos a um desafio cariogênico para indução química de lesão inicial de cárie. O desafio cariogênico foi realizado com a imersão das amostras em 2 mL de solução desmineralizante/mm² de esmalte exposto, durante 36h a 37°C, sob agitação. Logo após, os géis foram aplicados uma única vez durante quatro minutos e os espécimes foram submetidos a um modelo de ciclagem de pH durante oito dias, intercalando 4 horas em solução desmineralizante e 20 horas em solução remineralizante. A análise de microdureza Knoop foi realizada em três momentos: antes da indução de cárie em esmalte, após a indução de cárie e, finalmente, após a ciclagem de pH. A microdureza em corte longitudinal foi executada após o último dia de ciclagem de pH. Logo após, com o auxílio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), foram avaliadas as características superficiais dos espécimes e por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram avaliadas as composições químicas de cada grupo. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, em seguida, ao teste T (p<0,05). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais (G_F, G_N, G_{NF}, G_{FC}); entretanto, houve diferenças entre estes e o grupo G_C. Quanto à microdureza de corte longitudinal, os dados não mostraram diferenças entre os grupos. Pela análise de composição química por FTIR, não houve diferenças nas composições químicas das amostras avaliadas. A MEV revelou características superficiais distintas entre os grupos. Os géis foram eficazes na remineralização das lesões de cárie na superfície de esmalte, mas não em profundidade. A associação de nano-hidroxiapatita e flúor não proporcionou efeito sinérgico.

Palavras-chave: Cárie Dentária. Remineralização Dentária. Nanopartículas. Durapatita. Flúor.

ABSTRACT

The formation of enamel's incipient caries is a reversible process and is regulated by the level of saturation of minerals in the oral fluids. The reversion process takes place through remineralization. The aim of the study was to evaluate, *in vitro*, the remineralizing potential of experimental gels containing nano-hydroxyapatite, associated or not with fluoride, through a model of induction of enamel's early caries lesion. For this study, bovine incisors were cut into enamel blocks and randomized in five groups: G_C (gel without fluoride and without nano-hydroxyapatite); G_F (experimental fluoride gel); G_N (nano-hydroxyapatite gel); G_{NF} (nano-hydroxyapatite gel and fluoride); G_{FC} (commercial fluoride gel 1.23%). The specimens were subjected to a cariogenic challenge in order to chemically induce an early caries lesion. The cariogenic challenge was performed through immersing the samples in 2 mL of demineralizing solution/mm² of exposed enamel for 36h at 37°C under agitation. Right after this, the gels were applied only once during 4 minutes and the specimens were subjected to a pH-cycling model for 8 days, alternating between 4 hours in demineralizing solution and 20 hours in remineralizing solution. The Knoop microhardness test analysis was initially performed; after inducing caries in enamel; and after pH-cycling. The longitudinal-cut microhardness was executed after the last day of pH-cycling. Right after this, using scanning electron microscopy (SEM), the specimens' superficial characteristics were evaluated and the chemical compositions of each group were evaluated with Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy. The data obtained were subjected to the analysis of variance and then to the T test ($p < 0,05$). There has been no significant statistical difference between the experimental groups (G_F, G_N, G_{NF}, G_{FC}); however, there have been differences between these and the group G_C. As to the longitudinal cut's microhardness, the data did not show any differences between the groups. The analysis of chemical composition using FTIR showed no differences between the chemical compositions of the samples evaluated. SEM revealed distinct superficial characteristics between the groups. The gels were efficient in remineralizing enamel's early caries lesions, but not in depth. The association between nano-hydroxyapatite and fluoride did not bring about any synergetic effects.

Keywords: Dental Caries, Tooth Remineralization, Nanoparticles, Durapatite, Fluorides

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2	PROPOSIÇÃO.....	14
3	CAPÍTULO.....	15
3.1	Capítulo 1.....	16
	<i>Avaliação do potencial remineralizador de géis contendo nano- hidroxiapatita em lesões iniciais de cárie em esmalte</i>	
4	CONCLUSÕES GERAIS.....	32
	REFERÊNCIAS.....	33
	ANEXOS.....	35

1 INTRODUÇÃO GERAL

A cárie dentária é uma doença multifatorial que evolui de forma muito lenta, na maioria dos indivíduos. Raramente é autolimitante e, na ausência de tratamento, progride até destruir totalmente a estrutura dentária (FEJERSKOV; KIDD, 2005). As lesões iniciais em esmalte são caracterizadas pela perda mineral sob a camada de superfície aparentemente intacta (BAKRY et al., 2014). A porosidade aumentada dentro do corpo da lesão proporciona aspecto esbranquiçado e opaco, e a área assume uma aparência de lesão de mancha branca. Portanto, o primeiro sinal clínico observado no desenvolvimento da lesão de cárie é uma mancha branca, opaca e rugosa (KIDD; FEJERSKOV, 2004). O corpo da lesão pode não ser passível de ser remineralizado de forma homogênea. Dessa forma, a lesão progride abaixo dessa camada. Se essa progressão não for inibida, a camada superficial de esmalte hipermineralizado se rompe devido às cargas mastigatórias e pode-se observar clinicamente uma lesão cavitada (FEJERSKOV; KIDD, 2005). Uma cavidade, no entanto, é apenas o resultado de uma perda mineral progressiva e dependente da presença de exposição ao biofilme e ao açúcar (CURY; TENUTA, 2009).

Inicialmente, o modelo proposto para caracterizar a etiologia da doença cárie demonstrava a doença como o resultado da interação de fatores determinantes, como: hospedeiro, substrato (dieta cariogênica) e microrganismos (KRICHEVSKY; KEYES, 1969). Newbrune (1978) acrescentou o fator tempo nessa interação. A doença cárie é muito mais complexa e com um caráter comportamental, podendo ser influenciada também por fatores modificadores.

A cárie tem sido caracterizada como uma doença biofilme-açúcar dependente; portanto, sendo resultante da fermentação de açúcares pelas bactérias acidogênicas da placa bacteriana (biofilme oral) e a sacarose sendo o mais cariogênico dos carboidratos fermentáveis (BAKRY et al., 2014; CURY; TENUTA, 2009; TENUTA; CURY, 2010). Quando o açúcar penetra no biofilme cariogênico e é convertido em ácidos do metabolismo bacteriano, o fluido do biofilme torna-se subsaturado em relação aos minerais do esmalte e a desmineralização ocorre. O pH crítico para dissolução do dente permanece por um tempo, porém retoma valores fisiológicos quando a exposição ao açúcar é interrompida. Portanto, quando o pH é aumentado e as condições de supersaturação são restauradas, uma certa quantidade do mineral perdido pode ser recuperado pelo esmalte. Este processo tem sido chamado de remineralização (CURY; TENUTA, 2009). Em condições saudáveis, esses processos estão em equilíbrio e sem danos permanentes à superfície dentária (STRUZYCKA,

2014). Porém, caso haja alteração no equilíbrio fisiológico, após sucessivas exposições ao açúcar, ocorre a predominância de episódios de desmineralização, ocasionando o surgimento da lesão de cárie.

Nas últimas décadas, foi observado um declínio da doença cárie em muitos países, no entanto, a cárie em esmalte ainda é bastante prevalente. No Brasil, assim como em outros países em vias de desenvolvimento, igualmente foi observada uma redução na incidência de cárie dentária (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). O grande responsável por esse efeito benéfico foi a adição de fluoreto (F^-) nas águas de abastecimento público, assim como o uso de produtos fluoretados. Até a década de 70, a única fonte de exposição coletiva ao F^- era a água de abastecimento público (LIMA; CURY, 2001), mas, devido à introdução no mercado de vários métodos alternativos, o F^- alcança também comunidades onde não há acesso à água de abastecimento fluoretada.

No passado, acreditava-se que o efeito inibidor da cárie era atribuído à incorporação do F^- nos cristais de hidroxiapatita durante a formação dos dentes, o que colaborava por tornar o esmalte dentário mais resistente às quedas de pH. Esse fato levou à adição de flúor nas águas de abastecimento público, sendo o efeito sistêmico considerado o principal responsável pelo declínio da cárie dentária (HICKS; GARCIA-GODOY; FLAITZ, 2004). Porém, hoje se sabe que o efeito tópico é o mais importante na redução da prevalência da doença cárie (HICKS; GARCIA-GODOY; FLAITZ, 2004) e há um consenso de que o F^- importante é aquele que é mantido constantemente na cavidade bucal, o qual é capaz de interferir diretamente no desenvolvimento e progressão da lesão de cárie, reduzindo a quantidade de minerais perdidos, inibindo a desmineralização e aumentando a remineralização (TEN CATE, 1990).

O F^- atua como um importante agente para a manutenção do equilíbrio mineral dos dentes, atuando diretamente na dinâmica do processo de des-remineralização (FEATHERSTONE et al., 1986; TEN CATE, 1990). O F^- é benéfico por reduzir a cárie dentária, mas deve ser utilizado na dosagem correta, evitando efeitos colaterais, tais como: intoxicação aguda e crônica, bem como o risco de desenvolvimento da fluorose dentária. No entanto, é importante salientar que o tratamento com flúor tem suas limitações (BROWNE; WHELTON; O'MULLANE, 2004; HUANG et al., 2010). A adição de fluoreto acelera, apenas inicialmente, o processo de remineralização. Nas fases seguintes, ocorre precipitação das partículas de flúor na superfície da lesão e remineralização mais proeminente nessa camada superficial, porém o corpo da lesão permanece desmineralizado, não ocorrendo uma remineralização completa, mesmo com uma concentração elevada de flúor (TEN CATE,

1990). Assim, torna-se fundamental buscar agentes coadjuvantes ao flúor que possam viabilizar resultados viáveis e promissores para o tratamento das lesões iniciais de cárie (BROWNE; WHELTON; O'MULLANE, 2004; HUANG et al., 2010).

A nanociência estuda estruturas com propriedades físicas, químicas e biológicas novas ou alteradas devido à diminuição de seu tamanho à ordem de nanômetros (ZACH et al., 2006). Quando se fala em nanomateriais, significa que esses materiais têm dimensões pequenas, equivalentes a uma medida de 10^{-9} unidades de metro. Na busca por materiais com propriedades melhoradas, diversas nanopartículas vêm sendo utilizadas para o desenvolvimento de materiais odontológicos (MOSZNER; SALZ, 2007; MITRA; WU; HOLMES, 2003).

As nanopartículas, devido ao seu tamanho, apresentam propriedades diferentes dos materiais usuais. A transição de micro para nano leva a inúmeras alterações nas propriedades eletrônicas, óticas e mecânicas do material, sem alterar a composição química. Essa aquisição de novas propriedades é a principal motivação para pesquisas envolvendo o desenvolvimento e a utilização de materiais nanoestruturados, pois com novas propriedades surgem outras possibilidades de aplicações nas mais diversas áreas da ciência (ZACH et al., 2006; ALVES, 2004).

Entre esses nanomateriais, a nano-hidroxiapatita é semelhante ao mineral encontrado nos tecidos dentais e vem ganhando grande aceitabilidade devido à sua boa compatibilidade biológica e baixa solubilidade (MITRA; WU; HOLMES, 2003). É considerada um dos materiais mais biocompatíveis e bioativos e ganhou ampla visibilidade na Medicina e Odontologia, nos anos recentes. Estudos (TSCHOPPE et al., 2011; ROVERI et al., 2009) têm mostrado que essa hidroxiapatita em tamanho nanométrico tem apresentado potencial de remineralização, sendo observada uma melhoria na mineralização no interior da lesão em esmalte e um preenchimento mais homogêneo do esmalte prismático.

2 PROPOSIÇÃO

Com base no exposto, a proposta do presente estudo é avaliar, *in vitro*, o efeito remineralizador de géis experimentais contendo nano-hidroxiapatita, associada ou não ao flúor, através de um modelo de indução de lesão de cárie inicial em esmalte, bem como avaliar se a associação do flúor à nano-hidroxiapatita em um gel experimental é capaz de promover um efeito sinérgico e, dessa forma, otimizar o processo de remineralização.

3 CAPÍTULO

REGIMENTO INTERNO

Esta dissertação está baseada no Artigo 46 do Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará (Anexo A), que regulamenta o formato alternativo para dissertações de Mestrado e teses de Doutorado e permite a inserção de artigos científicos de autoria ou coautoria do candidato. Por se tratar de pesquisa envolvendo partes de animais, o presente trabalho foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA), mas foi dispensado por se tratar de um modelo *ex-vivo*. Diante disso, tal dissertação de mestrado é composta por um capítulo que contém um artigo científico, o qual será submetido à publicação no periódico “Clinical Oral Investigations”, de caráter multidisciplinar, estando as regras para submissão nesse periódico ao final deste trabalho (Anexo B), conforme descrito a seguir.

3.1 CAPÍTULO 1

Avaliação do potencial remineralizador de géis contendo nano-hidroxiapatita em lesões iniciais de cárie em esmalte

Vanessa Fontenele Marques¹
Davino Machado Andrade Neto²
Pierre Basílio Almeida Fechine³
Juliano Sartori Mendonça⁴
Gislaine Cristina Padovani⁵
Sérgio Lima Santiago⁶

¹ Mestranda em Clínica Odontológica – Programa de Pós-Graduação em Odontologia (PPGO), Departamento de Odontologia Restauradora, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem (FFOE), Universidade Federal de Ceará (UFC). Campus do Parangabuçu – Fortaleza, Ceará, Brasil.

² Doutorando em Química – Programa de Pós-Graduação em Química (PGQuim), Departamento de Química Analítica e Físico-Química, Curso de Química, Universidade Federal do Ceará (UFC). Campus do Pici – Fortaleza, Ceará, Brasil.

³ Professor Adjunto do Departamento de Química Analítica e Físico-Química, Curso de Química, Universidade Federal de Ceará (UFC). Campus do Pici – Fortaleza, Ceará, Brasil.

⁴ Professor Adjunto do Departamento de Odontologia Restauradora, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem (FFOE), Universidade Federal do Ceará (UFC). Campus do Parangabuçu – Fortaleza, Ceará, Brasil.

⁵ Pós-doutoranda em Odontologia – Programa de Pós-Graduação em Física (PPGFísica), Departamento de Física, Curso de Física, Universidade Federal de Ceará (UFC). Campus do Pici – Fortaleza, Ceará, Brasil.

⁶ Professor Associado do Departamento de Odontologia Restauradora, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem (FFOE), Universidade Federal do Ceará (UFC). Campus do Parangabuçu – Fortaleza, Ceará, Brasil.

Autor correspondente:
Sérgio Lima Santiago
E-mail: sergiosantiago@ufc.br
Telefone: +55 (88) 33668232

Resumo

Objetivo: Avaliar, *in vitro*, o potencial remineralizador de géis experimentais contendo nano-hidroxiapatita, associada ou não ao flúor, através de um modelo de indução de lesão de cárie. **Materiais e métodos:** foram utilizados incisivos bovinos cortados em blocos de esmalte (4x4x3mm) e aleatorizados em cinco grupos: G_C (gel controle negativo); G_F (gel de flúor experimental); G_N (gel de nano-hidroxiapatita); G_{NF} (gel de nano-hidroxiapatita e flúor); G_{FC} (gel comercial 1.23% F). Os espécimes foram submetidos a um desafio cariogênico para indução química de lesão de cárie. Logo após, os géis foram aplicados uma vez, durante quatro minutos, e os espécimes submetidos a uma ciclagem de pH durante oito dias. A análise de microdureza Knoop foi realizada em três momentos: antes da indução de cárie em esmalte, após a indução de cárie e, finalmente, após a ciclagem de pH. A microdureza em corte longitudinal foi executada após o último dia de ciclagem. Em seguida, com o auxílio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), foram avaliadas as características superficiais dos espécimes e, por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), foram avaliadas as composições químicas de cada grupo. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste T. **Resultados:** não houve diferença significativa quanto à microdureza superficial entre os grupos experimentais (G_F, G_N, G_{NF}, G_{FC}), porém estes apresentaram diferenças significativas quando comparados ao G_C. Quanto à microdureza em corte longitudinal e à análise por FTIR, não houve diferenças entre os grupos. A análise em MEV revelou características superficiais distintas entre os grupos. **Conclusão:** os géis foram eficazes na remineralização das lesões. **Relevância clínica:** desenvolvimento de materiais a serem utilizados em pacientes com alto risco à cárie.

Keywords: Cárie Dentária, Remineralização Dentária, Nanopartículas, Durapatita, Flúor

Introdução

A cárie dentária é uma doença multifatorial que acomete populações no mundo inteiro. Estudo realizado em 2010, na *Global Burden of Disease* (GBD), identificou que a cárie afeta coletivamente 3,9 bilhões de pessoas [1]. Ela depende da interação entre três fatores primários: um hospedeiro suscetível, uma microflora cariogênica e um adequado substrato local [2, 3].

As lesões iniciais de cárie localizam-se no esmalte e são caracterizadas pela perda mineral abaixo de uma camada superficial aparentemente intacta [4]. Normalmente, essas lesões estão situadas no terço gengival ou nas áreas proximais, regiões em que há um maior acúmulo de biofilme [5]. Se a lesão abaixo da camada superficial continua a expandir-se, ela colapsa e uma cavidade é formada [6].

A formação de cárie incipiente de esmalte é um processo reversível e regulado pelo grau de saturação de minerais nos fluidos orais [6]. O processo de reversão se dá através da remineralização [7]. Sabe-se que os períodos de progressão da lesão inicial de cárie alternam-se com os períodos remineralizantes. Se o processo de remineralização tornar-se predominante, ocorrerá a reparação aparente da lesão [8]. A remineralização pode ser definida como uma redeposição de minerais perdidos pelo esmalte dental, a qual não somente interrompe o processo de desmineralização como também repara as lesões cariosas incipientes [7, 9].

Uma abordagem comumente utilizada na reparação de lesões de mancha branca inclui a aplicação tópica de fluoretos na forma de dentifrícios, vernizes, géis e soluções [3]. Esse efeito benéfico dos fluoretos parece estar associado à capacidade deste de inibir a desmineralização e aumentar a remineralização, através da precipitação de fosfato de cálcio e formação de fluorapatita; adicionalmente, os fluoretos de aplicação tópica formam uma barreira física, que tende a proteger o tecido dentário contra o ataque ácido [4, 6, 10]. Nesse sentido, o gel fluoretado é uma formulação de fácil acesso e aplicação, sendo considerado uma forma eficaz de aplicação de flúor tópico, tanto em nível individual quanto em ações comunitárias [11, 12]. No entanto, é importante salientar que o tratamento com flúor tem suas limitações [13, 14]. A adição de fluoreto acelera, apenas inicialmente, o processo de remineralização. Nas fases seguintes, ocorre precipitação das partículas de flúor na superfície da lesão e remineralização mais proeminente nessa camada superficial, porém o corpo da lesão permanece desmineralizado, não ocorrendo uma remineralização completa, mesmo com uma concentração elevada de flúor [15]. Assim, torna-se fundamental buscar agentes coadjuvantes ao flúor que possam viabilizar resultados viáveis e promissores para o tratamento das lesões iniciais de cárie [14].

A hidroxiapatita (HA) é um dos principais componentes da estrutura dentária [9]. Com o desenvolvimento da nanotecnologia, partículas de hidroxiapatita em tamanho nanométrico têm sido extensamente estudadas na área de biomateriais, principalmente por apresentarem biocompatibilidade e semelhança químico-estrutural com minerais do esmalte [8, 14]. A nano-hidroxiapatita (NHA) apresenta propriedades singulares, tais como: alta dureza, alta resistência, vida útil longa, maior solubilidade e maior energia de superfície que a HA, liberação de íons cálcio pela nano-hidroxiapatita similar à apatita biológica e, significativamente, mais rápida quando comparada aos cristais de maior tamanho [9,16]. Além dessas características, a hidroxiapatita em tamanho nanométrico vem sendo avaliada quanto ao potencial de remineralização, sendo observados uma melhora na mineralização no interior da lesão em esmalte e um preenchimento mais homogêneo do esmalte prismático [17].

Tendo em vista a dificuldade de se conseguir uma remineralização em áreas mais profundas da lesão, utilizando produtos fluoretados disponíveis no mercado, a proposta do presente estudo é avaliar *in vitro* o efeito remineralizador de géis experimentais contendo nano-hidroxiapatita, associada ou não ao flúor, através de um modelo de indução de lesão de cárie inicial em esmalte, bem como avaliar se a associação do flúor à nano-hidroxiapatita em um gel experimental é capaz de promover um efeito sinérgico e, dessa forma, otimizar o processo de remineralização.

Materiais e métodos

Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo quantitativo, do tipo investigação experimental *in vitro*. A Fig. 1 mostra um desenho esquemático de como foi realizada a sequência experimental. O fator sob avaliação foram géis experimentais utilizados como tratamento em cinco níveis e com as seguintes composições: flúor (G_F), nano-hidroxiapatita (G_N), nano-hidroxiapatita e flúor (G_{NF}), controle negativo (G_C , sem flúor e sem nano-hidroxiapatita) e gel fluoretado comercial a 1,23% (G_{FC}). As variáveis dependentes foram: o percentual de ganho de microdureza de superfície; a área de perda mineral vista por microdureza longitudinal; a composição das amostras observada por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR); e a superfície da lesão analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Fig. 1 Desenho experimental mostrado de forma esquemática

Características da nano-hidroxiapatita

A nano-hidroxiapatita utilizada neste estudo foi sintetizada no laboratório do Departamento de Química Analítica e Físico-Química da Universidade Federal do Ceará. Apresenta estrutura cristalina e em formato de bastão, como mostrado na Fig. 2, com 16nm de espessura e 54nm de comprimento em média.

Fig. 2 Micrografia de microscopia eletrônica de transmissão da nano-hidroxiapatita

Preparação dos espécimes

Os blocos de esmalte foram obtidos a partir das faces vestibulares de dentes incisivos bovinos hígidos, armazenados em solução timol a 0,1% sob refrigeração (4°C). Os dentes foram fixados em placas de acrílico (40 x 40 x 5 mm) e seccionados transversalmente na junção amelocementária, para separar as coroas das raízes, através do emprego de disco diamantado dupla face (Modelo 12205, Extec®, Enfield, CT, EUA) montado a uma cortadeira metalográfica (Isomet®, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA), sob baixa rotação e refrigeração abundante. Foram realizados cortes seriados nas faces vestibulares dos dentes para obtenção de blocos contendo esmalte (4 x 4 x 3 mm). Após o seccionamento dos dentes, estes foram adaptados em uma politriz metalográfica automática (EcoMet 300, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA) e a planificação foi realizada sob refrigeração utilizando-se lixas de granulação #320, #600 e #1200. As amostras foram, em seguida, polidas com disco de feltro e suspensão de diamante para polimento de 1 μ m (MetaDi, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA). Entre cada etapa, os dentes foram conduzidos a uma cuba ultrassônica (Unique, Indaiatuba, SP, Brasil) por 10 minutos para limpeza destes.

Microdureza de superfície

A microdureza foi realizada após o polimento com a finalidade de padronizar as amostras. Foi utilizado um diamante acoplado a um microdurômetro (Microhardness Tester FM 100, Future Tech, Fujisaki, Kawasaki-City, Japan) com carga estática de 25g por 10 segundos em esmalte [18]. Foram realizadas cinco endentações na região central de cada bloco, separadas entre si por uma distância de 100 μ m. Dos espécimes avaliados, 89 com microdureza inicial (KHN_i) variando 10% em torno da média encontrada (330 KHN) foram selecionados para o estudo.

Preparação das soluções desmineralizante e remineralizante

As soluções foram preparadas a partir do método descrito por Molina et al [19]. A solução desmineralizante, solução tampão acetato 0,05M contendo 1,28mM Ca, 0,74 mM P e 0,03 μ g F/mL, pH 5,0, foi preparada a partir dos sais de Ca(NO₃)₂.4H₂O, KH₂PO₄ e NaF. Essa solução foi utilizada para induzir lesões de cárie nos blocos de esmalte e também no protocolo de ciclagem de pH. A solução remineralizante, 1,5mM Ca, 0,9 mM Pi, 150 mM KCl e 0,05 μ g F/mL em tampão Tris 0,1M, pH 7,0, foi preparada a partir dos sais Ca(NO₃)₂.4H₂O, KH₂PO₄, KCl e NaF. A proporção de soluções desmineralizante (DES) e remineralizante (RE) por área do bloco foi de 6,25 e 3,12mL/mm², respectivamente. Para indução da lesão inicial de cárie, os espécimes foram mantidos em 2 mL de solução DES/mm² de esmalte exposto, durante 36h a 37°C sob agitação. Após esse tempo, as amostras foram lavadas com água destilada e deionizada durante 30 segundos. Os espécimes foram novamente avaliados quanto à microdureza de superfície e 75 deles com valores pós indução de cárie (KHN_c) entre 40 e 100 KHN foram selecionados para o estudo. Esses 75 espécimes foram distribuídos aleatoriamente e após a distribuição, cada grupo foi avaliado estatisticamente quanto à normalidade. Todos os grupos apresentaram normalidade e homogeneidade entre as variâncias.

Preparação dos géis experimentais

Os géis experimentais foram manipulados no laboratório de farmacotécnica do curso de Farmácia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem (FFOE) da Universidade Federal do Ceará (UFC) com os seguintes componentes: carboximetilcelulose, sacarina, glicerina, água destilada e deionizada [20]. A concentração de F⁻ utilizada foi de 1,23% na forma de NaF e a concentração de nano-hidroxiapatita foi de 10% em peso [8]. O pH final dos géis teve valor entre 4,6 e 4,8, portanto um pH ácido [9].

Aplicação dos tratamentos

Setenta e cinco blocos foram divididos aleatoriamente em cinco grupos (n=15) e submetidos a um dos seguintes tratamentos: gel controle negativo (G_C , gel sem flúor e sem hidroxiapatita), gel fluoretado (G_F), gel nano-hidroxiapatita (G_N), gel nano-hidroxiapatita e flúor (G_{NF}), gel fluoretado comercial a 1.23%F (DFL, Petrópolis, RJ, Brasil) (G_{FC} , controle positivo). Os tratamentos foram aplicados uma única vez, por quatro minutos, sobre o esmalte com lesão inicial de cárie. A quantidade de gel foi padronizada em 0,1 mL gel/ bloco com auxílio de seringas descartáveis. Decorrido esse tempo, os géis foram removidos com auxílio de gaze estéril umedecida em água destilada e deionizada, e os espécimes foram lavados com água destilada por 30 segundos.

Ciclagem de pH

Os blocos foram mantidos individualmente durante 4h na solução desmineralizante e 20h na solução remineralizante, a 37°C, sob agitação. Duas vezes por dia (antes e depois da imersão na solução desmineralizante), os blocos foram lavados com água destilada e deionizada. Nos 3º, 5º e 7º dias, as soluções DES e RE foram substituídas por outras novas. Após o ciclo de oito dias, os blocos permaneceram na solução remineralizante durante mais 24 h, até as análises.

Microdureza pós ciclagem de pH

Após a ciclagem de pH, a microdureza final (KHN_F) do esmalte foi analisada e foi calculado o percentual de ganho de microdureza $\%KHN = 100(KHN_F - KHN_C)/(KHN_F - KHN_C)$, como feito em estudo anterior por Lippert e Juthani [21]. Subsequentemente, todos os blocos foram seccionados longitudinalmente através do centro e a microdureza da secção transversal foi medida na superfície interna de uma das metades, para a determinação da área de perda mineral (ΔS). Para a realização da microdureza longitudinal, três sequências de 10 impressões nas distâncias de 10, 20, 30, 40, 50, 70, 100, 150, 200, 300 μm da superfície externa do esmalte foram realizadas na área central dos blocos e outras duas a 100 μm à direita e à esquerda. Os valores médios dos três pontos medidos foram calculados em cada distância. A perda integrada de dureza de subsuperfície (ΔS) foi calculada subtraindo-se a área integrada da dureza da lesão até o esmalte hígido da área integrada da dureza do esmalte hígido (área destacada em preto na Fig. 3), para isso foi utilizado o software Winplot.

Fig. 3 Perda integrada de dureza de subsuperfície (ΔS)

Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

FTIR foi utilizado para analisar a composição química das amostras pós-tratamento, buscando avaliar uma possível formação de compostos pela interação dos géis com o espécime. Para esse teste, foram utilizados blocos de cada grupo experimental, bem como blocos de dente hígido e de dente com cárie sem ser submetido a tratamento, com a finalidade de promover uma comparação. Os espécimes bovinos contendo esmalte e dentina foram cortados e lixados para obtenção de blocos contendo somente esmalte. Logo após, esses blocos foram moídos e resultaram em um pó, que foi utilizado para os testes de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier. Os espectros de FTIR foram obtidos com uma faixa de 400-4000 cm^{-1} , utilizando-se 128 scans e com uma resolução de 2 cm^{-1} . O espectrômetro utilizado foi o modelo Vertex 70V (Bruker Optics Inc., Billerica, MA, USA).

Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Após a análise da microdureza, amostras representativas de cada grupo foram selecionadas aleatoriamente e foram preparadas para análise em MEV. Essa preparação foi feita com disposição das amostras em stubs, seguida da metalização com ouro. Os espécimes foram, então, examinados para se observar a morfologia das superfícies de esmalte após os diferentes tratamentos, com o uso de um microscópio eletrônico de varredura Quanta FEG 450 (FEI Company, Oregon, USA), com magnitude de 100.000x e potência de 20kV.

Análise estatística

Os dados foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Lilliefors, utilizando-se o software Sigmastat 3.5. O percentual de recuperação de microdureza superficial ($\% KHN$) entre os tratamentos foi analisado por ANOVA a um fator, seguida pelo teste T. Para análise da perda integrada de dureza de subsuperfície foi realizada ANOVA a um fator. O nível de significância foi fixado em 0,05% ($p < 0,05$).

Resultados

Microdureza de superfície e em corte longitudinal

Os resultados obtidos estão apresentados na Fig. 4 e mostram que o percentual de recuperação da microdureza superficial (%KHN), ao fim da ciclagem, foi semelhante estatisticamente ($p>0,05$) em todos os níveis de tratamentos (G_F , G_N , G_{FN} , G_{FC}); e que os tratamentos obtiveram melhores resultados que o grupo controle negativo G_C .

Fig. 4 Percentual de recuperação da microdureza de superfície. Letras semelhantes representam ausência de diferenças estatísticas significantes.

Quando avaliado o valor da área de perda mineral (ΔS) na microdureza de corte longitudinal, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p>0,05$). Os valores estão dispostos na Fig. 5.

Fig. 5 Microdureza longitudinal. Letras semelhantes representam ausência de diferenças estatísticas significantes.

FTIR

A Fig. 6 mostra os picos encontrados ao se analisarem as amostras de cada grupo. Os espectros revelaram os mesmos grupamentos químicos para todas as amostras. O pico 1 ($450-700\text{ cm}^{-1}$) representa o modo de deformação do grupamento fosfato (PO_4); o pico 2 ($845-890\text{ cm}^{-1}$), o modo de deformação do carbonato (CO_3); o pico 3 representa o modo de estiramento do fosfato ($887-1200\text{ cm}^{-1}$); o pico 4, o modo de estiramento do carbonato ($1350-1520\text{ cm}^{-1}$); e o pico 5 ($1575-1730\text{ cm}^{-1}$) é referente ao grupamento amida [22].

Fig. 6 Picos encontrados ao espectrômetro de infravermelho

MEV

A morfologia superficial dos espécimes está disposta na Fig. 7. Nos tratamentos com flúor (G_F e G_{FC}), as imagens da superfície do espécime mostraram uma característica de crescimento dos cristais de apatita. Nos tratamentos com nano-hidroxiapatita (G_N e G_{NF}), a superfície do esmalte foi coberta por partículas finamente divididas e unidas, formando uma camada superficial microestrutural.

Fig. 7 Micrografias por MEV com magnitude de 100.000x e potência de 20 kV. a) G_F , b) G_{FC} , c) G_N , d) G_{NF} , e) G_C

Discussão

O uso de biomateriais baseados em nanotecnologia pode ser uma estratégia importante na prevenção da cárie dentária. A nano-hidroxiapatita vem sendo estudada como um material biomimético com capacidade de reconstruir o esmalte desmineralizado e avaliada como um agente anticárie eficaz devido ao seu potencial remineralizador [14]. A nano-hidroxiapatita é um composto de fosfato de cálcio com uma estrutura semelhante à da parte mineralizada da dentina e do esmalte [16]. É bioativa e biocompatível. As pesquisas propõem que a nano-hidroxiapatita pode reparar o esmalte danificado através da fixação de moléculas à superfície do tecido ou até mesmo a possibilidade de preencher defeitos e microporos nos dentes desmineralizados [14].

Foi adotado um pH ácido para os géis experimentais com base em estudos anteriores [9, 23], os quais constataram que a solubilidade da nano-hidroxiapatita é aumentada em condições ácidas. Logo, ela se deposita sobre a superfície desmineralizada para reparar biomimeticamente as lesões. Além disso, a superfície das lesões artificiais assumiria um potencial eletrostático negativo. Assim, a força de repulsão eletrostática entre a nanopartícula e o esmalte do dente seria reduzido, levando a um aumento da deposição em condições ácidas. Outro fator que contribuiu para os resultados encontrados foi a concentração 10% em peso de nano-hidroxiapatita utilizada neste estudo. De acordo com estudo realizado por Huang, Gao e Yu [8], em que foram avaliadas diferentes concentrações, entre estas, as de 10% e 15% em peso obtiveram melhores resultados de remineralização sem diferenças entre elas.

O presente estudo analisou o efeito de géis experimentais contendo nano-hidroxiapatita associada ou não ao flúor sobre a remineralização de lesões iniciais de cárie em esmalte. Os resultados revelaram que os

tratamentos com flúor e/ou nano-hidroxiapatita foram mais eficazes em recuperar a microdureza do esmalte do que o controle negativo; no entanto, esses tratamentos não tiveram diferenças entre si. Haghgoo, Rezvan e Zeinabadi [16] compararam o efeito de várias concentrações de nano-hidroxiapatita e fluoreto de sódio na forma de bochechos sobre lesões de cárie iniciais em esmalte humano, encontrando resultados semelhantes de eficácia sobre a remineralização, mas sem diferenças entre eles. Huang et al [14] analisaram o efeito da Galla Chinensis combinada à nano-hidroxiapatita na remineralização de lesões primárias em esmalte bovino e mostraram que o aumento em microdureza do esmalte após a aplicação desses materiais foi maior do que o controle negativo, o que está em acordo com os resultados deste estudo. Esses resultados são justificados pela deposição de partículas na superfície da lesão no esmalte, levando a um aumento nos valores de microdureza. Em contrapartida, o grupo sem essas partículas não apresentou deposição e, conseqüentemente, não teve aumento na microdureza [15].

A análise da microdureza de corte longitudinal, no presente estudo, mostrou que a nano-hidroxiapatita e o flúor foram significativamente eficazes em reverter a progressão da lesão superficialmente, mas pouco efeito de remineralização foi obtido em profundidade. O valor da área de perda mineral (ΔS) na microdureza de corte longitudinal mostrou que pouca mudança ocorreu em profundidade antes e depois da remineralização. Esses resultados podem sugerir que a nano-hidroxiapatita e o flúor proporcionam um maior depósito mineral sobre a camada externa do que no corpo da lesão. Remineralização é o processo de transferência de ânions e cátions; essa difusão de íons minerais pode ter sido inibida pela camada superficial mineralizada. Isso pode explicar por que a remineralização completa não foi alcançada [14].

As superfícies de esmalte sob diferentes tratamentos foram examinadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As diferentes morfologias de superfície do esmalte nos tratamentos correspondentes podem ser devido aos diferentes tratamentos. Nos tratamentos com flúor, as imagens superficiais mostraram uma característica de crescimento dos cristais de apatita semelhante ao que Huang, Gao e Yu [8] encontraram. Nos grupos de nano-hidroxiapatita, a superfície do esmalte foi coberta por partículas finamente divididas e unidas, formando uma camada superficial microestrutural. Ao mesmo tempo, os próprios glóbulos pareciam ser aglomerados de partículas ainda menores. Do ponto de vista do mecanismo de remineralização, os cristais de nanopartícula encontravam-se sedimentados nas superfícies do esmalte e preenchendo os espaços desmineralizados, resultando em diminuição dos defeitos da superfície do esmalte e aumento da microdureza de superfície. Os resultados da análise de microdureza superficial foram apoiados pela morfologia cristalina observada.

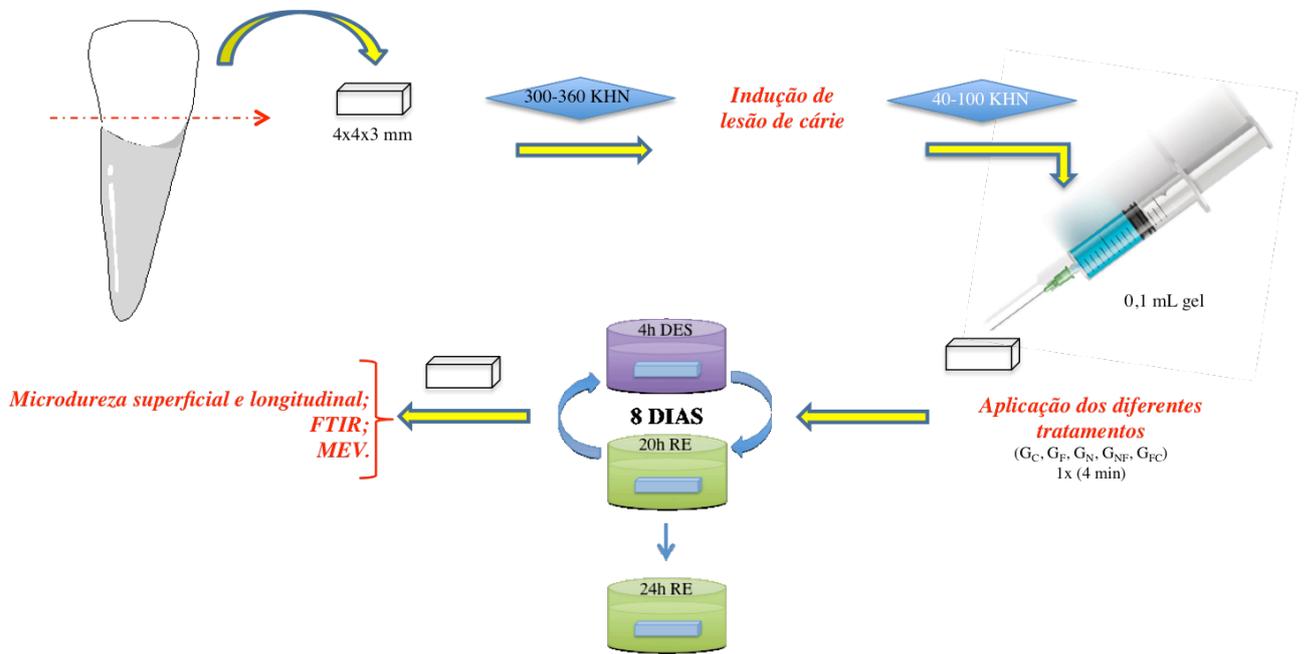
A partir da análise de FTIR, foi possível constatar que os componentes químicos do esmalte submetido a diferentes tratamentos remineralizantes foram os mesmos em todos os grupos. Estudo anterior realizado por Reyes-Gasga et al [25], para avaliar o índice de cristalinidade do esmalte humano sadio e da hidroxiapatita sintética, encontrou índices com comportamento qualitativo semelhante para ambas as amostras, assim como este estudo. Os grupamentos presentes foram fosfato, carbonato e amida, que fazem parte da constituição normal dos dentes. A aplicação do gel com nano-hidroxiapatita e flúor não ocasionou a formação de um composto diferente, o que pode significar que a nanopartícula não interagiu ativamente com o esmalte, havendo apenas uma deposição mecânica [25, 26].

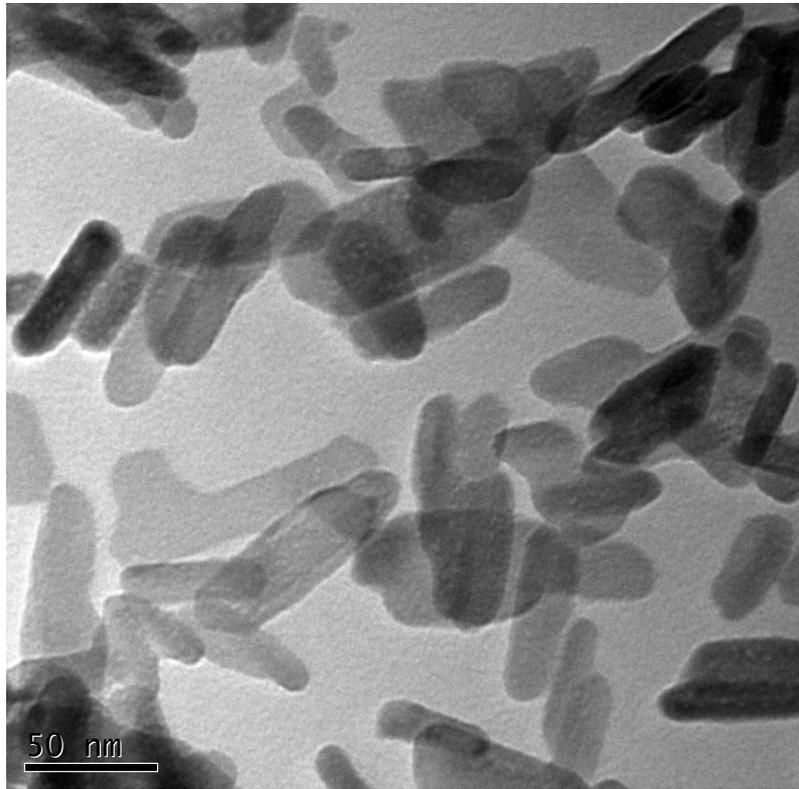
O efeito da nano-hidroxiapatita sobre a remineralização de lesões iniciais de cárie em esmalte, empregando um modelo de ciclagem de pH, foi confirmado; no entanto, o possível efeito sinérgico entre nano-hidroxiapatita e flúor não foi constatado através deste estudo. Em conclusão, o estudo demonstrou que os géis experimentais contendo nano-hidroxiapatita podem ser benéficos na promoção da remineralização.

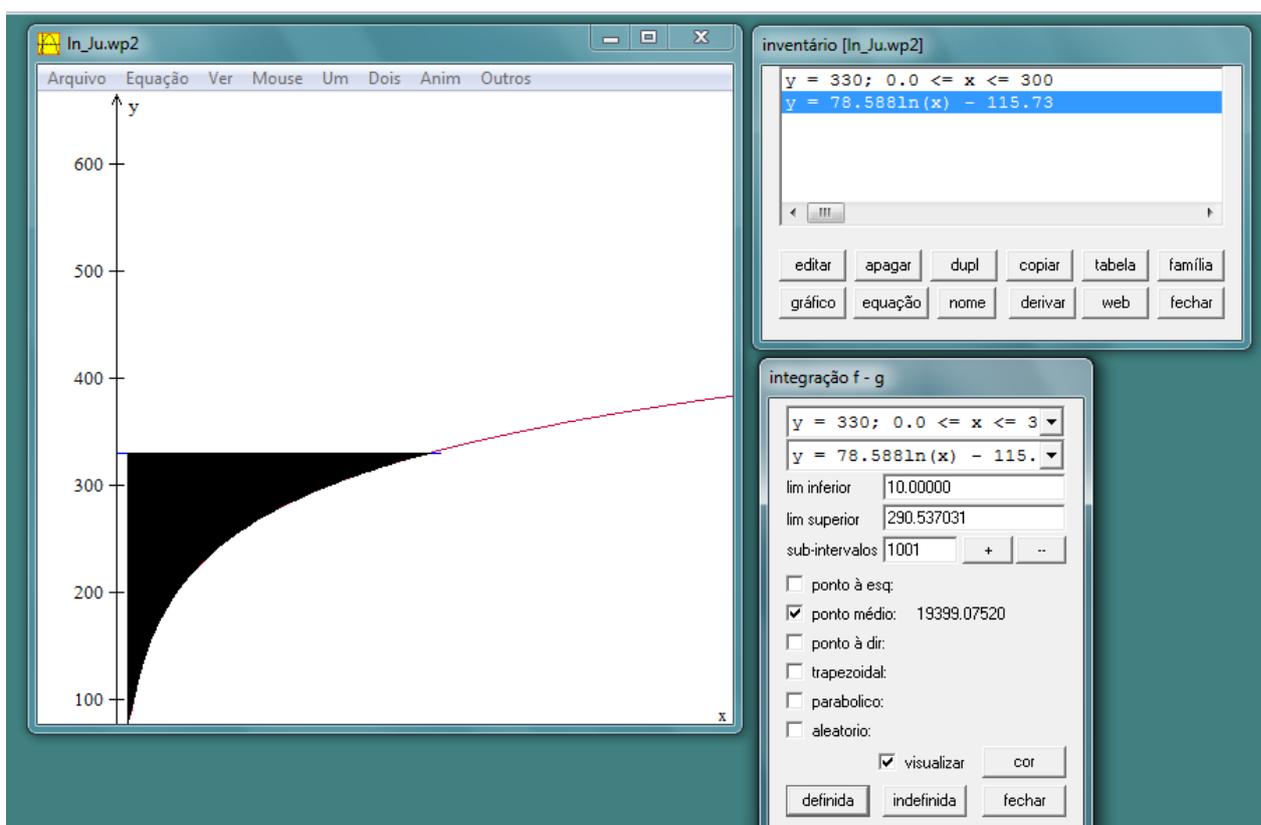
Referências

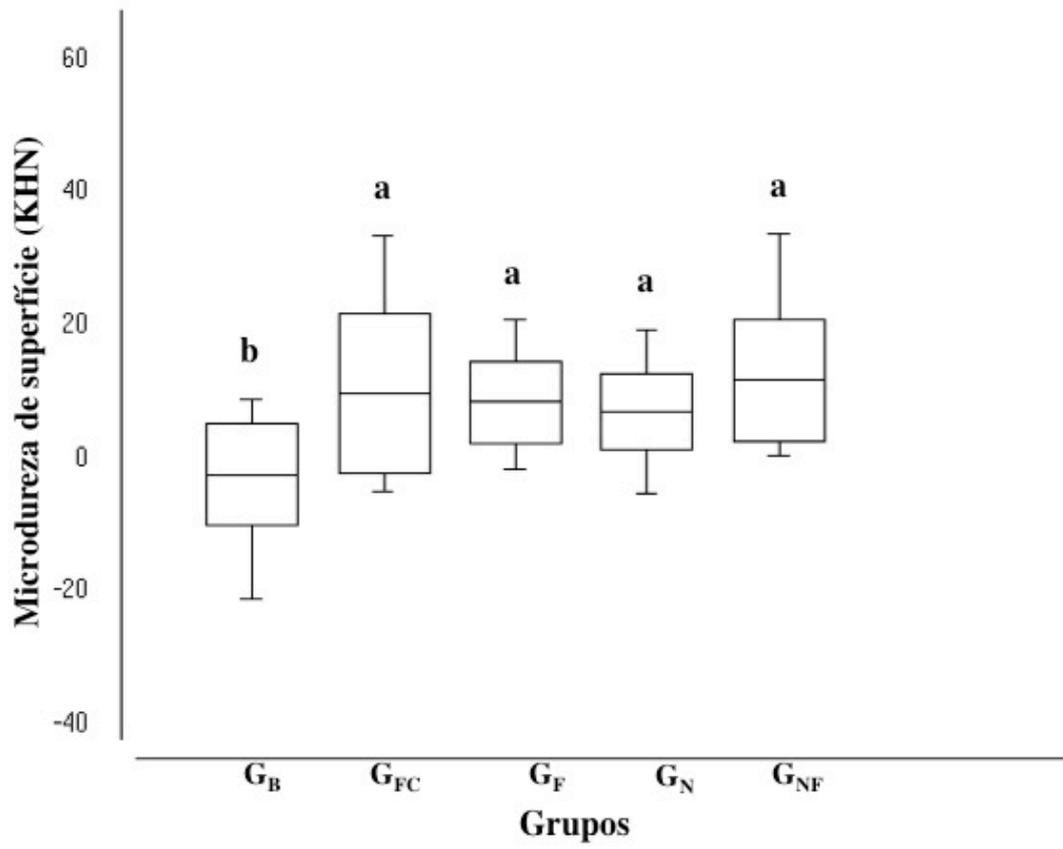
1. Marcenes W, Kassebaum NJ, Bernabé E, Flaxman A, Naghavi M, Lopez A, et al (2013) Global burden of Oral conditions in 1990-2010: A systematic analysis. *J Dent Res* 92(7):592-597.
2. Krichevsky MI, Keyes PH (1969) Considerations in designing a system for developing dental caries models. *Curr Mod Biol Nov*;3(2):202-10.
3. Tenuta LMA, Cury JA (2010) Fluoride: its role in dentistry. *Braz Oral Res* 24(Spec Iss 1):9-17.
4. Featherstone JD (1999) Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. *Community Dent Oral Epidemiol* 27(1), Feb:31-40.
5. Leites ACBR, Pinto MB, Sousa ERS (2006) Aspectos microbiológicos da cárie dental. *Salusvita, Bauru* 25(2):239- 252.
6. Mount GJ (2005) Defining, Classifying, and Placing Incipient Caries Lesions in Perspective. *Dent Clin North Am Oct*;49(4):701-23.
7. Cury JA, Tenuta LMA (2009) Enamel remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions? *Braz Oral Res* 23(Spec Iss 1):23-30.
8. Huang SB, Gao SS, Yu HY (2009) Effect Of Nano-Hydroxyapatite Concentration On Remineralization Of Initial Enamel Lesion In Vitro. *Biomed. Mater Jun*;4(3):034104. doi: 10.1088/1748-6041/4/3/034104.
9. Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbassa AM (2011) Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *J Dent* 39:430–437.
10. Passos VF, Vasconcelos AA, Pequeno JHP, Rodrigues LKA, Santiago SL (2015) Effect of commercial fluoride dentifrices against hydrochloric acid in an erosion-abrasion model. *Clin Oral Invest* 19:71–76.
11. Carvalho DM, Salazar M, Oliveira BH, Coutinho ESF (2010) O uso de vernizes fluoretados e a redução da incidência de cárie dentária em pré-escolares: uma revisão sistemática. *Rev Bras Epidemiol* 13(1): 139-49.
12. Morais FAI, Mello BA, Souza IA, Ponzi EAC, Revoredo GA (2007) Polímeros a base de metil metacrilato. Importância em Odontologia. *IJD* 6(2): 63-66.
13. Browne D, Whelton H, O'mullane D (2005) Fluoride metabolism and fluorosis. *J Dent.* 2005 Mar;33(3):177-86.
14. Huang S, Gao S, Cheng L, Yu H (2010) Combined effects of nano-hydroxyapatite and *Galla chinensis* on remineralisation of initial enamel lesion in vitro. *J Dent* 38:811–819.
15. Ten Cate JM (1990) In vitro Studies on the Effects of Fluoride on De- and Remineralization. *J Dent Res* 69(Spec Iss): 614-619, February.
16. Haghgoo R, Rezvani MB, Zeinabadi MS (2014) Comparison of Nano-Hydroxyapatite and Sodium Fluoride Mouthrinse for Remineralization of Incipient Carious Lesions. *J Dent (Tehran) Jul*; 11(4): 406–410.
17. Roveri N, Battistella E, Bianchi CL, Foltran I, Foresti E, Iafisco M, et al (2009) Surface Enamel Remineralization: Biomimetic Apatite Nanocrystals and Fluoride Ions Different Effects. *J N M.* doi: 10.1155/2009/746383.
18. Afonso RL, Pessan JP, Igreja BB, Cantagallo CF, Danelon M, Delbem ACB (2013) *In situ* protocol for the determination of dose-response effect of low-fluoride dentifrices on enamel remineralization. *J Appl Oral Sci.* 2013;21(6):525-532.
19. Molina GF, Costa de Almeida GR, de Souza Guerra C, Cury JA, de Almeida AP, Barroso RC, et al (2011) Lead Deposition in Bovine Enamel during a pH-Cycling Regimen Simulating the Caries Process. *Caries Res* 45:469–474.
20. Danelon M, Takeshita EM, Peixoto LC, Sasaki KT, Delbem ACB. Effect of fluoride gels supplemented with sodium trimetaphosphate in reducing demineralization. *Clin Oral Invest* (2014) 18: 1119-1127.
21. Lippert F, Hara AT, Martinez-Mier EA, Zero DT (2014) Laboratory Investigations Into the Potential Anticaries Efficacy of Fluoride Varnishes. *Pediatr Dent* 36(4) jul/aug.
22. Sa Y, Liang S, Ma X, Lu S, Wang Z, Jiang T, et al (2014) Compositional, structural and mechanical comparisons of normal enamel and hypomaturation enamel. *Acta Biomater* 10:5169–5177.
23. Huang S, Gao S, Cheng L, Yu H (2011) Remineralization Potential of Nano-Hydroxyapatite on Initial Enamel Lesions: An in vitro Study. *Caries Res* 45:460–468.
24. Reyes-Gasga J, Martínez-Piñeiro EL, Rodríguez-Álvarez G, Tiznado-Orozco GE, García-García R, Brès EF (2013) XRD and FTIR crystallinity indices in sound human tooth enamel and synthetic hydroxyapatite. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2013 Dec 1;33(8):4568-74.
25. Tang B, Yuan H, Cheng L, Zhou X, Huang X, Li J (2015) Effects of gallic acid on the morphology and growth of hydroxyapatite crystals. *Arch Oral Biol* 60:167–173.

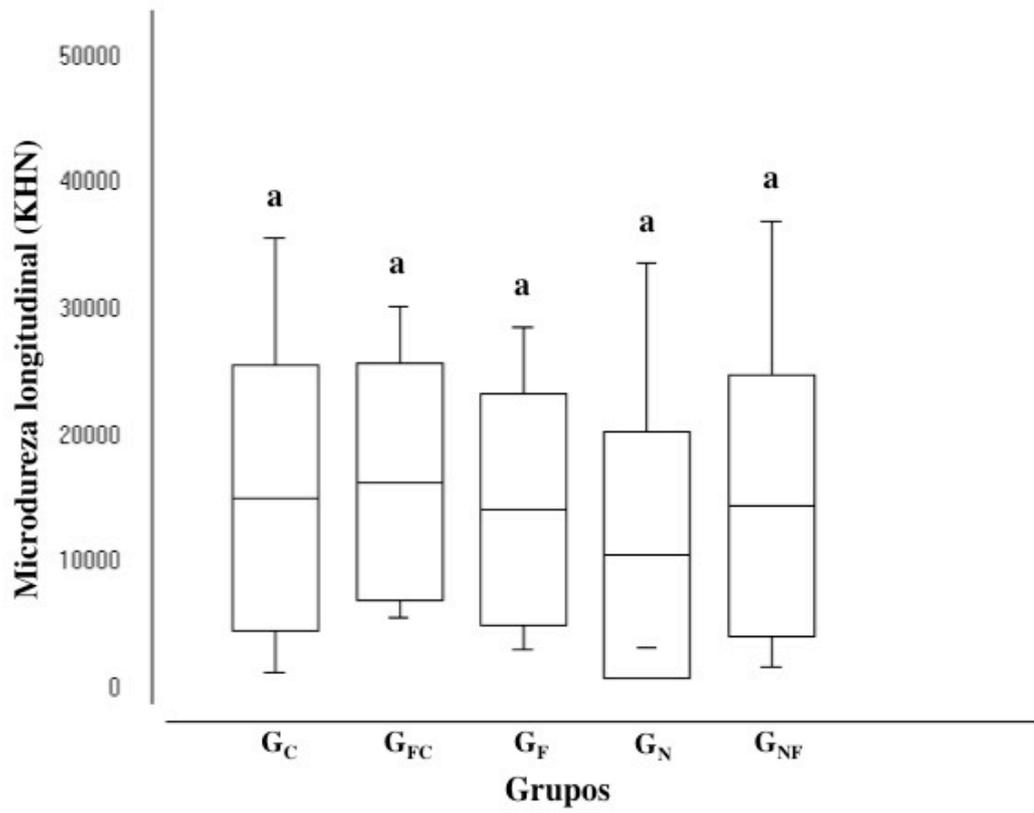
26. Sadat-Shojai M, Atai M, Nodehi A, Khanlar LN (2010) Hydroxyapatite nanorods as novel fillers for improving the properties of dental adhesives: Synthesis and application. *Dent Mater* 26:471–482.

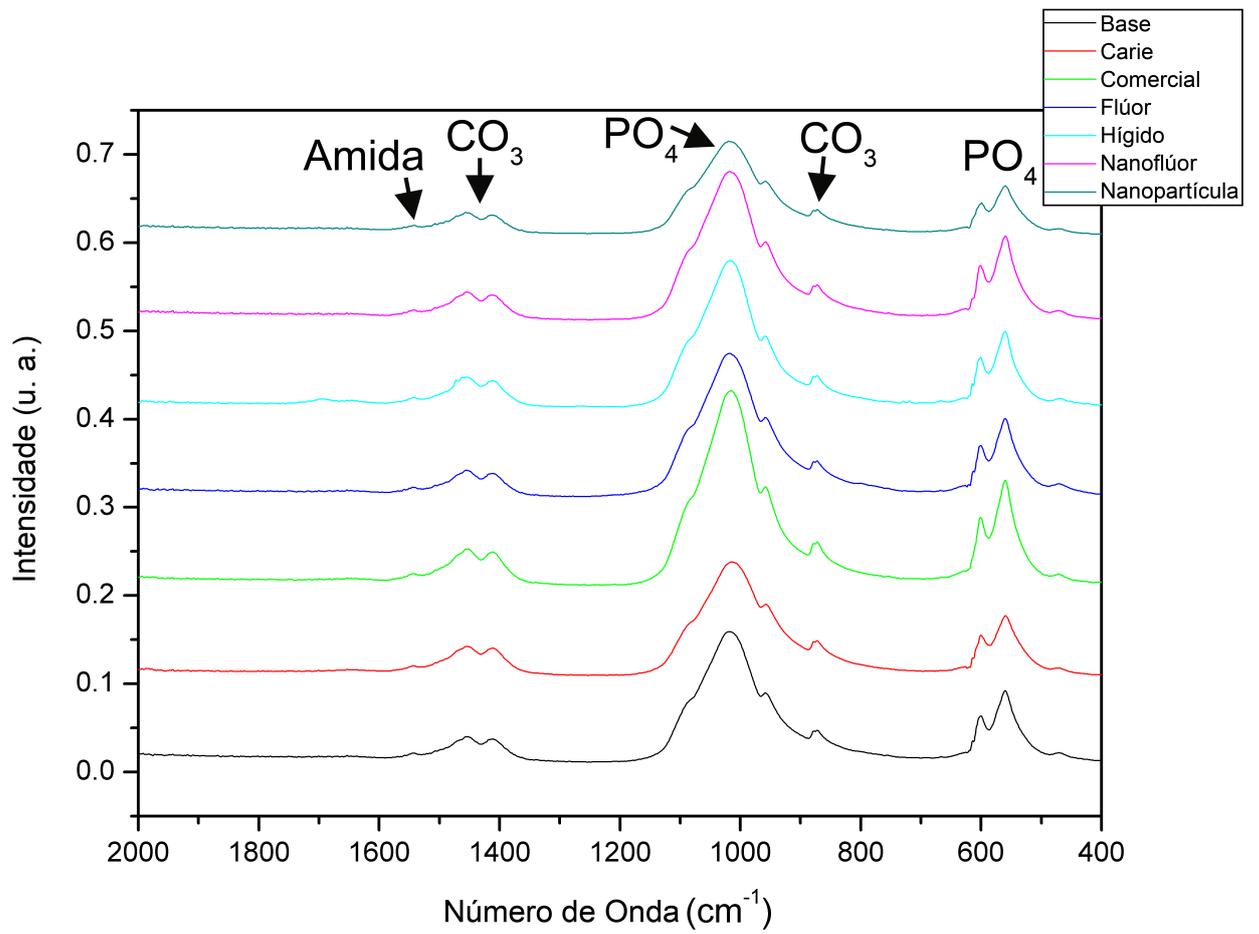


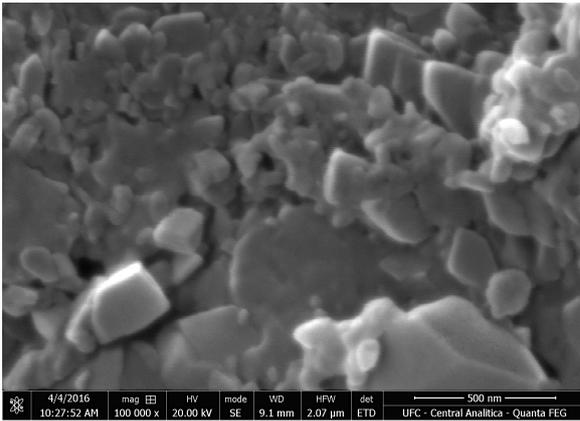
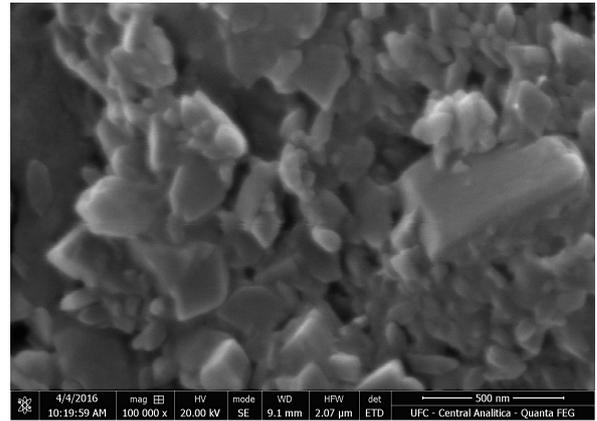
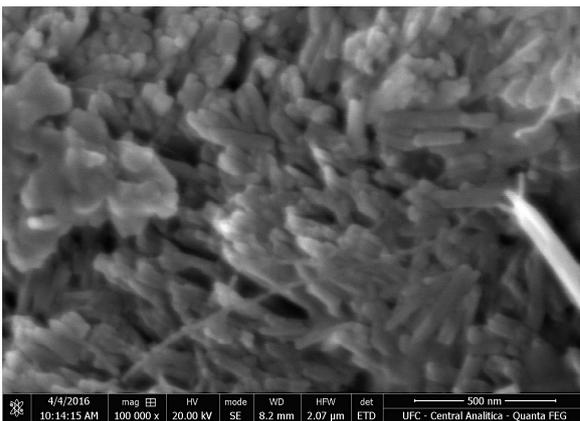
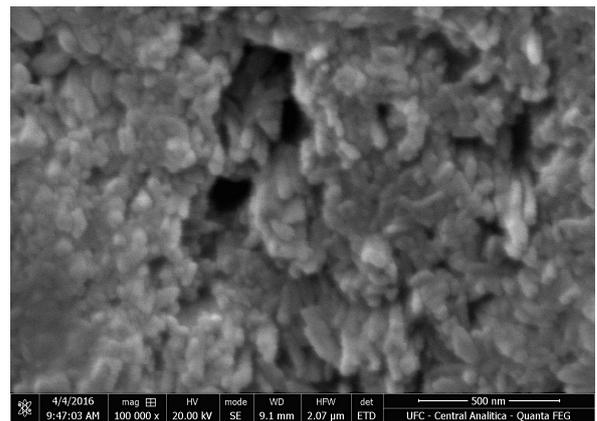
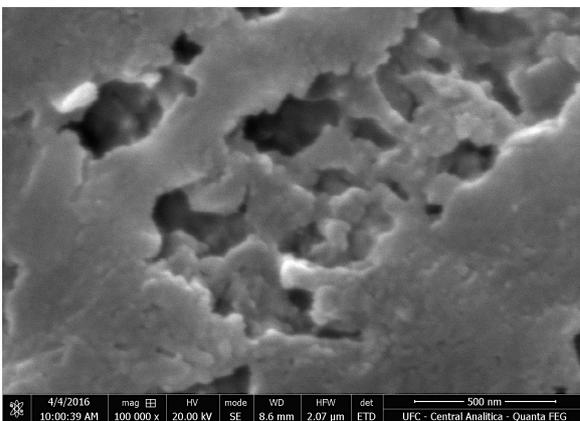










a) Gel fluoretado experimental (G_F)b) Gel fluoretado comercial (G_{FC})c) Gel experimental nano-hidroxiapatita (G_N)d) Gel experimental nano-hidroxiapatita e flúor (G_{NF})e) Gel experimental sem flúor e sem nano-hidroxiapatita (G_C)

4 CONCLUSÕES GERAIS

1. Os géis foram eficazes na remineralização das lesões iniciais de cárie em esmalte.
2. A associação de nano-hidroxiapatita e flúor não proporcionou efeito sinérgico.

REFERÊNCIAS

- ALVES, O.L. Nanotecnologia, nanocência e nanomateriais: quando a distância entre presente e futuro não é apenas questão de tempo. **Parcerias Estratégicas**. Aug; n.18, 23-40, 2004.
- BAKRY, A. S. et al. Evaluation of new treatment for incipiente enamel desmineralization using 45S5 bioglass. **Dent Mater**. Mar; v. 30, n. 3, p. 314-320, 2014.
- BROWNE, D.; WHELTON, H.; O'MULLANE, D. Fluoride metabolism and fluorosis. **J Dent**. Mar; v. 33, n. 3, p. 177-186, 2005.
- CURY, J. A.; TENUTA, L. M. Enamel remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions? **Braz Oral Res**. v. 23 Suppl 1, p. 23-30, 2009.
- FEATHERSTONE, J. D. B. et al. **Enhancement of remineralization in vitro and in vivo**. In: Leach, S.A. Factors relating to demineralization and remineralization of the teeth. Oxford: IRL Press, p. 23-34, 1986
- FEJERSKOV, O.; KIDD, E. **Cárie dentária: a doença e seu tratamento clínico**. 1. ed. São Paulo: Santos, 2005.
- HICKS, J.; GARCIA-GODOY, F.; FLAITSZ, C. Biological factors in dental caries: role of remineralization and fluoride in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 3). **J Clin Pediatr Dent** v. 28, p. 203-214, 2004
- HUANG, S. et al. Combined effects of nano-hydroxyapatite and *Galla chinensis* on remineralisation of initial enamel lesion in vitro. **Journal of Dentistry**, v. 38, p. 811–819, 2010.
- KIDD, E. A.; FEJERSKOV, O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. **J Dent Res**. v. 83: C35-8. 2004.
- KRICHEVSKY, M. I.; KEYES, P. H. Considerations in designing a system for developing dental caries models. **Curr Mod Biol**. Nov v. 3, n. 2, p. 202-210, 1969.
- LIMA, Y. B.; CURY, J. A. Fluoride intake by children from water and dentifrice. **Rev Saude Publica** v. 35, p. 576-581, 2001.
- MELO, M. A. et al. Nanotechnology-based restorative materials for dental caries management. **Trends Biotechnol**, v. 31, n. 8, p. 459-67, Aug. 2013.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **SB Brasil 2010: Pesquisa Nacional de Saúde Bucal: resultados principais** / Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde – Brasília: Ministério da Saúde, 2012.
- MITRA, S. B.; WU, D.; HOLMES, B. N. An application of nanotechnology in advanced dental materials. **Journal of the American Dental Association**, v. 134, p. 1382–1390, 2003.

MOSZNER, N.; SALZ, U. **Recent developments of new components for dental adhesives and composites Macromolecular**. *Materials and Engineering*, v.292, p245–271, 2007.

NEWBRUNE, E. **Cariology**. Baltimore: Williams & Wilkins, p. 326, 1978.

ROVERI, N. et al. Surface Enamel Remineralization: Biomimetic Apatite Nanocrystals and Fluoride Ions Different Effects. **Journal of Nanomaterials**,v.1, n.18, 2009.

STRUZYCKA, I. The oral microbiome in dental caries. **Pol J Microbiol**, v. 63, n. 2, p. 127-135, 2014.

TEN CATE, J. M. In vitro Studies on the Effects of Fluoride on De- and Remineralization. **J Dent Res**, v. 69 (Spec Iss), p. 614-619, Feb, 1990.

TENUTA, L. M. A.; CURY, J. A. Fluoride: its role in dentistry. **Braz Oral Res**, v. 24 (Spec Iss 1), p. 9-17, 2010.

TSCHOPPE, P. et al. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. **Journal of Dentistry**, v. 39, p. 430–437, 2011.

ZACH, M. et al. Nanoscience and nanotechnology for advanced energy systems. **Curr Opin Solid St M**, v.10, n.3-4, p.132-143, 2006.

ANEXOS

ANEXO A - ARTIGO 46 DO REGIMENTO INTERNO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM

§2º - No caso de não cumprimento do prazo estipulado no §1º, o orientador deverá encaminhar, antes de seu vencimento e ouvido o aluno, solicitação de ampliação do prazo, mediante justificativa e descrição da etapa de desenvolvimento do projeto.

§3º - O aluno que não obtiver aprovação no Exame Geral de Conhecimentos, terá direito à nova oportunidade, desde que respeitados os artigos 4 e 5 das Normas para os Cursos de Pós-Graduação da UFC.

§4º - O aluno só poderá defender a Dissertação após aprovação no Exame Geral de Conhecimentos de que trata este artigo.

Artigo 46 – As dissertações apresentadas ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará poderão ser produzidas em formato alternativo ou tradicional. O formato alternativo estabelece: a critério do orientador e com a aprovação da Coordenação do Programa, que os capítulos e os apêndices poderão conter cópias de artigos de autoria ou co-autoria do candidato, publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas, escritos no idioma exigido pelo veículo de divulgação.

§1º - O orientador e o candidato deverão verificar junto às editoras a possibilidade de inclusão dos artigos na dissertação ou tese, em atendimento à legislação que rege o direito autoral, obtendo, se necessária, a competente autorização, deverão assinar declaração de que não estão infringindo o direito autoral transferido à editora.

§2º - A dissertação em formato tradicional ou as sessões gerais do formato alternativo deverão seguir as normas preconizadas pelo Guia para Normalização de Trabalhos Acadêmicos da Biblioteca Universitária disponível no site <http://www.biblioteca.ufc.br/servicos.html#apoio>. As partes específicas do formato alternativo deverão ser feitas em concordância com o *MANUAL DE NORMALIZAÇÃO PARA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO E TESE DE DOUTORADO NO FORMATO ALTERNATIVO do PPGO*.

Artigo 47 – Para cada aluno deverá ser constituída uma banca examinadora, que será formada por 03 (três) professores ou especialistas, com o título de Doutor, como membros efetivos e dois suplentes.

§1º - Os membros da banca examinadora de que trata o *caput* deste artigo constituirão a Comissão Julgadora, cuja presidência caberá ao orientador da Dissertação.

§2º - Dentre os membros efetivos da banca examinadora, 01 (um) deverá ser professor ou especialista de outra Instituição, com título de Doutor, sugerido pelo orientador e homologado pela Coordenação do Programa.

§3º - Dentre os membros suplentes da banca examinadora, 01 (um) deverá ser professor ou especialista de outra Instituição, com título de Doutor, sugerido pelo orientador e homologado pela Coordenação do Programa.

§4º - Quando na orientação da dissertação houver a participação de co-orientador, este não poderá participar da banca examinadora.

ANEXO B - REVISTA CLINICAL ORAL INVESTIGATIONS - INSTRUÇÕES

Clinical Oral Investigations – incl. option to publish open access <http://www.springer.com/medicine/dentistry/journal/784?print...>

Medicine - Dentistry | Clinical Oral Investigations – incl. option to publish open access



www.springer.com

Dentistry Home > Medicine > Dentistry

SUBDISCIPLINES JOURNALS BOOKS SERIES TEXTBOOKS REFERENCE WORKS



Clinical Oral Investigations

Editors-in-Chief: G. Schmalz; M. Hannig

ISSN: 1432-8661 (print version)

ISSN: 1438-3771 (electronic version)

Journal no. 784



\$99.00 Personal Rate e-only for the Americas

[Get Subscription](#)

Online subscription, valid for one calendar year

Immediate Content Access via SpringerLink

1 Volumes with 9 issues per year

Subscription will auto-renew for another year unless duly terminated

[FAQ & Policy](#)

[ABOUT THIS JOURNAL](#) [EDITORIAL BOARD](#) [SOCIETIES](#) [ETHICS & DISCLOSURES](#)
[INSTRUCTIONS FOR AUTHORS](#)

Instructions for Authors

TYPES OF PAPERS

Papers may be submitted for the following sections:

- Original articles
- Invited reviews
- Short communications
- Letters to the editor

It is the general policy of this journal not to accept case reports and pilot studies.

EDITORIAL PROCEDURE

If you have any questions please contact:

Prof. Dr. G. Schmalz
 University of Regensburg
 Department of Conservative Dentistry and Periodontology