

Bárbara Filipa Ferreira Cerqueira

Fosfopeptídeos de caseína – fosfato de cálcio amorfo
no tratamento de lesões de cárie iniciais

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde
Porto, 2017

Bárbara Filipa Ferreira Cerqueira

Fosfopeptídeos de caseína – fosfato de cálcio amorfo
no tratamento de lesões de cárie iniciais

*Trabalho apresentado à
Universidade Fernando Pessoa como
parte dos requisitos para obtenção do
grau de Mestre em Medicina Dentária*

(Bárbara Filipa Ferreira Cerqueira)

RESUMO

Introdução: A progressão das lesões de cárie iniciais é geralmente lenta, podendo ser controlada ou revertida, antes da cavitação. O complexo fosfopeptídeos de caseína - fosfato de cálcio amorfo tem demonstrado potencial anticariogénico ao induzir um estado de supersaturação de íons cálcio e fosfato na superfície dentária, íons estes que podem difundir-se em profundidade nas lesões cariosas subsuperficiais, promovendo assim a remineralização e prevenindo a sua desmineralização.

Objetivo: Com este trabalho pretendeu-se realizar uma revisão bibliográfica narrativa sobre a ação do complexo fosfopeptídeos de caseína - fosfato de cálcio amorfo no tratamento de lesões de cárie iniciais.

Metodologia: Procedeu-se a uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados PubMed, Elsevier, Scielo e Research Gate, utilizando as palavras-chave: “casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate”, “remineralization”, “initial caries lesions” e “efficacy”. Depois de aplicados os critérios de inclusão/exclusão definidos foram revistos 40 artigos.

Palavras-chave: “caseína”, “remineralização”, “lesões de cárie iniciais”, “fosfato de cálcio amorfo”.

ABSTRACT

Introduction: The progression of early caries lesions is usually slow and can be controlled or reversed prior to cavitation. The casein phosphopeptide - amorphous calcium phosphate complex has shown an anticariogenic potential by inducing a state of supersaturation of calcium and phosphate ions on the dental surface, these ions can even diffuse in depth into the subsurface carious lesions, being able to promote remineralization and prevent remineralization.

Objective: This work aimed to performed a narrative bibliographic review on the action of the casein phosphopeptide - amorphous calcium phosphate complex in the treatment of initial caries lesions.

Methods: A bibliographic search was carried out in the PubMed, Elsevier, Scielo and Research Gate databases, using as keywords: “casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate”, “remineralization”, “initial caries lesions” and “ efficacy”. After applying the inclusion/exclusion criteria defined by the author 40 articles were reviewed.

Keywords: "casein", "remineralization", "initial caries lesions", "amorphous calcium phosphate".

Dedicatória

Aos meus pais, por serem o meu grande pilar e a minha maior motivação.

Aos meus avós, que sempre acreditaram em mim e sem eles nada seria possível.

Aos meus verdadeiros amigos, que partilharam comigo estes 5 anos incríveis.

Agradecimentos

À minha família, pelo amor incondicional, todo o apoio e educação que me deram, que fazem de mim quem sou hoje.

Às minhas grandes amigas, pelos momentos memoráveis que partilhámos e pela amizade que construímos.

À minha orientadora, Mestre Manuela Crespo, por toda a ajuda e disponibilidade, pela simpatia, conhecimento e profissionalismo.

Aos docentes da Universidade Fernando Pessoa, por todo o conhecimento que me transmitiram.

ÍNDICE GERAL

Índice de Tabelas.....	X
Lista de Abreviaturas e Acrónimos.....	XI
I. INTRODUÇÃO.....	1
1. Materiais e métodos.....	1
II. DESENVOLVIMENTO.....	2
1. Cárie Dentária.....	2
1.i. Lesões de cárie iniciais.....	2
1.ii. Etiologia.....	3
1.iii. Prevalência.....	4
1.iv. Diagnóstico.....	4
2. Sistema CPP-ACP.....	5
2.i. Obtenção de CPP.....	7
2.ii. Mecanismo de ação.....	7
3. CPP-ACP e o Flúor.....	9
4. Tratamento de lesões de cárie iniciais com CPP-ACP e CPP-ACFP.....	10
III. DISCUSSÃO.....	11
IV. CONCLUSÃO.....	14
VI. BIBLIOGRAFIA.....	15
V. ANEXOS.....	19

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Estudos clínicos que avaliam a regressão das lesões de cárie iniciais não associadas a tratamento ortodôntico (adaptada de Cochrane & Reynolds, 2012).

Tabela 2 – Estudos clínicos que avaliam a regressão das lesões de cárie iniciais associadas a tratamento ortodôntico (adaptada de Cochrane & Reynolds, 2012).

Lista de Abreviaturas e Acrónimos

ACP – fosfato de cálcio amorfo (Amorphous Calcium Phosphate)

ACFP – fluorfosfato de cálcio amorfo (Amorphous Calcium Fluoride Phosphate)

CPP – fosfopéptido de caseína (Casein Phosphopeptide)

Glu – glutamato

HA – hidroxiapatite

ICDAS – International Caries Detection and Assessment System

min – minutos

mM – milimolar

NaF – fluoreto de sódio

pH – potencial hidrogeniônico

ppm – partes por milhão

Ser(P) – serina fosforilada

S. mutans – *Streptococcus mutans*

S. sobrinus – *Streptococcus sobrinus*

I. INTRODUÇÃO

A superfície dentária está constantemente sujeita a ciclos de remineralização e desmineralização devido a variações de pH intra-oral. Quando ocorre um desequilíbrio destes ciclos devido a uma descida do pH, ocorre destruição da estrutura dentária, ou seja, desmineralização. Neste processo, são eliminados constituintes minerais do dente, principalmente íons cálcio e fosfato. Nos estádios iniciais, sem evidência de cavitação, a lesão é reversível e a sua progressão relativamente lenta. Quando criadas condições favoráveis que permitam a remineralização, estas lesões podem ser revertidas através da reconstituição da estrutura molecular da hidroxiapatite (HA) pela difusão de íons de cálcio e fosfato para o corpo da lesão (Gurunathan et al., 2012; Guçlu et al., 2016; Kudiyirickal et al., 2008).

Em medicina dentária, particularmente em Odontopediatria, pretende-se que haja uma máxima conservação da estrutura dentária durante os tratamentos. Torna-se, então, fundamental utilizar técnicas de tratamento não invasivas no que respeita a lesões de cárie iniciais, tendo assim, a remineralização como princípio (Costa et al., 2009).

O complexo fosfopeptídeos de caseína - fosfato de cálcio amorfo, conhecido como CPP-ACP, é um agente remineralizante com uma notável capacidade de aumentar os níveis de íons cálcio e fosfato no meio oral e manter um estado de supersaturação dos mesmos relativamente ao esmalte do dente. Deste modo, impulsiona eficazmente o processo de remineralização e diminui o processo de desmineralização (Divyapriya et al., 2016; Cochrane & Reynolds, 2012).

Os seus efeitos remineralizantes e potencial anticariogénico têm sido demonstrados em estudos em humanos, em modelos animais e *in vitro* (Munjal et al., 2016; Costa et al., 2009; Cochrane & Reynolds, 2012).

Com este trabalho, pretendeu-se realizar uma revisão narrativa sobre a aplicação e eficácia do complexo fosfopeptídeos de caseína - fosfato de cálcio amorfo no tratamento de lesões de cárie iniciais.

1. Materiais e métodos

De Janeiro a Junho de 2017, procedeu-se a uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados PubMed, Elsevier, Scielo e Research Gate, utilizando as palavras-chave: “casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate”, “remineralization”, “initial caries lesions”, e “efficacy”, separadas ou associadas pelo operador Booleano *AND*.

A pesquisa referida teve como limites: publicações a partir do ano 2000; estudos em humanos; *abstract* disponível e artigos em língua inglesa, portuguesa e espanhola. Desta

pesquisa resultaram 83 artigos. Destes, foram excluídos casos clínicos, estudos em dentição decídua, em modelos animais e *in vitro*, artigos não disponíveis de forma gratuita e artigos que depois da leitura do *abstract* e/ou da leitura integral não se revelaram relevantes para o tema em questão. Foram considerados para este trabalho artigos de revisão narrativa e sistemática, *guidelines*, estudos observacionais e ensaios clínicos. Resultando 40 artigos para revisão.

II. DESENVOLVIMENTO

1. Cárie Dentária

A cárie dentária é uma doença crônica infecciosa de origem bacteriana e é, nos dias de hoje, a doença crônica mais prevalente em todo o mundo (Gomez J., 2014). Em 2003, a Organização Mundial de Saúde constatou que a cárie dentária era o maior problema de saúde pública na maioria dos países industrializados, afetando 60 a 90% das crianças em idade escolar e quase 100% dos adultos (Pereira et al., 2014).

Trata-se de uma doença complexa devido ao seu caráter multifatorial. O biofilme e a presença de hidratos de carbono fermentáveis são considerados os principais fatores determinantes no processo patológico (Farroq et al., 2013; Melo et al., 2015).

1.i. Lesões de cárie iniciais

As lesões de cárie iniciais, também designadas como *white spot lesions*, definem-se como uma desmineralização/porosidade subsuperficial ou superficial do esmalte, sem ocorrência de cavitação, causada por um desequilíbrio entre os processos de remineralização e desmineralização (Beerens et al., 2010; Costa et al., 2009; Kudiyirickal et al., 2008).

Estas manifestações correspondem aos primeiros estádios da cárie dentária e são reversíveis através do processo de remineralização. Caracterizam-se clinicamente por terem uma aparência branca opaca com uma superfície rugosa e porosa. Localizam-se, geralmente, em superfícies lisas podendo surgir também em sulcos e fissuras (Vashisht et al., 2013; Biria & Jafary, 2015).

1.ii. Etiologia

A placa bacteriana, presente na superfície do dente, é constituída por uma grande diversidade de microrganismos, entre eles, bactérias acidogénicas que têm a capacidade de metabolizar os hidratos de carbono fermentáveis provenientes da alimentação e produzir ácidos, sobretudo ácido láctico, que se difundem através da superfície do dente levando à dissolução de cristais de HA. Os *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) e *Streptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*) são as principais bactérias responsáveis pelo desenvolvimento das lesões de cárie, estando os *Lactobacillus* particularmente relacionados com a progressão da lesão, uma vez que são capazes de sobreviver e proliferar em meios ácidos (Costa et al., 2009; Kudiyirickal et al., 2008).

Com a ingestão frequente de alimentos açucarados e a carência de uma higiene oral eficaz, surgem condições ideais para a proliferação e ação destas bactérias cariogénicas, que ao metabolizarem os hidratos de carbono fermentáveis, produzem ácidos que se difundem através da placa bacteriana e da superfície dentária, dissolvendo a parte mineral do esmalte (Melo et al., 2015; Pereira et al., 2014).

A saliva, tem uma capacidade tamponante importante graças a dois sistemas tampão que apresenta, o sistema ácido carbónico/bicarbonato e o sistema fosfato inorgânico. Estes sistemas são capazes de contrariar as descidas de pH e prevenir assim a desmineralização. Além disso, a saliva apresenta na sua constituição iões cálcio e fosfato. Com os níveis de pH repostos, a saliva encontra-se saturada destes iões, tendo a capacidade de promover a remineralização dos cristais de HA. No entanto, quando as descidas de pH se tornam frequentes e acentuadas, ocorre um desequilíbrio entre os processos de remineralização e desmineralização e a ação da saliva deixa de ser suficiente para prevenir a desmineralização. A um pH crítico, igual ou inferior a 5.5, os iões hidrogénio resultantes do metabolismo bacteriano, reagem com os grupos fosfato dos cristais de HA, provocando a libertação dos iões cálcio e fosfato desses cristais e a sua consequente desmineralização (Pishehvar et al., 2015; Pereira et al., 2014; Melo et al., 2015).

O agravamento dos fenómenos de desmineralização afeta diretamente a estrutura histológica do dente, principalmente a porosidade intrínseca, condicionando fortemente a evolução da lesão. Quando estas condições de acidez se mantêm, amplificam a desmineralização e surgem as lesões cavitadas (Melo et al., 2015). A reparação tecidual de uma lesão cavitada não é possível através da remineralização, apesar da possibilidade de ocorrer precipitação de fosfatos de cálcio sobre as paredes da cavidade. Já a lesão inicial, ou seja, não cavitada, quando diagnosticada precocemente, pode ser tratada através de agentes remineralizantes (Pereira et al., 2014; Melo et al., 2015).

1.iii. Prevalência

Não foram encontrados estudos da prevalência das lesões de cárie iniciais na população em geral. Nos indivíduos sujeitos a tratamento ortodôntico, a prevalência encontrada variou entre 2 a 96%, dependendo da população estudada (Beerens et al., 2010; Lapenaite et al., 2016; Biria & Jafary, 2015; Munjal et al., 2016). A elevada prevalência de lesões de cárie iniciais nestes indivíduos é explicada devido à presença de bandas, arcos, ligaduras, brackets, entre outros dispositivos associados às estruturas dentárias, que aumentam a retenção de placa bacteriana e restos de alimentos, dificultando a higienização (Biria & Jafary, 2015).

Os dentes com maior incidência destas lesões são os incisivos laterais maxilares, caninos mandibulares e primeiros pré-molares e as regiões mais frequentemente afetadas são o terço cervical e o terço médio das superfícies vestibulares (Chapman e Derks *cit. in* Biria & Jafary, 2015).

A remoção do aparelho associada a uma boa higiene oral favorece a remineralização das lesões, contudo, parece ser insuficiente para uma completa remineralização (Beerens et al., 2010). Segundo um ensaio clínico de Beerens et al. (2010), após a remoção do aparelho ortodôntico a maioria das lesões permaneceram inalteradas e cerca de 10% progrediram severamente. Mais de 97% das lesões permaneceram como cicatrizes permanentes (Beerens et al., 2010).

1.iv. Diagnóstico

A necessidade de uma classificação da gravidade das lesões de cárie uniformizada entre profissionais levou ao desenvolvimento do *Internacional Caries Detection and Assessment System II* (ICDASII), um sistema padronizado que quantifica a severidade das lesões de cárie através de um código numérico: 0 – superfície dentária saudável; 1 – alteração primária de esmalte visível; 2 – alteração distinta de esmalte visível; 3 – destruição localizada no esmalte sem dentina visível; 4 – sombra na dentina subjacente sem cavidade de dentina; 5 – cavidade distinta com dentina visível; 6 – cavidade extensa com dentina visível. As lesões de cárie iniciais, correspondem aos códigos 1 e 2 do ICDAS (Ismail *cit. in* Gomez, 2015).

O diagnóstico clínico e radiográfico são os meios de diagnóstico da cárie dentária mais utilizados (Gomez, 2015). O diagnóstico clínico fundamenta-se no exame visual e tátil. O exame visual deve ser executado sob condições adequadas de iluminação, com a superfície do dente limpa (ausência de biofilme e de outros resíduos) e seca, para que as alterações de cor e textura da superfície dentária, associadas às lesões de cárie iniciais, se tornem mais evidentes

(Gomez, 2015; Santos et al., 2003). O método tátil, é realizado através da sondagem das superfícies dentárias. Hoje em dia, a sondagem das lesões de cárie, especialmente das lesões de cárie iniciais, não é muito consensual devido à possibilidade de, com a sonda, lesar a superfície do esmalte já desmineralizado (Santos et al., 2003). Os exames radiográficos, constituem um bom meio auxiliar de diagnóstico de cáries iniciais, especialmente as radiografias de *bitewing*, que são essenciais para a detecção e monitorização destas lesões nas superfícies interproximais.

Existem também critérios ICDAS para avaliação e classificação radiográfica da gravidade das lesões de cárie: 0 – sem radiotranslucidez; 1 – radiotranslucidez no 1/2 exterior do esmalte; 2 – radiotranslucidez no 1/2 interno do esmalte até junção amelodentinária; 3 – radiotranslucidez limitada ao 1/3 externo da dentina; 4 – radiotranslucidez atingindo 1/3 médio da dentina; 5 – radiotranslucidez atingindo 1/3 interno da dentina, clinicamente cavitada; 6 – radiotranslucidez na polpa, clinicamente cavitada. As lesões passíveis de serem remineralizadas correspondem aos códigos 1 e 2 (Ismail *cit in*. Gomez, 2015; Santos et al., 2003).

A subjetividade inerente ao exame visual é um facto incontornável, daí a importância da padronização do exame para um melhor diagnóstico e planeamento do tratamento. Assim, foram desenvolvidos outros meios auxiliares de diagnóstico de cárie, como: laser fluorescente (DIAGNOdent®); laser fluorescente quantitativo (QLF); transiluminação por fibra ótica (FOTI); monitor eletrónico de cárie (ECM®); laser fluorescente evidenciado por corante (DELF); tomografia de coerência ótica (OCT) e radiometria fototérmica de domínio de frequência (FD-PTR) (Gomez, 2015; Santos et al., 2003; Kudiyirickal et al., 2008).

No entanto, não é objetivo deste trabalho explorar estas técnicas pois desviar-se-ia do tema central, que é o tratamento medicamentoso de lesões de cárie iniciais com CPP-ACP.

2. Sistema CPP-ACP

No passado, o uso clínico de iões cálcio e fosfato para a remineralização de lesões de cárie iniciais não teve sucesso devido à baixa solubilidade destes iões, o que os torna instáveis e de rápida precipitação, particularmente na presença de iões flúor (Reynolds, 2009).

Segundo Reynolds (2009), os fosfatos de cálcio insolúveis são pouco eficazes pois não se dispõem eficazmente na superfície dentária e requerem meio ácido para solubilizar e produzir iões capazes de se difundirem para o interior das lesões de cárie subsuperficiais. Por outro lado, os fosfatos de cálcio solúveis só podem ser utilizados em concentrações muito baixas e também não se dispõem na superfície dentária, nem se incorporam na placa bacteriana em quantidade suficiente para gerar um gradiente de concentração eficaz, e assim, induzir a difusão de iões no

esmalte subsuperficial. Posto isto, conclui-se que é essencial a estabilização dos iões cálcio e fosfato para que estes não precipitem e fiquem biodisponíveis na saliva, em quantidade suficiente, para se poderem incorporar no esmalte desmineralizado (Reynolds, 2009).

Na saliva, os iões cálcio e fosfato encontram-se estabilizados pelas fosfoproteínas salivares, que impedem a sua precipitação sob a forma de cálculo e favorecem a sua incorporação nas lesões com défice mineral, proporcionando a remineralização dos cristais de HA. Contudo, a remineralização através dos iões presentes na saliva é um processo lento e insuficiente, com a tendência para o ganho mineral ocorrer apenas na camada superficial da lesão de cárie, devido ao gradiente de concentração dos iões da saliva para o interior da lesão ser fraco. Deste modo, é necessária remineralização adicional por iões cálcio e fosfato extrínsecos, para aumentar a capacidade remineralizante natural da saliva (Cochrane et al., 2010; Reynolds 2009).

Assim, uma nova técnica de remineralização através de fosfato de cálcio foi desenvolvida: o sistema fosfato de cálcio amorfo estabilizado pelos fosfopeptídeos de caseína. Esta tecnologia consiste num sistema de remineralização biomimético, que procura replicar as propriedades estabilizadoras das fosfoproteínas da saliva, utilizando os fosfopeptídeos de caseína (Cochrane et al., 2010; Reynolds 2009).

O complexo CPP-ACP, graças à capacidade de estabilizar iões cálcio e fosfato, funciona como um reservatório de cálcio e fosfato que se liga prontamente à placa bacteriana e à estrutura dentária. Desta forma, promove um estado de supersaturação destes iões, possibilitando um gradiente de concentração favorável à difusão dos mesmos para a subsuperfície do esmalte e a remineralização das lesões de cárie (Gurunathan et al., 2012).

Patenteado com o nome RecaldentTM, pela Universidade de Melbourn, o sistema CPP-ACP foi considerado pela *Food and Drug Administration* (FDA) como “Generally Recognized as Safe”, podendo ser incorporado em produtos dentários e alimentares (Kecik D, 2016; Cochrane et al., 2010). Foi então incorporado em pastilhas elásticas, pastas dentífricas, colutórios, drageias, cremes tópicos, sprays, bebidas energéticas, entre outros (Divyapriya et al., 2016).

Foi também desenvolvido o complexo CPP-ACFP (CPP-fluorfosfato de cálcio amorfo), uma vez que os fosfopeptídeos de caseína revelaram também a capacidade de interagir de forma vantajosa com o flúor (Reynolds et al., 2008; Beerens et al., 2010; Cochrane et al., 2010).

2.i. Obtenção de CPP

Os fosfopeptídeos de caseína (CPP), derivam da fosfoproteína caseína e constituem, aproximadamente, 10% desta (Cochrane et al., 2010).

Na sequência proteica onde se encontram (caseína), são inativos e necessitam de ser libertados através de hidrólise enzimática ou química para se tornarem ativos (Nongonierma & FitzGerald, 2012; Nagamani et al. 2012). Existem diferentes alternativas para promover a dissociação dos CPP da caseína, a técnica mais usada é a hidrólise enzimática *in vitro* pela enzima tripsina, após incubação, seguida de proteólise por enzimas ou através de processos físicos (ultrassons, micro-ondas) ou tratamentos químicos (Nongonierma & FitzGerald, 2012).

Os CPP contêm a sequência ativa, designada motivo ácido, constituída por 3 resíduos de serina fosforilada seguidos de 2 resíduos de glutamato: -Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu- (Nongonierma & FitzGerald, 2012; Cross et al., 2005).

Sabe-se que a um pH neutro e alcalino, este motivo ácido apresenta-se carregado negativamente, o que explica a capacidade dos CPP se ligarem a catiões bivalentes, como acontece com o cálcio (Nongonierma & FitzGerald, 2012; Nagamani et al., 2012).

Os CPP têm a capacidade de estabilizar elevadas concentrações de iões de cálcio e fosfato em nanoclusters de iões e estes em nanocomplexos, a um pH neutro e alcalino (Nongonierma & FitzGerald, 2012; Cross et al. 2005; Gurunathan, 2012). Uma molécula de CPP tem o poder de se ligar a 25 iões de cálcio e 15 iões de fosfato e, no caso de CPP-ACFP, a 5 iões de flúor (Llena et al., 2009; Reema et al, 2014). Uma solução de 1% de CPP, a um pH de 7.0, é capaz de estabilizar 60 mM de cálcio e 36 mM de fosfato (Cochrane et al., 2010).

Quando incorporados na placa bacteriana, os CPP têm uma semi-vida, aproximadamente, de 1 a 2 horas, sendo hidrolisados pela ação de peptidases e fosfatases da saliva (Reynolds et al., 2008).

2.ii. Mecanismo de ação

O complexo CPP-ACP possui um mecanismo de ação duplo: (1) promove a remineralização de lesões cariosas iniciais a partir de um estado de supersaturação de iões cálcio e fosfato na saliva e na placa bacteriana e (2) interfere no crescimento e adesão bacteriana à superfície dentária (Beerens et al., 2010; Llena et al., 2009; Groisman et al., 2015).

O sistema CPP-ACP apresenta uma forte afinidade de ligação com a superfície dentária e a placa bacteriana, gerando altas concentrações de nanocomplexos de iões cálcio e fosfato em torno da superfície do dente. Deste modo, funciona como um reservatório destes iões,

proporcionando a supersaturação destes na saliva e na placa bacteriana, relativamente ao esmalte (Reema et al., 2014; Cochrane et al., 2010; Gurunathan et al., 2012; Cross et al., 2005; Farooq et al., 2013).

Apesar das elevadas concentrações de iões cálcio e fosfato, uma vez que estes iões se encontram estabilizados através da ligação com o motivo ácido dos CPP, não ocorre a precipitação espontânea de fosfato de cálcio, o que conduziria ao seu desperdício sob a forma de cálculo dentário. Assim sendo, a ligação dos CPP aos iões cálcio e fosfato através do seu motivo ácido, mantém estes iões num estado solúvel e biodisponível (Divyapriya et al., 2016).

Sob condições neutras ou alcalinas, os CPP estabilizam os iões cálcio e fosfato dando origem a uma solução estável supersaturada, em que existe um equilíbrio dinâmico entre o fosfato de cálcio livre e o fosfato de cálcio ligado ao CPP (Cross et al., 2005). Este equilíbrio está dependente do pH, da concentração de iões e da presença de superfícies de ligação competitivas para os CPP (Cochrane et al., 2010; Gurunathan et al., 2012).

Deste modo, as alterações de pH no meio tornam este reservatório de iões biodisponível (Cross et al., 2005; Cochrane et al., 2010). À medida que o pH aumenta, ficando neutro ou alcalino, a força das ligações entre CPP e ACP aumenta, ou seja, ocorre estabilização de iões cálcio e fosfato. Quando o pH diminui, tornando-se mais próximo do pH crítico, a força das ligações diminui, o ACP dissocia-se do CPP e difunde-se do exterior para o corpo da lesão, a favor do gradiente de concentração. Desta forma, torna-se possível a remineralização das lesões de cárie e a prevenção da desmineralização (Reema et al., 2014; Gurunathan et al., 2012).

É importante salientar que esta remineralização não ocorre só na superfície do esmalte. Estudos de Reynolds et al. (2008), Cross et al. (2005), Cochrane et al. (2010) e Cross et al. (2007), indicam que o CPP-ACP é capaz de promover a remineralização de lesões subsuperficiais (Reynolds et al., 2008; Cross et al., 2005; Cochrane et al., 2010; Cross *cit. in* Costa et al., 2009).

Os nanocomplexos de CPP-ACP, penetram até ao corpo da lesão como um complexo intacto ou já dissociados. Quando presente o complexo intacto no corpo da lesão, a elevada afinidade entre a apatite e o complexo CPP-ACP, permite que os CPP se liguem à superfície mais termodinamicamente favorável da apatite e libertem os iões cálcio e fosfato, que se irão depositar nos espaços intercristalinos vazios. A possibilidade dos CPP penetrarem no interior da lesão permite uma maior e mais profunda difusão de iões (Cochrane et al., 2010; Cochrane & Reynolds, 2012; Gurunathan et al., 2012).

A ação anticariogénica do complexo CPP-ACP também ocorre por outro mecanismo. Estudos de Rose et al. (2000) e Vashisht et al. (2013), comprovaram que estes complexos

interferem com a adesão e proliferação de *S. mutans* e *S. sobrinus*, pela capacidade que têm de se ligar à parede celular das bactérias e a componentes da matriz da placa bacteriana, impedindo assim a adesão destas bactérias à superfície dentária e placa bacteriana, assim como a multiplicação no interior desta. Isto, traduz-se na formação de uma placa bacteriana menos cariogénica e, conseqüentemente, numa diminuição do ácido resultante do metabolismo bacteriano (Rose *cit. in* Reynolds, 2009; Vashisht et al. 2013; Llena et al., 2009; Divyapriya et al., 2014).

3. CPP-ACP e o Flúor

A presença simultânea de CPP-ACP e iões flúor resulta num efeito sinérgico. Este efeito sinérgico entre CPP-ACP e flúor, na regressão de lesões iniciais de cárie é atribuído à capacidade dos CPP também estabilizarem iões flúor, levando assim à formação de CPP-ACFP, com as mesmas propriedades dos CPP-ACP acrescidas dos benefícios remineralizantes do flúor. Isto, proporciona um aumento de iões flúor na placa bacteriana e uma maior incorporação destes nas estruturas cristalinas desmineralizadas, em simultâneo com a incorporação de iões cálcio e fosfato biodisponíveis, tanto na superfície como na subsuperfície do esmalte (Reynolds et al., 2008; Cochrane & Reynolds, 2012).

Estes dados são corroborados por dois estudos de Reynolds:

Num deles, Reynolds e os seus colaboradores, avaliaram se existiam diferenças na quantidade de flúor incorporado na placa bacteriana quando utilizado um colutório com 445 ppm de flúor e um outro com 2% de CPP-ACP e 445 ppm de flúor (Tabela 1). No quinto dia de utilização, recolheram uma amostra de placa bacteriana supragengival e verificaram que a utilização do colutório com 2% de CPP-ACP e 445 ppm de flúor levou a uma incorporação de iões flúor na placa bacteriana significativamente superior (Reynolds et al., 2008).

Num outro estudo, o mesmo autor, comparou a remineralização das lesões de cárie iniciais promovida pela utilização de cinco dentífricos diferentes (Tabela 1). Constatou que a pasta dentífrica com 2% de CPP-ACP produziu um nível de remineralização semelhante ao conseguido com a pasta de 2800 ppm de flúor. Já o dentífrico com 2% de CPP-ACP e 1100 ppm de flúor produziu um efeito remineralizador superior, relativamente a todos os outros dentífricos estudados (Reynolds et al., 2008).

A teoria por detrás destes resultados tem a sua explicação em processos químicos que ocorrem aquando da remineralização. Os iões flúor na presença de iões cálcio e fosfato promovem rapidamente a formação de fluorapatite $[Ca_{10}(PO_4)_6F_2]$, sendo que neste processo,

para cada 2 iões flúor são necessários 10 iões cálcio e 6 iões fosfato biodisponíveis no meio. Assim sendo, um fator limitante da remineralização de lesões de cárie com agentes fluoretados é a biodisponibilidade de iões cálcio e fosfato no meio, necessários para reagir com o flúor no processo de remineralização. Um sistema como o CPP-ACP, vai colmatar este problema, ao proporcionar iões cálcio e fosfato biodisponíveis em grande quantidade, revelando-se assim um adjuvante importante no tratamento de lesões iniciais de cárie com agentes fluoretados (Reynolds et al., 2008; Cochrane & Reynolds, 2012).

Ao contrário do flúor, os complexos CPP-ACP e CPP-ACFP, permitem uma ação em profundidade, uma vez que estes se difundem pelas porosidades do esmalte atuando na subsuperfície e não apenas superficialmente (Reynolds et al., 2008; Cochrane et al. 2010).

4. Tratamento de lesões de cárie iniciais com CPP-ACP e CPP-ACFP

O tratamento das lesões de cárie iniciais com CPP-ACP é realizado através da administração tópica de cremes tópicos, pastas dentífricas, pastilhas elásticas, colutórios ou sprays contendo CPP-ACP (Divyapriya et al., 2014).

A pastilha elástica, o creme tópico e a pasta dentífrica foram os veículos de CPP-ACP mais utilizados nos estudos analisados (Cochrane et al., 2010; Reynolds et al., 2008; Cai et al., 2003; Cochrane & Reynolds, 2012).

Pastilha elástica com CPP-ACP: não inclui açúcar e pode conter 10, 18.8 ou 56.4 mg de CPP-ACP. Quanto maior a dosagem de CPP-ACP, maior é a percentagem de remineralização. Os estudos recomendam que, para serem eficazes, sejam mascaradas durante cerca de 10 minutos, 2 a 3 vezes ao dia (Cai et al., 2003; Divyapriya et al., 2017; Cochrane & Reynolds, 2012). Em Portugal estas pastilhas não estão disponíveis.

Creme tópico de CPP-ACP: contém 10% de CPP-ACP e deve ser aplicado diretamente sobre as lesões de cárie iniciais durante 3 minutos, no mínimo, uma a duas vezes por dia. Depois disto, deve ser espalhado com a língua pela boca e mantido o máximo tempo possível, evitando cuspir e engolir. Quanto mais tempo se mantiver na boca, mais eficaz é o resultado. Não se deve lavar, comer ou beber nos 30 minutos após a aplicação (Divyapriya et al., 2017; Cochrane et al., 2010; Cochrane & Reynolds, 2012). Os cremes tópicos encontram-se já disponíveis em Portugal com o nome GC Tooth Mousse®.

Pasta dentífrica com CPP-ACP: possui uma percentagem de 2% de CPP-ACP, sendo que grande parte das formulações contém simultaneamente flúor e deverão ser utilizadas pelo menos 2 vezes por dia. O seu uso não é limitado e, portanto, pode ser utilizada diariamente

(Divyapriya et al., 2017; Cochrane et al., 2010; Cochrane & Reynolds, 2012). Estes dentífricos ainda não estão disponíveis em Portugal.

Colutório com CPP-ACP: existem formulações com 2 e 6% de CPP-ACP e, tal como as pastas dentífricas, podem conter flúor. Estão também indicados para uma higiene oral diária, pelo menos 2 vezes ao dia (Divyapriya et al., 2014; Cochrane & Reynolds, 2012; Cochrane et al., 2010). Não se encontram disponíveis em Portugal.

Todos estes produtos, podem ser administrados ou aplicados em associação com outros veículos de flúor: pasta dentífrica fluoretada, colutórios fluoretados, géis ou vernizes de flúor, para assim, alcançar o benefício da ação sinérgica destes dois agentes remineralizantes. Uma vez que, diversos estudos comprovam que a remineralização proporcionada pelo CPP-ACP conjuntamente com o flúor é superior à remineralização proporcionada pelo CPP-ACP ou pelo flúor, quando usados separadamente (Reynolds et al., 2008; Cochrane et al., 2010; Cochrane & Reynolds, 2012).

III. DISCUSSÃO

Os autores dos estudos revistos são unânimes ao afirmar a eficácia do complexo CPP-ACP na remineralização das lesões de cárie não cavitadas (Reynolds et al. 2008; Cochrane et al., 2010; Cochrane & Reynolds, 2012; Cai et al. 2003; Cross et al. 2005).

É de destacar que o complexo CPP-ACP é uma fonte extrínseca de cálcio e fosfato biodisponíveis que aumenta a capacidade remineralizadora da saliva e que a remineralização não ocorre só na superfície do esmalte, pois os complexos de CPP-ACP conseguem penetrar em profundidade e promover a remineralização de lesões subsuperficiais (Reynolds et al. 2008; Cochrane et al., 2010; Cross *cit. in* Costa et al., 2009).

Autores como Reynolds et al. (2008), Cochrane et al. (2010), Robertson et al. (2011), He et al. (2010) e Andersson et al. (2007), comprovaram também o efeito sinérgico entre CPP-ACP e flúor ao demonstrar que o flúor sozinho tende a promover a remineralização da camada superficial, enquanto que o CPP-ACP promove a sua difusão para a camada subsuperficial do esmalte (Reynolds et al., 2008; Cochrane et al., 2010; Robertson *cit. in* Cochrane & Reynolds, 2012; He *cit. in* Cochrane & Reynolds, 2012; Andersson *cit. in* Cochrane & Reynolds, 2012).

O estudo de Morgan et al., avaliou o efeito remineralizante de mascar pastilha elástica com 54 mg de CPP-ACP (Tabela 1), em crianças com lesões de cárie iniciais, através de exame clínico e de radiografias interproximais. Após os 24 meses, concluíram que no grupo que mascarou pastilha elástica contendo CPP-ACP, 53% das lesões remineralizaram e apenas 18%

progrediram, comparativamente com o grupo controlo, onde houve maior percentagem de progressão das lesões do que regressão (Morgan *cit. in* Cochrane & Reynolds, 2012).

Shen et al., também estudaram a capacidade remineralizadora do CPP-ACP em pastilha elástica. Foram comparadas 4 pastilhas elásticas com diferentes quantidades de CPP-ACP, mascaradas 4 vezes por dia, durante 20 minutos e mantidas em boca mais 20 minutos (Tabela 1). No final do tratamento, a profundidade média das lesões de cárie subsuperficiais foi medida através de microrradiografia e análise microdensitométrica computadorizada e comparada com a inicial. Verificaram que ocorreu diminuição da profundidade das lesões em todos os grupos e que a eficácia do CPP-ACP em pastilhas elásticas está dependente da dose fornecida, uma vez que foi a pastilha elástica com maior dose de CPP-ACP a que produziu maior remineralização das lesões (Shen et al., 2001).

Altenburger e seus colaboradores, testaram a ação do creme tópico com 10% de CPP-ACP aplicado durante 3 minutos, uma vez por dia, em fossas e fissuras com lesões de cárie iniciais, diagnosticadas e avaliadas no final do estudo através de exame clínico e laser fluorescente (DIAGNOdent®) (Tabela 1). Ao décimo quinto e vigésimo segundo dias, as lesões foram reavaliadas usando a mesma tecnologia, tendo-se registado, no grupo que aplicou CPP-ACP, uma diminuição dos valores das leituras de fluorescência a laser, concluindo-se, portanto, que ocorreu regressão das lesões em todos os indivíduos do grupo teste. Contudo, na avaliação visual das lesões não foram identificadas diferenças entre o grupo teste e o grupo controlo, que não realizou tratamento nenhum, possivelmente devido à curta duração do estudo (Altenburger *cit. in* Cochrane & Reynolds, 2012).

Andersson et al., através de exame clínico e laser fluorescente (DIAGNOdent®) avaliou 152 lesões de cárie iniciais em 26 pacientes submetidos a tratamento ortodôntico, dividindo-os em 2 grupos (Tabela 2): um grupo fez a aplicação de creme tópico contendo 10% de CPP-ACP, durante 3 meses, seguido de um período de 3 meses de escovagem diária com pasta dentífrica fluoretada; o outro grupo utilizou durante 3 meses colutório com 0.05% de fluoreto de sódio, combinado de 6 meses de escovagem diária com pasta fluoretada. Ao fim de 12 meses, as lesões foram reavaliadas pelos mesmos métodos. No grupo tratado com CPP-ACP, 63% das lesões regrediram, já no grupo tratado com NaF, a regressão foi de 25%. Os autores revelaram também que as lesões tratadas com CPP-ACP apresentavam maior melhoria no aspeto visual (Andersson *cit. in* Cochrane & Reynolds, 2012).

Bailey e seus colaboradores, comparam dois cremes tópicos, um placebo e outro com 10% de CPP-ACP, ambos aplicados duas vezes por dia após escovagem com pasta fluoretada de 1000 ppm (Tabela 2). Avaliaram 408 lesões iniciais de cárie em 45 indivíduos, através de exame

clínico usando critérios do ICDAS II, análise de fotografias digitais e laser fluorescente quantitativo (QLF). Ao fim de 3 meses, as lesões foram reavaliadas e mais de 31% das lesões classificadas como 2 e 3 do ICDAS tinham regredido com o creme de CPP-ACP. Em ambos os grupos, as lesões ativas apresentaram maior probabilidade de regredir do que as lesões inativas, principalmente no grupo teste (Bailey *cit. in* Cochrane & Reynolds, 2012).

No estudo de Robertson et al., foi avaliado o efeito da aplicação de um creme tópico contendo 10% de CPP-ACP e 900 ppm de flúor e de um creme comercializado sem flúor ou CPP-ACP, nas lesões de cárie incipientes em indivíduos com aparelho ortodôntico (Tabela 2). Após 3 meses de tratamento, as lesões foram avaliadas através de exame clínico usando critérios do ICDAS II e através da análise de fotografias digitais. Os autores, evidenciaram que no grupo que utilizou CPP-ACP e 900 ppm de flúor, 53,5% das lesões existentes tinham regredido, já no grupo que utilizou o creme sem flúor ou CPP-ACP, houve um aumento da progressão das lesões de 91,1% (Robertson *cit. in* Cochrane & Reynolds, 2012).

He et al., procuraram comparar, no seu estudo, a eficácia da aplicação de creme tópico com 10% de CPP-ACP e a eficácia de verniz de flúor a 0.9%, tendo como controlo um grupo que apenas realizava a higiene oral diária habitual (Tabela 2). A aplicação foi feita durante o tratamento ortodôntico e, no final deste, as lesões foram avaliadas através da análise de fotografias digitais. A incidência de lesões iniciais de cárie no grupo controlo foi de 60%, no grupo que aplicou verniz de flúor foi de 36% e no grupo que aplicou CPP-ACP foi 32%. O estudo não evidenciou diferenças estatisticamente significativas entre a eficácia da aplicação diária do creme tópico de CPP-ACP e a aplicação trimestral do verniz de flúor, mas ambos foram significativamente melhores na redução da incidência destas lesões cariosas, em comparação com o grupo controlo (He *cit. in* Cochrane & Reynolds, 2012).

Os estudos em humanos revistos, evidenciam a eficácia do complexo CPP-ACP na remineralização de cáries iniciais quando administrado/aplicado sob diversas formas: creme tópico, pasta dentífrica, colutório e pastilha elástica. Demonstram também que este efeito é ainda mais evidente quando é empregue simultaneamente CPP-ACP e flúor no tratamento destas lesões cariosas.

Contudo, existem ainda poucos estudos prospetivos em humanos, as amostras usadas são geralmente pequenas e nos estudos revistos não há uma uniformização de metodologia de investigação:

- a avaliação das lesões cariosas antes e depois de aplicado o tratamento é diferente consoante os estudos (visual, radiográfica, fluorescência a laser, etc.);
- a periodicidade de aplicação dos medicamentos difere (1 vez, 2 vezes, 3 vezes por dia);

- a duração do tratamento é variável (22 dias a 2 anos);
- a dosagem de CPP-ACP presente nos diferentes veículos do fármaco é diferente (54 mg de CPP-ACP na pastilha elástica, 2% de CPP-ACP no dentífrico, 10% no creme tópico, 2 e 6% no colutório);
- o tempo de permanência na cavidade oral varia consoante a forma de apresentação usada (3 minutos no creme tópico, 10 ou 20 minutos na pastilha, 2 minutos no dentífrico e 1 minuto no colutório).

Assim, não é possível fazer comparações conclusivas acerca da maior ou menor eficácia dos diferentes veículos de CPP-ACP, nem estabelecer protocolos de utilização clínica standardizados, para cada um dos produtos, no tratamento das lesões de cárie iniciais.

São também necessários estudos para avaliar o custo-benefício deste medicamento, uma vez que os produtos contendo CPP-ACP apresentam um custo elevado, quando comparado com o de outros agentes remineralizantes atualmente usados, como o flúor.

É, no entanto, importante salientar que o complexo CPP-ACP quando usado isoladamente, ao contrário dos produtos fluoretados, é seguro em crianças pequenas que ainda não conseguem expetorar, o que se torna uma propriedade importante, especialmente no tratamento e prevenção de cáries precoces da infância.

Porém, é necessário ter em consideração que os fosfopeptídeos que constituem o complexo CPP-ACP, provêm de uma proteína do leite, e portanto, agentes remineralizantes baseados neste complexo não podem ser aplicados a indivíduos intolerantes às proteínas do leite.

IV. CONCLUSÃO

Um dos objetivos da medicina dentária moderna é a máxima preservação dos tecidos dentários através de técnicas o menos invasivas possível.

Nos estudos revistos foi evidente a eficácia do complexo CPP-ACP na remineralização das lesões de cárie não cavitadas e o seu potencial anticariogénico.

Este medicamento pode ser utilizado isoladamente ou como adjuvante do flúor, sendo que, desta associação obtêm-se resultados ainda mais promissores.

São necessários mais estudos clínicos em humanos para determinar quais os veículos de CPP-ACP mais eficazes e quais os protocolos a adotar em cada caso, para conseguir uma eficaz remineralização das lesões de cárie iniciais.

VI. BIBLIOGRAFIA

Altenburger, M.J., et al. (2010). The evaluation of fluorescence changes after application of casein phosphopeptides (CPP) and amorphous calcium phosphate (ACP) on early carious lesions. *American Journal of Dentistry*, 23(4), pp. 188-192.

Andersson, A., et al. (2007). Effect of a dental cream containing amorphous calcium phosphate complexes on white spot lesion regression assessed by laser fluorescence. *Oral Health & Preventive Dentistry*, 5(3), pp. 229-233.

Bailey, D.L., et al. (2009). Regression of post-orthodontic lesions by a remineralizing cream. *Journal of Dental Research*, 88(12), pp. 1148-1153.

Beerens, M.W., et al. (2010). Effects of casein phosphopeptide amorphous calcium fluoride phosphate paste on white spot lesions and dental plaque after orthodontic treatment: a 3-month follow-up. *European Journal of Oral Sciences*, 118(6), pp. 610-617.

Biria, M. e Jafary, M. (2015). A review on preventive measures and treatment of white spot lesions in patients with fixed orthodontic appliances. *Journal of Dental School*, 33(1), pp. 106-117.

Cai, F., et al. (2003). Remineralization of enamel subsurface lesions *in situ* by sugar-free lozenges containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Australian Dental Journal*, 48(3), pp. 240-243.

Chapman, J.A., et al. (2010). Risk factors for incidence and severity of white spot lesions during treatment with fixed orthodontic appliances. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 138(2), pp. 188-194.

Cochrane, N.J., et al. (2010). New Approaches to Enhanced Remineralization of Tooth Enamel. *Journal of Dental Research*, 89(11), pp. 1187-1197.

Cochrane, N.J. e Reynolds, E.C. (2012). Calcium Phosphopeptides – Mechanisms of Action and Evidence for Clinical Efficacy. *Advances in Dental Research*, 24(2), pp. 41-47.

Costa, E., et al. (2009). Tratamento Medicamentoso de Lesões Iniciais de Cárie. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*, 50(1), pp. 43-51.

Cross, K.J., et al. (2005). Physicochemical Characterization of Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate Nanocomplexes. *The Journal of Biological Chemistry*, 280(15), pp. 15362-15369.

Cross, K.J., Huq, N.L. e Reynolds, E.C. (2007). Casein phosphopeptides in oral health-chemistry and clinical applications. *Current Pharmaceutical Design*, 13(8), pp. 793-800.

Derks, A., et al. (2007). Caries preventive measures used in orthodontic practices: an evidence-based decision?. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 132(2). pp. 165-170.

Divyapriya, G.K., Yavagal, P.C. e Veeresh D.J. (2016). Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate in dentistry: An update. *International Journal of Oral Health Sciences*, 6(1), pp. 18-25.

Farooq, I., et al. (2013). A review of novel dental carie preventive material: Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) complex. *Journal of Dental Sciences*, 4(2), pp. 47-51.

Gomez, J. (2014). Detection and diagnosis of the early caries lesion. [Em linha]. Disponível em <<http://www.biomedcentral.com/1472-6831/15/S1/S3>>. [Consultado em 15-02-2017].

Güçlü, Z.A., Alaçam, A. e Coleman, N.J. (2016). A 12-Week Assessment of the Treatment of White Spot Lesions with CPP-ACP Paste and/or Fluoride Varnish. [Em linha]. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1155/2026/8357621>>. [Consultado em 15-02-2017].

Gurunathan, D., Somasundaram e S., Kumar, S.A. (2012). Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: a remineralizing agent of enamel. *Australian Dental Journal*, 57(4), pp. 404-408.

He, W.D., et al. (2010). Study on application of CPP-ACP on tooth mineralization during orthodontic treatment with fixed appliance. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*, 19(2), pp. 140-143.

Ismail, A.L., et al. (2007). The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): an integrated system for measuring dental caries. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 35(3), pp. 170-178.

Kecik, D. (2016). Effectiveness of Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate on the Prevention of White Spot Lesions: A Systematic Review and Meta-Analysis. [Em linha]. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.17795/ijo-7194>>. [Consultado em 17-02-2017].

Kudiyirickal, M.G. e Ivancaková, R. (2008). Early Enamel Lesion Part.I Classification and Detection. *Acta Médica*, 51(3), pp. 145-149.

Kudiyirickal, M.G. e Ivancaková, R. (2008). Early Enamel Lesion Part.II Classification and Detection. *Acta Médica*, 51(3), pp. 151-156.

- Lapenaite, E., Lopatiene, K. e Ragauskaitė, A. (2016). Prevention and treatment of white spot lesions during and after fixed orthodontic treatment: Systematic literature review. *Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal*, 18(1), pp. 3-8.
- Llena, C., Forner, L., Baca, P. (2009). Anticariogenicity of Casein Phosphopeptide-amorphous Calcium Phosphate: A review of the Literature. *Journal of Contemporary Dental Practice*, 10(3), pp. 1-9.
- Melo, L.F.B., et al. (2015). Efeito remineralizador da caseína fosfato de cálcio fosfopeptídeo amorfo em dentes decíduos e permanentes *in vivo*. *Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas*, 69(3), pp. 302-306.
- Morgan, M.V., et al. (2008). The anticariogenic effect of sugar-free gum containing CPP-ACP nanocomplexes on approximal caries determined using digital bitewing radiography. *Caries Research*, 42(3), pp. 171-184.
- Munjal, D., et al. (2016). Assessment of White Spot Lesions and In-Vivo Evaluation of the Effect of CPP-ACP on White Spot Lesions in Permanent Molars of Children. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(5), pp. 149-154.
- Nagamani, A., Hiremath, J.P. e Murthy, N. (2012). Calcium binding and solubilizing ability of hydrophobic and hydrophilic caseinophosphopeptides (CPPs). *Journal of dairying, foods & home sciences*, 31(1), pp. 16-19.
- Nongonierma, A.B. e FitzGerald, R.J. (2012). Biofunctional Properties of Caseinophosphopeptides in the Oral Cavity. [Em linha]. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1159/000338381>>. [Consultado em 15-02-2017].
- Pishevvar, L., et al. (2015). Comparison Study on Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate Paste and Fluoride Gel on Remineralization of Demineralized Enamel Lesions. *Journal of Dental Sciences*, 33(1), pp. 80-87.
- Reema, S.D., Lahiri, P.K. e Roy, S.S. (2014). Review of Casein Phosphopeptides-Amorphous Calcium Phosphate. *Chinese Journal of Dental Research*, 17(1), pp. 7-14.
- Reynolds, E.C., et al. (2008). Fluoride and Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate. *Journal of Dental Research*, 87(4), pp. 344-348.
- Reynolds, E.C. (2009). Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate: The Science Evidence. *Advances in Dental Research*. 21(1), pp. 25-29.

Robertson, M. A., et al. (2011). MI Paste Plus to prevent demineralization in orthodontic patients: a prospective randomized controlled trial. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 140(5), pp. 660-668.

Rose, R.K. (2000). Binding Characteristics of *Streptococcus mutans* for Calcium and Casein Phosphopeptide. *Caries Research*, 34(5), pp. 427-431.

Santos, N.B., et al. (2003). Diagnóstico de Cárie Hoje: Novas Tendências e Métodos. *Jornal Brasileiro de Odontopediatria & Odontologia do Bebê*, 6(31), pp. 255-262.

Shen, P., et al. (2001). Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Journal of Dental Research*, 80(12), pp. 2066-2070.

Sunil, S., et al. (2015). Caries Prevention through Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP). *International Journal of Oral Health and Medical Research*, 2(4), pp. 70-73.

Vashisht, R., et al. (2013). Role of casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate in remineralization of white spot lesions and inhibition of *Streptococcus mutans*. *Journal of Conservative Dentistry*, 16(4), pp. 342-346.

V. ANEXOS

Tabela 1 – Estudos clínicos que avaliam a regressão das lesões de cárie iniciais não associadas a tratamento ortodôntico (adaptada de Cochrane & Reynolds, 2012).

Autores (Ano)	Participantes	Design do estudo	Duração	Grupos
Reynolds et al., (2008)	14	Duplamente cego, randomizado	5 dias	<p>Teste: 3x/dia colutório com 2% CPP-ACP + 450 ppm flúor, 1 min</p> <p>Controlo positivo: 3x/dia colutório com 450 ppm flúor, 1 min</p> <p>Controlo negativo: 3x/dia colutório placebo, 1 min</p>
Reynolds et al., (2008)	14	Duplamente cego, randomizado	14 dias	<p>Teste 1: 4x/dia pasta com 2% CPP-ACP + 1100 ppm flúor</p> <p>Teste 2: 4x/dia pasta com 1100 ppm flúor</p> <p>Teste 3: 4x/dia pasta com 2800 ppm flúor</p> <p>Teste 4: 4x/dia pasta com 2% CPP-ACP</p> <p>Controlo: 4x/dia pasta placebo</p>
Morgan et al., (2008)	2720	Duplamente cego, randomizado, paralelo	24 meses	<p>Teste: 3x/dia pastilha elástica com 54 mg CPP-ACP, 10 min</p> <p>Controlo: 3x/dia pastilha elástica sem CPP-ACP, 10 min</p>

Fosfopeptídeos de caseína – fosfato de cálcio amorfo
no tratamento de lesões de cárie iniciais

Shen et al., (2001)	30	Duplamente cego, randomizado	14 dias	<p>Teste 1: 4x/dia pastilha elástica com 0.9 mg CPP-ACP</p> <p>Teste 2: 4x/dia pastilha elástica com 10 mg CPP-ACP</p> <p>Teste 3: 4x/dia pastilha elástica com 18.8 mg CPP-ACP</p> <p>Teste 4: 4x/dia pastilha elástica com 56.4 mg CPP-ACP</p>
Altenburger et al., (2010)	32	Cego, randomizado, paralelo	22 dias	<p>Teste: 1x/dia creme tópico com 10% CPP-ACP, 3 min</p> <p>Controlo: sem tratamento</p>

Tabela 2 – Estudos clínicos que avaliam a regressão das lesões de cárie iniciais associadas a tratamento ortodôntico (adaptada de Cochrane & Reynolds, 2012).

Autores (Ano)	Participantes	Design do estudo	Duração	Grupos
Andersson et al., (2007)	26	Cego, randomizado, paralelo	3 meses (lesões avaliadas durante 12 meses)	Teste: 2x/dia creme tópico com 10% CPP-ACP Controlo: 1x/dia colutório com 0.05% NaF
Bailey et al., (2009)	45	Duplamente cego, randomizado, paralelo	3 meses	Teste: 2x/dia creme tópico com 10% CPP-ACP Controlo: 2x/dia creme tópico placebo
Robertson et al. (2011)	50	Duplamente cego, randomizado, paralelo	3 meses	Teste: 1x/dia creme tópico com 10% CPP-ACP + 900 ppm flúor Controlo: 1x/dia creme sem flúor ou CPP-ACP comercializado
He et al., (2010)	75	Randomizado, Paralelo	Durante o tratamento ortodôntico	Teste: 1x/dia creme tópico com 10% CPP-ACP Controlo positivo: verniz tópico 0.9% de flúor (trimestralmente) Controlo negativo: instruções de higiene