

MEIRE COELHO FERREIRA

**EFEITO PREVENTIVO DO FLÚOR EM ALTA CONCENTRAÇÃO EM
CICATRÍCULAS E FISSURAS DE MOLARES DECÍDUOS - ESTUDO
*IN VITRO***

Florianópolis
2003

MEIRE COELHO FERREIRA

**EFEITO PREVENTIVO DO FLÚOR EM ALTA CONCENTRAÇÃO EM
CICATRÍCULAS E FISSURAS DE MOLARES DECÍDUOS - ESTUDO
*IN VITRO***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração: Odontopediatria.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Sousa Vieira.

Florianópolis
2003

MEIRE COELHO FERREIRA

**EFEITO PREVENTIVO DO FLÚOR EM ALTA CONCENTRAÇÃO EM
CICATRÍCULAS E FISSURAS DE MOLARES DECÍDUOS - ESTUDO
*IN VITRO***

Esta dissertação foi julgada adequada para obtenção do título de MESTRE EM ODONTOLOGIA – ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ODONTOPEDIATRIA e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 8 de dezembro de 2003.

Prof. Dr. Mauro Amaral Caldeira de Andrada
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ricardo de Sousa Vieira
Orientador

Prof.^a Dr.^a Marisa Maltz
Membro

Prof.^a Dr.^a Izabel Cristina Santos Almeida
Membro

Dedico este trabalho a meus queridos pais,
José e Antônia.

Obrigada, pai, pelo ser humano que és.
Obrigada, pai, pelo pai dedicado à família e a seu
bem-estar.

Obrigada, pai, por estar sempre presente, seja na
alegria ou na tristeza.

Obrigada, pai, por você existir!

Obrigada, mãe, pela mãe zelosa, atenciosa e
dedicada que és.

Obrigada, mãe, pelo apoio incondicional.
Obrigada, mãe, por compreender os meus anseios.

Obrigada, mãe, por você existir!

Papai e mamãe, obrigada por terem me
proporcionado educação moral e intelectual.
A vocês, todo o meu amor e gratidão!

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À **Deus** por iluminar o meu caminho, por me dar coragem para enfrentar as adversidades do dia a dia e por me fazer perseverar na luta pelos meus ideais.

A meus irmãos, **José Antônio, Sandra, Jeannette, Míriam, Carlos Alberto, Benito, Elizete, Aluísio, Márlia, Conceição e Marúzia**, que sempre acreditaram em minha capacidade.

A meus queridos sobrinhos, **Tereza Cristina e Gleisson**, por entenderem a dimensão dos meus sonhos.

À querida amiga **Lúcia**, amiga nos momentos bons e ruins.

Aos queridos amigos **Léo, Leandra, Sandroca, Karina e Laila**. Obrigada pelo apoio hoje e sempre.

Ao querido **Professor Dr. Ricardo de Sousa Vieira**, meu orientador, por sua paciência, tranquilidade e disponibilidade a qualquer momento. Obrigada professor pelo ser humano maravilhoso que és!

AGRADECIMENTOS

À **Universidade Federal de Santa Catarina**, instituição da qual me orgulho em fazer parte.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia** desta Universidade, na pessoa do Coordenador **Professor Dr. Mauro Amaral Caldeira de Andrada**, e da Sub-Coordenadora **Professora Dr^a. Maria José de Carvalho Rocha**.

Aos **Professores da Disciplina de Odontopediatria** por terem me dado a oportunidade de realizar um sonho.

À **Professora Maria José**, sempre pronta a ajudar. Você é um exemplo de dedicação e luta.

À **Professora Joecí**, pelo carinho dispensado.

À **Professora Vera**, por sua sensibilidade e carisma.

À **Professora Izabel**, por sua energia e alegria.

À **Rosa**, por nos ajudar com as crianças.

Às secretárias da Disciplina de Odontopediatria, **Ivalda** e **Bete**, sempre prontas a nos ajudar.

À **Professora Dr^a. Marisa Maltz**, por aceitar participar da banca examinadora.

À **Professora Suely**, sempre disposta a transmitir conhecimentos.

À **Professora Emília**, por seu carinho e disponibilidade.

À **Professora Vera Campos**, grande incentivadora.

À **Professora Cristina**, por realizar a análise estatística desta pesquisa.

À **Professora Liene Campos**, sempre tão dedicada e atenciosa, pela revisão final deste trabalho.

À **Cleunisse Canto** (Cléo), pelo auxílio na formatação final da dissertação.

A **todos os professores** que ministraram aulas no decorrer do Mestrado, por contribuir com nossa formação intelectual.

Às funcionárias da Biblioteca setorial, **Vera, Márcia e Avani**, sempre prontas a nos atender.

À querida **Maria Gorete**, por seu incansável auxílio nas pesquisas bibliográficas.

Ao funcionário **Lauro**, sempre alegre e disposto a nos auxiliar no laboratório.

À funcionária **Janete**, sempre com um sorriso no rosto.

À **Ana Maria Frandolozzo**, secretária do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, pela atenção dispensada.

Aos **funcionários da Universidade Federal de Santa Catarina**, sempre prontos a nos atender.

Ao Laboratório de Química Ambiental e Geoquímica Orgânica, do Departamento de Química, da Universidade Federal de Santa Catarina, na pessoa do **Prof. Dr. Luiz A. S. Madureira** por permitir que parte desta pesquisa fosse realizada nas dependências deste laboratório.

À querida **Denice**, por preparar as soluções e pela análise química desta pesquisa.

Ao Laboratório de Materiais, do Departamento de Engenharia Mecânica, da Universidade Federal de Santa Catarina, na pessoa da **Prof^a. Dr^a. Ana Maliska** por permitir que parte desta pesquisa fosse realizada nas dependências deste laboratório.

Ao Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal de Santa Catarina, na pessoa do **Prof. Dr. Miguel Pedro Guerra** por permitir que parte desta pesquisa fosse realizada nas dependências deste laboratório.

À **Luíza**, por auxiliar-me no trato com o microscópio e pelas dicas.

Ao Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pela doação de parte dos dentes utilizados nesta pesquisa.

Aos queridos colegas de mestrado, **Cláudia, Michele, Fabiana, Ana Cristina, Catherine e Eduardo**. Obrigada por terem compartilhado comigo dos momentos bons e às vezes difíceis desta trajetória.

À querida amiga **Claudinha**, sempre disponível para ajudar nos momentos mais difíceis. Obrigada pela amizade!

À querida amiga **Michele**, por estar sempre comigo, dando risadas e apoiando.

Ao querido amigo **Fábio**, companheiro de todas as horas.

Às doutorandas **Leticia, Mariane, Mabel, Gimol, Ana Rita** e **Carolina**, pelo saber compartilhado.

À querida amiga **Leticia**, pelas boas risadas e pelos momentos de papos intermináveis ao telefone.

Aos **demais colegas de mestrado**, das áreas de concentração Materiais Dentários, Dentística, Saúde Coletiva, Radiologia e Implantes.

FERREIRA, Meire Coelho. **Efeito preventivo do flúor em alta concentração em cicatrículas e fissuras de molares decíduos - estudo *in vitro***. 2003. 109f. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de concentração Odontopediatria) – Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito preventivo de compostos fluoretados em alta concentração em cicatrículas e fissuras de molares decíduos submetidos à ciclagem de pH. Sessenta segundos molares decíduos superiores e inferiores, foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos de 15 dentes cada. O grupo I (controle) foi submetido à ciclagem de pH. O grupo II foi tratado com gel de fluoreto de sódio neutro a 2%, por 4min e submetido à ciclagem de pH. O grupo III foi tratado com gel de flúor-fosfato acidulado a 1,23%, por 4min e submetido à ciclagem de pH. O grupo IV foi tratado com verniz de fluoreto de sódio a 5%, por 4min e submetido à ciclagem de pH. Durante a ciclagem de pH, os espécimes permaneceram por 3h em solução desmineralizante (2,0mM de cálcio e de fosfato em 75mM de tampão acetato, pH 4,3) e por 21h em solução remineralizante (1,5mM de cálcio, 0,9mM de fosfato, 150mM de cloreto de potássio em 0,1M de tampão TRIS, pH 7,0), a uma temperatura de 37°C. Estes procedimentos foram repetidos até completar um total de 10 ciclos. Após a finalização da ciclagem de pH, os espécimes foram seccionados longitudinalmente, no sentido vestibulo-lingual, obtendo-se 2 secções. Uma secção foi utilizada para o teste de microdureza do esmalte interno, com carga de 25g e tempo de 10s. Foram realizadas indentações a 10, 30, 50, 70, 90, 110, 220 e 330µm da superfície. Os valores de dureza Knoop foram convertidos em % de volume mineral. A outra secção foi preparada para análise em microscopia de luz polarizada a fim de avaliar as características histológicas da lesão de cárie artificial e determinar a profundidade da lesão nas paredes da fissura. Realizou-se análise de fluoreto das soluções padrões e após o primeiro, quinto, oitavo e décimo-segundo dia de ciclagem de pH. Os valores de porcentagem de volume mineral não mostraram diferença estatisticamente significativa entre os 4 grupos. A grande maioria das lesões de subsuperfície apresentaram-se com pseudo-isotropia. O teste ANOVA indicou não haver diferença estatisticamente significativa entre as médias de profundidade das lesões dos 4 grupos. A concentração de fluoreto nas soluções de ciclagem de pH variaram entre 0,017 e 0,034mgL⁻¹. Os resultados sugerem que compostos fluoretados de alta concentração não diferem entre si com relação à redução da perda mineral.

Palavras-chave: Flúor. Cárie dentária. Fissuras dentárias. Dente decíduo. Molar.

FERREIRA, Meire Coelho. **Efeito preventivo do flúor em alta concentração em cicatrículas e fissuras de molares decíduos - estudo *in vitro***. 2003. 109f. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de concentração Odontopediatria) – Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

ABSTRACT

The aim of this research was to evaluate high concentration fluoride compounds preventive effect on primary molars pit and fissures under a pH cycle. Sixty second primary molars were randomly distributed into four groups (n = 15). Group I (control) was pH-cycling; group II was treated with a 2% neutral sodium fluoride gel for 4min and pH cycled; group III with was treated with a 1,23% phosphate acidulated fluoride gel for 4min e pH cycled and group IV was treated with a 5% sodium fluoride varnish for 4min and pH cycled. During the pH-cycling, specimens stayed in a demineralizing solution (2.0mM calcium, 2.0mM phosphate in 75mM acetate buffer, pH 4.3) for 3h and in a remineralizing solution (1.5mM calcium, 0.9mM phosphate, 150mM potassium chloride in 0.1M TRIS buffer, pH 7.0) for 21h, at 37°C. Theses procedures were repeated until complete 10 cycles. Then the specimens were longitudinally sectioned in buccal-lingual direction into two sections. One section was used for microhardness tests of the inner enamel, with a 25g load by 10s. Indentations were made at 10, 30, 50, 70, 90, 110, 220 and 330µm from the surface. Values of Knoop hardness were converted in percentuals of mineral volume. The other section was prepared for polarized light microscopy analyses in order to evaluate the lesions histologic characteristics and determine lesions deepness in the walls of the fissures. It was realize fluoride analyse of fresh solutions and after first, fifth, eighth and twelfth day of pH-cycling. Data of the percentuals of mineral volume didn't show significant statistical difference between four groups. The most of subsurface lesions possessed pseudoisotropy. ANOVA showed that there was not significant statistical difference between the means of lesions depth in the four groups. The fluoride concentration in the solutions of pH-cycling ranged among 0,017 and 0,034mgL⁻¹. The results suggest that high concentration fluoride compounds don't differ among themselves with respect to reduction of mineral loss.

Key words: Fluorine. Dental caries. Dental fissures. Tooth, deciduous. Molar.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Fio ortodôntico fixado ao dente.....	60
Figura 2 –	Isolamento da coroa dental com esmalte, com exceção da superfície oclusal.....	60
Figura 3 –	Fluxograma.....	61
Figura 4 –	Compostos fluoretados: Gel NaF, Gel FFA, verniz fluoretado.....	62
Figura 5 –	Aplicação de verniz fluoretado com seringa descartável.....	62
Figura 6 –	Verniz fluoretado na superfície oclusal.....	63
Figura 7 –	Seccionamento do espécime em cortadeira elétrica.....	65
Figura 8 –	Cortes no espécime superior.....	65
Figura 9 –	Cortes no espécime inferior.....	65
Figura 10 –	Amostra polida.....	66
Figura 11 –	Base da fissura localizada. 10X.....	68
Figura 12 –	Parede lateral direita da fissura paralela ao solo. 10X.....	68
Figura 13 –	Parede lateral esquerda da fissura paralela ao solo. 10X.....	68
Figura 14 –	Parede lateral direita da fissura após teste de microdureza com indentador Knoop.10X.....	69
Figura 15 –	Parede lateral esquerda da fissura após teste de microdureza com indentador Knoop.10X.....	69
Figura 16 –	Fotomicrografia de secção transversal do esmalte da superfície oclusal. Lado direito da imagem observa-se prismas em forma de “buraco de fechadura”, o que aparenta um corte transversal (seta). 40X.....	75
Figura 17 –	Fotomicrografia de secção transversal do esmalte da superfície oclusal. Lado esquerdo da imagem, próximo ao canto inferior esquerdo (corpos dos prismas). Na região central observam-se prismas em forma de “buraco de fechadura” (seta). 40x.....	75

Figura 18 – Fotomicrografia de secção transversal do esmalte da superfície oclusal. Lado direito da imagem, prismas em forma de “buraco de fechadura” (seta). 40x.....	75
Figura 19 – Fotomicrografia de secção transversal do esmalte da superfície oclusal. Lado direito da imagem, prismas em forma de “buraco de fechadura” (seta). 40x.....	75
Figura 20 – Fotomicrografia de secção transversal do esmalte da superfície oclusal. Prismas em forma de “buraco de fechadura” (seta). Imagem invertida da fissura. 40x.....	75
Figura 21a - Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo I. Zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão pseudo-isotrópico. Abaixo da região pseudo-isotrópica, zona de birrefringência negativa (seta). Abaixo desta zona, zona de birrefringência positiva.....	79
Figura 21b - Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo I. Zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão pseudo-isotrópico. Abaixo da região pseudo-isotrópica, intervalos de birrefringência negativa (seta). Abaixo, zona de birrefringência positiva.....	79
Figura 22a - Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo II. Vista central da fissura - paredes laterais com zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão pseudo-isotrópico. Base da fissura com birrefringência positiva (seta).....	80
Figura 22b - Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo II. Parede lateral esquerda da fissura – zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão pseudo-isotrópico.....	80
Figura 22c - Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo II. Parede lateral direita da fissura – zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão pseudo-isotrópico.....	80
Figura 23a - Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo III. Vista central do sulco – zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão com birrefringência negativa intercalada com birrefringência positiva.....	81
Figura 23b - Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo III. Parede lateral esquerda do sulco – zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão com faixas de pseudo-isotropia, birrefringência negativa e birrefringência positiva.....	81
Figura 23c - Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo III. Parede lateral direita do sulco – zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão com faixas de pseudo-isotropia, birrefringência negativa e birrefringência positiva.....	81

- Figura 24a - Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo IV. Vista central da fissura - paredes laterais com zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão pseudo-isotrópico intercalado com birrefringência negativa..... 82
- Figura 24b - Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo IV. Parede lateral esquerda da fissura – zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão pseudo-isotrópico intercalado com birrefringência negativa..... 82
- Figura 24c - Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo IV. Parede lateral direita da fissura – zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão pseudo-isotrópico intercalado com birrefringência negativa..... 82

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Compostos fluoretados.....	61
Quadro 2 – Valores de toda estatística descritiva dos 4 grupos, quanto aos dados de microdureza Knoop.....	106
Quadro 3 – Valores de toda estatística descritiva dos 4 grupos, quanto aos dados de porcentagem de volume mineral.....	107

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Porcentagem de volume mineral no esmalte interno, segundo o grupo e a profundidade de indentação. Valores médios e desvios-padrão.....	76
Tabela 3 –	Valores descritivos para profundidade em μm , da lesão de cárie artificial das secções visualizadas em microscopia de luz polarizada.....	83
Tabela 2 –	Valores de F para todas as comparações. Profundidade em μm	105

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Concentração de fluoreto (mgL^{-1}) na solução desmineralizadora.....	73
Gráfico 2 –	Concentração de fluoreto (mgL^{-1}) na solução remineralizadora.....	74
Gráfico 3 –	Perfis de microdureza como porcentagem de volume mineral versus profundidade da superfície do esmalte.....	78

LISTA DE ABREVIATURAS

$\mu\text{gF}/\text{cm}^2$	–	micrograma de flúor por centímetro ao quadrado
μm	–	micrômetro
FFA	–	flúor-fosfato acidulado
g	–	gramas
HF	–	ácido fluorídrico
KHN	–	unidade de medida de dureza Knoop
mgL^{-1}	–	miligrama por litro
mL	–	mililitros
mm	–	milímetro
mM	–	milimolar
mm^2	–	milímetro quadrado
$\text{Na}_2\text{PO}_3\text{F}$ (MFP)	–	monofluorofosfato de sódio
Na_2SnF_6	–	Hexafluoreto de estanho dissódico
NaF	–	fluoreto de sódio
NH_4F	–	fluoreto de amônia
pH	–	concentração de hidrogeniônica [$-\log(\text{H}^+)$]
ppmF	–	partes por milhão de flúor
SnF_2	–	fluoreto de estanho
TiF_4	–	tetrafluoreto de titânio
TISAB I	–	Total ionic strength adjustor buffer
TRIS	–	Tris (hidroximetil) aminometano
VHN	–	unidade de medida de dureza Vickers

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	21
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	23
2.1	Esmalte dentário.....	23
2.2	Dureza do esmalte dentário.....	24
2.3	Desenvolvimento da lesão de cárie.....	27
2.4	Lesão cariiosa em cicatrículas e fissuras.....	28
2.5	Mecanismo de ação do flúor.....	29
2.6	Agentes fluoretados tópicos aplicados profissionalmente.....	33
3	PROPOSIÇÃO.....	57
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	58
4.1	Material.....	58
4.1.1	Amostra.....	58
4.2	Métodos.....	59
4.2.1	Preparo inicial da amostra.....	59
4.2.2	Divisão da amostra.....	60
4.2.3	Aplicação de compostos fluoretados nas cicatrículas e fissuras.....	62
4.2.4	Ciclagem de pH.....	63
4.2.5	Análise de flúor das soluções.....	64
4.2.6	Obtenção das secções.....	64
4.2.7	Preparo das secções para o ensaio de microdureza.....	66
4.2.8	Ensaio de microdureza interna.....	67
4.2.9	Preparo das secções para avaliação em microscopia de luz polarizada.....	69
4.2.10	Avaliação histológica em microscopia de luz polarizada.....	70

4.2.11	Análise estatística.....	71
5	RESULTADOS.....	72
5.1	Valores de fluoreto nas soluções desmineralizadora e remineralizadora.....	72
5.2	Porcentagem de volume mineral do esmalte interno.....	74
5.3	Características histológicas da lesão de cárie artificial visualizada em luz polarizada.....	79
5.4	Profundidade da lesão de cárie artificial visualizada em luz polarizada.....	83
6	DISCUSSÃO.....	84
7	CONCLUSÕES.....	97
	REFERÊNCIAS.....	98
	APÊNDICES.....	104
	ANEXOS.....	108

1 INTRODUÇÃO

A cárie dentária permanece como uma das doenças que mais acomete a humanidade. Com o passar dos tempos, a susceptibilidade à doença e seu padrão de distribuição foi sendo modificada (KRASSE, 1988; NEWBRUN, 1988; MALTZ; CARVALHO, 1997). Enquanto os povos antigos apresentavam baixa prevalência da doença, a partir do século XVIII ocorreu um grande aumento em sua incidência (KRASSE, 1988; NEWBRUN, 1988). A doença passou a ter predileção pelas superfícies proximais e oclusais, e a ocorrer, principalmente, em indivíduos mais jovens. Estas modificações coincidiram com o aumento de consumo de carboidratos (NEWBRUN, 1988), geralmente refinados e pegajosos.

Entretanto, durante os últimos 30 anos ocorreu um declínio na prevalência da doença (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1995), o qual foi observado paralelamente à introdução de fluoretos na maioria dos países desenvolvidos ocidentais. Adicionalmente a isso, estabeleceu-se uma maior consciência preventiva que favoreceu o controle da doença.

Apesar dos avanços conquistados, uma parcela da população continua a ser acometida pela doença, e ainda, concentrando a quase totalidade dos dentes cariados. Não obstante, a superfície oclusal perpetua como local mais freqüentemente envolvido. A predileção por essa superfície vem ao encontro do maior acúmulo de placa bacteriana e à dificuldade de sua remoção. No entanto, a superfície oclusal é passível de controle em relação à cárie (CARVALHO; EKSTRAND; THYLSTRUP, 1989) assim como as superfícies lisas.

Estudos histológicos demonstraram que a lesão de cárie nas fissuras inicia-se nas paredes laterais, próximas à entrada (LUSSI, 1991), local este, de acesso à remoção da placa bacteriana e à ação do flúor. Além disso, estudos ultra-estruturais indicam que a porção mais profunda das fissuras, em geral, aloja bactérias não viáveis (THEILADE; FEJERSKOV; HORSTED, 1976; EKSTRAND; BJØRNDAL, 1997).

A maioria das pesquisas sobre a efetividade dos compostos fluoretados em relação à cárie tem sido realizadas em superfícies lisas, tanto pesquisas, *in vitro*, como, *in vivo*. Assim, diante da escassez de trabalhos em cicatrículas e fissuras e tampouco em dentes decíduos, propôs-se neste estudo avaliar o efeito preventivo de compostos fluoretados em alta concentração, sob ciclagem de pH, nestas superfícies, em molares decíduos.

2 REVISÃO DA LITERATURA¹

2.1 ESMALTE DENTÁRIO

O esmalte dentário constitui-se em um sólido microporoso, que apresenta 97% de material inorgânico e 3% de matriz orgânica e água. A unidade básica dessa estrutura, o cristal de hidroxiapatita, birrefringente negativamente, é organizada em grupos formando os prismas e o esmalte interprismático. Os cristais são separados entre si por espaços intercrystalinos, os quais são preenchidos por água e material orgânico. O conjunto de espaços intercrystalinos forma uma fina rede de vias de difusão, comumente chamada de microporos ou poros do esmalte, que realiza a troca de íons entre o interior e exterior do esmalte (SILVERSTONE, 1968; BHASKAR, 1978).

O esmalte dos dentes decíduos contém mais matriz orgânica e água, e menos conteúdo mineral do que o esmalte permanente. Tanto a espessura do esmalte decíduo quanto a largura de seus prismas são menores do que o esmalte permanente. O menor conteúdo mineral atribuído ao esmalte decíduo ocorre principalmente sobre as cúspides e abaixo das fissuras (MORTIMER, 1970).

¹ Baseada na NBR 10520: 2002 da ABNT.

O menor conteúdo mineral do esmalte do dente decíduo correlaciona-se com o menor grau de organização cristalina desse tecido, que significa maior porosidade da estrutura e maior número de vias de difusão (SKALERIC et al., 1982).

2.2 DUREZA DO ESMALTE DENTÁRIO

Phillips e Swartz (1948) avaliaram o efeito de diversos compostos fluoretados na dureza da superfície de esmalte planificada e polida. O teste de dureza Knoop (KHN) confirmou um aumento na dureza da estrutura após aplicação de flúor, o que indica uma mudança na propriedade física do esmalte. Segundo os autores, isto pode refletir numa mudança química da molécula de apatita.

Caldwell et al. (1957) pesquisaram a dureza de esmalte permanente hígido, proveniente de pacientes entre 16 e 75 anos de idade. Foi utilizado o teste de dureza Knoop, com uma carga constante de 500g por 10s. Os resultados revelaram que a média de dureza para os dentes anteriores e posteriores foi, respectivamente, 365KHN (± 35) e 393KHN (± 50). Não constataram nenhuma relação entre a idade dentária e a dureza do esmalte. Diferentes tipos de dentes apresentaram dureza similar, enquanto áreas distintas de uma superfície apresentaram variabilidade na dureza. Ao medirem a dureza de 6 dentes decíduos, verificaram uma dureza de 272KHN (± 26) e 303KHN (± 16) para incisivo e canino superiores, respectivamente, de um mesmo indivíduo. Três segundos molares superiores, de indivíduos distintos, apresentaram valores de dureza de 357KHN (± 56), 388KHN (± 53) e 399KHN

(± 39), enquanto que um primeiro molar superior apresentou valor de dureza de 397KHN (± 60).

Craig e Peyton (1958) testaram a dureza de esmalte e dentina de dentes permanentes, com o intuito de estabelecer tendências de dureza em áreas de um mesmo dente e em diferentes tipos de dentes. As secções de 1 a 2mm, obtidas de dentes maduros e hígidos, foram submetidas a teste de dureza Knoop, com carga de 50g por 15s. Em uma mesma secção, os valores de dureza Knoop para o esmalte variaram consideravelmente de um local para outro. Da mesma forma, diferenças pronunciadas foram encontradas entre secções de um mesmo dente. Desvios menores foram observados entre as médias de diferentes dentes. Em relação à junção esmalte-dentina e o esmalte mais externo, não foi constatada diferença significativa. O limite de valores de dureza obtidos nesta pesquisa foi de 272 a 440KHN, com uma média de 343KHN.

A dureza do esmalte não está necessariamente relacionada com seu grau de mineralização. O flúor originário de fontes externas ou do esmalte submetido à dissolução deposita-se no esmalte cariado, produzindo zonas de maior dureza e maior resistência à descalcificação (SONI; BRUDEVOLD, 1959).

Featherstone et al. (1983) correlacionaram dados de microdureza de secções transversais de lesões com o conteúdo mineral determinado por microrradiografia do mesmo espécime de esmalte. Foram utilizados 7 dentes humanos, nos quais foi aplicado verniz com exceção de uma ou duas janelas. Cada coroa dental foi imersa em 40mL de um sistema tampão a 37°C, para produzir lesões de cárie artificiais de subsuperfície. A seguir, cada coroa foi seccionada longitudinalmente através do centro da lesão. Uma metade foi utilizada para microrradiografia e a outra metade para microdureza. Os perfis de porcentagem de volume mineral e de microdureza foram obtidos de posições aproximadamente equivalentes dentro

das lesões artificiais, nas 2 metades de cada coroa dental. Fazendo a comparação dos mapas de número de dureza Knoop com os mapas de porcentagem de volume mineral puderam verificar uma relação entre estes parâmetros. Desta forma, os autores concluíram que o perfil de microdureza pode não somente ser utilizado como uma medida comparativa de mudanças de dureza, como também uma medida direta de ganho ou perda mineral.

Reintsema e Arends (1988) conduziram um estudo para determinar mudanças na microdureza de esmalte humano parcialmente desmineralizado e submetido à ação de pastas fluoretadas, *in vivo*. Espécimes de esmalte, obtidas de caninos permanentes, foram planificadas e polidas, e submetidas à ação de uma solução desmineralizante (0,1mol/L de ácido láctico e 0,1mmol/L de MHDP, pH 4,5). Testes de dureza foram realizadas no esmalte hígido e após desmineralização. Posteriormente, os espécimes foram fixados em posições proximais de próteses parciais de 27 voluntários, perfazendo um total de 2 espécimes por paciente. Cada voluntário participou de 6 períodos experimentais de 3 semanas cada. Em cada período foi utilizada uma determinada pasta. A pasta A continha 1000ppmF como $\text{Na}_2\text{PO}_3\text{F}$ e 450ppmF como NaF; pasta B continha 1000ppmF como NaF; pasta C com 1000ppmF como $\text{Na}_2\text{PO}_3\text{F}$; pasta D com 1000ppmF como SnF_2 ; pasta E com 1500ppmF como $\text{Na}_2\text{PO}_3\text{F}$ e a pasta P sem flúor. Cada período foi iniciado com o uso por 1 semana de pasta placebo, seguido de 2 semanas com uma pasta teste. Após a finalização dos períodos experimentais, todos os espécimes foram submetidos à teste de dureza Knoop e Vickers com carga de 100 e 500g, respectivamente, e tempo de 10s, a cada período experimental. Em 20 espécimes foi realizada a microdureza interna do esmalte com carga de 25g. Após o experimento, *in vivo*, diferenças não significativas foram encontradas entre os 6 grupos com relação aos valores de dureza Knoop da superfície. Entretanto, a média de dureza Knoop diminuiu significativamente para todos os grupos quando comparada com a desmineralização inicial.

Para todos os grupos a microdureza interna diminuiu próximo à superfície do esmalte em comparação com o estágio inicial de desmineralização.

2.3 DESENVOLVIMENTO DA LESÃO DE CÁRIE

O desenvolvimento de uma lesão cáriosa constitui-se em um processo dinâmico, alternando fases de desmineralização e fases de remineralização. É dependente de flutuações de pH na interface placa/superfície do esmalte, assim como, do nível de saturação de complexos de cálcio-fosfato nos sítios de desafio cariogênico (SILVERSTONE, 1977; TEN CATE, 1990).

O elemento dentário apresenta um comportamento dinâmico na cavidade bucal. Estando o pH do meio bucal acima de 5,5, a composição salivar em cálcio e fosfato é supersaturante em relação ao produto de solubilidade da hidroxiapatita. Assim, a tendência é o dente ganhar cálcio e fosfato do meio bucal. Em pH menor que 5,5, a saliva torna-se subsaturada em relação ao produto de solubilidade da hidroxiapatita, e, deste modo, a tendência é o dente perder cálcio e fosfato para o meio bucal, fenômeno este denominado de desmineralização. Após o restabelecimento das condições supersaturantes na cavidade bucal, a tendência é o esmalte dental ganhar cálcio e fosfato do meio bucal na tentativa de repor o mineral perdido. Quando bem sucedido é denominado de remineralização (LARSEN; BRUNN, 1988).

A estrutura dentária é inicialmente afetada pela cárie através da perda preferencial de minerais da subsuperfície do esmalte em relação a uma zona de superfície aparentemente intacta. Sinais de dissolução em nível ultra-estrutural são observados na superfície do esmalte no início do processo. A dissolução superficial proporciona diminutos e numerosos espaços entre os prismas e entre os cristais, através dos quais o ácido pode propagar-se para o interior do esmalte (LARSEN; BRUNN, 1988).

Os ácidos promovem a dissolução do cristal de hidroxiapatita, reduzindo seu tamanho e, conseqüentemente, ampliando os espaços intercristalinos, o que é traduzido em porosidade do esmalte. A porosidade ocasiona mudanças no grau de translucidez desta estrutura, constituindo, assim, em uma forma de avaliação da perda mineral (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1995).

2.4 LESÃO CARIOSAS EM CICATRÍCULAS E FISSURAS

O processo carioso em fossas e fissuras comporta-se basicamente como a lesão em superfície lisa, exceto pelas peculiaridades da estrutura anatômica e histológica que ditam um aspecto particular (NEWBRUN; BRUDEVOLD; MERMAGEN, 1959).

Gustafson (1957) relatou que a lesão de cárie em fissuras inicia-se na entrada dessa estrutura. Gradualmente a lesão cariosa expande em direção à base da fissura.

Apesar da grande variação na morfologia das fissuras, esta variável tem pouca influência no padrão da lesão. O ponto de relevância recai sobre a presença da placa bacteriana ativa. Carvalho; Ekstrand; Thylstrup (1989) demonstraram em um estudo clínico que a susceptibilidade da superfície oclusal à cárie foi relacionada com o período de erupção, o qual favorece o acúmulo de placa. As diferenças na morfologia do sistema sulco-fossa não influenciaram o início da lesão.

Ekstrand e Bjørndal (1997) verificaram que em fissuras os microrganismos metabolicamente ativos concentram-se principalmente na entrada. Neste local ocorre uma maior profundidade de penetração da lesão. O decréscimo da viabilidade de microrganismos na porção mediana e no fundo da fissura relacionou-se com uma menor profundidade de lesão. Os autores creditaram a ocorrência de microrganismos de forma limitada ou sem viabilidade nas partes mais profundas da fissura como resultado de barreiras de difusão.

2.5 MECANISMO DE AÇÃO DO FLÚOR

O efeito do flúor foi inicialmente descoberto e relacionado a sua presença na água utilizada para consumo. Desta forma, seu mecanismo de ação esteve, a princípio, ligado à sua ingestão. Acreditava-se que o flúor incorporado aos cristais de hidroxiapatita durante a formação e mineralização do esmalte tornava esta estrutura mais resistente ao desafio ácido. Este conceito foi baseado em achados de uma menor prevalência de lesões cariosas em crianças vivendo em localidades com água fluoretada, especialmente durante a mineralização

dentária, em comparação com crianças vivendo em localidades sem flúor na água de abastecimento. Pensava-se, ainda, que uma vez obtida a referida resistência dentária, a mesma se perpetuaria por toda a vida do dente (FEJERSKOV; THYLSTRUP; LARSEN, 1981; THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1995).

Entretanto, nenhuma significativa relação inversa foi demonstrada entre o conteúdo de flúor do esmalte e a susceptibilidade à cárie (FEJERSKOV; THYLSTRUP; LARSEN, 1981), mesmo porque indivíduos que viveram em localidades com água fluoretada e que se mudaram para regiões sem flúor na água de abastecimento passaram a ter uma experiência de cárie como se não tivessem ingerido flúor (KUNZEL, 1980). Adicionalmente a esta constatação, Kidd et al. (1980) verificaram, *in vitro*, que dentes formados em áreas com baixa e ótima concentração de flúor desenvolveram lesões similares após exposição a géis acidificados. Em reforço, sabe-se que o esmalte que esteve em contato com água fluoretada possui apatita fluoretada, a qual apresenta comportamento físico-químico de solubilidade igual a hidroxiapatita (CURY, 1989).

Com base nisto, o efeito cariostático do flúor está relacionado com sua presença na cavidade bucal, participando ativamente do processo de desmineralização e remineralização (CURY, 1989).

O flúor atua dinamicamente no meio aquoso (fluido da placa e do esmalte), ativando o fenômeno de remineralização através da redeposição de cálcio e fosfato perdidos pelo processo de desmineralização. A presença de flúor induz o revestimento da hidroxiapatita com fluorapatita, o que confere ao esmalte melhores propriedades físico-químicas do que o esmalte normal (CURY, 1989).

A principal ação do flúor ocorre pós-erupção dentária, atuando na redução da solubilidade do esmalte e promovendo a remineralização de lesões incipientes, mediante sua presença nos fluidos bucais (MARGOLIS; MORENO, 1990).

Embora em pH abaixo de 5,5 o dente perca cálcio e fosfato para o meio bucal subsaturado em relação ao produto de solubilidade da hidroxiapatita, na presença de flúor, a tendência é ganhar cálcio, fosfato e flúor, pois o meio bucal mantém-se ainda supersaturante em relação ao produto de solubilidade da fluorapatita ($\text{pH} < 5,5 > 4,5$). Este processo mostra uma redução da solubilidade do esmalte pela ação do flúor no processo de desmineralização. Com as condições bucais retornando ao normal ($\text{pH} > 5,5$), o meio bucal torna-se supersaturado em relação ao produto de solubilidade da hidroxiapatita. Estando o flúor presente nos fluidos da placa e do esmalte, ativará o fenômeno de remineralização, aumentando a eficácia na redeposição de cálcio e fosfato (FEATHERSTONE et al., 1990).

Os maiores aspectos de ação do flúor são inibir a desmineralização da superfície dos cristais e aumentar a remineralização da subsuperfície, resultando em paralisação ou reversão da lesão cariiosa (FEATHERSTONE et al., 1990).

A presença de flúor torna o meio supersaturado com relação a hidroxiapatita fluoretada, o que leva a uma mais rápida redeposição mineral no interior do esmalte superficial parcialmente dissolvido. Quando o grau de deposição de fluorapatita excede o grau de transporte de íons para fora da superfície do esmalte, a desmineralização do esmalte será efetivamente inibida (MARGOLIS; MORENO, 1990).

O flúor incorporado ao cristal de hidroxiapatita não é mais considerado o único fator importante para a inibição da cárie. O efeito anticariogênico é agora principalmente atribuído ao flúor presente na fase líquida do esmalte. A concentração de flúor na fase líquida é

dependente da disponibilidade de flúor solúvel na superfície do dente, particularmente como fluoreto de cálcio (ACUNA et al., 1990).

Os cristais de fluoreto de cálcio formam-se preferencialmente em porosidades e microcanais de diferentes sítios cariogênicos no esmalte, podendo ser gradativamente lixiviados para a placa dental, saliva, ou estrutura da apatita dental (ARENDS; CHRISTOFFERSEN, 1990).

O fluoreto de cálcio é formado na superfície do esmalte durante uma aplicação tópica de flúor e atua como reservatório de flúor na superfície e na placa bacteriana. A quantidade formada relaciona-se diretamente com a concentração de flúor do produto e tempo de aplicação, e inversamente ao pH do mesmo (RØLLA; ØGAARD; CRUZ, 1993).

A atuação dinâmica do fluoreto de cálcio ocorre durante desafio cariogênico em função do baixo pH na placa (RØLLA; ØGAARD; CRUZ, 1993). Em pH baixo, a camada protetora do fluoreto de cálcio é dissolvida, levando a sua exposição e solubilização parcial. Paralelamente ao íon flúor liberado, cálcio, fosfato e fosfatos ácidos são liberados da estrutura do esmalte e reprecipitam na forma de fluorapatita ou fluorhidroxiapatita (TEN CATE; DUIJSTERS, 1983). Esta reação de recristalização, resultante da inibição do processo de cárie, confere proteção adicional aos cristais em função do revestimento rico em flúor (TEN CATE, 1997).

O mecanismo de ação tópica do flúor ocorre através da (FEATHERSTONE, 2000):

- a) Inibição do metabolismo bacteriano mediante inibição da enolase. A produção de ácidos pelas bactérias cariogênicas leva a sua dissociação em íons hidrogênio que combinam com os íons flúor presentes no fluido da placa formando HF, o qual rapidamente se difunde para dentro da célula bacteriana. Uma vez dentro da célula,

o HF dissocia-se, acidificando a célula e liberando íons flúor, o qual interfere na atividade da enolase, essencial ao metabolismo dos carboidratos pela bactéria;

- b) Inibição e aumento, respectivamente, da desmineralização e remineralização da hidroxiapatita carbonatada, mediante a adsorção de flúor à superfície dos cristais. O flúor inibe a dissolução ácida e, simultaneamente, atrai íons cálcio e fosfato, que conduzem a uma nova formação mineral.

2.6 AGENTES FLUORETADOS TÓPICOS APLICADOS PROFISSIONALMENTE

Os agentes tópicos fluoretados em alta concentração foram introduzidos na década de 40 com o intuito de fornecer flúor aos indivíduos moradores de localidades destituídas deste elemento na água de abastecimento. Deste então, estes compostos altamente concentrados e com diferentes valores de pH, têm sido utilizados. São reconhecidamente efetivos em inibir a iniciação ou progressão da lesão de cárie. Atualmente, são usados como suplemento dos dentifrícios fluoretados, principalmente em indivíduos com atividade alta/moderada e com risco alto/moderado de desenvolver a doença cárie (ØGAARD; SEPPÄ; RØLLA, 1994).

A princípio, o fluoreto de sódio neutro e o flúor-fosfato acidulado, introduzidos, respectivamente, na década de 40 e 60, foram utilizados em solução. Nesta mesma época, mais precisamente em 1964, surgiu o primeiro verniz fluoretado sob o nome comercial de

Duraphat[®] (Woelm Pharma Co., Eschwege, FRG), que foi desenvolvido para prolongar o tempo de contato entre o flúor e o esmalte.

Com a finalidade de avaliar a efetividade do flúor, surgiram várias pesquisas, *in vitro*, principalmente na década de 80. Deste modo, Ten Cate e Duijsters (1982) procuraram avaliar o efeito do flúor no comportamento do cálcio e fosfato em esmalte sob condições cíclicas de pH. Os autores pesquisaram diferenças no mecanismo de remineralização e mediram o ganho ou perda mineral resultante da ciclagem de pH, a fim de compreender a clinicamente relatada inibição de remineralização em áreas com baixa concentração de flúor. Lesões de subsuperfície foram criadas na superfície vestibular de incisivos bovinos através da imersão em solução desmineralizante por 14 dias. Durante os 10 dias seguintes as lesões foram submetidas à ciclagem de pH. Um total de 6 grupos de experimentos foram conduzidos: 1) 24h remineralização (R) + 0h desmineralização (D); 2) 24h R (flúor) + 0h (D); 3) 21h R + 3h D; 4) 21h R (flúor) + 3h D; 5) 16h R + 8h D; 6) 16h R (flúor) + 8h D. A concentração de flúor, quando presente na solução remineralizante, foi de 2ppmF. Cada grupo consistiu de no mínimo 4 espécimes de esmalte. Ganho ou perda mineral foi monitorado pela determinação da mudança da concentração de cálcio, fosfato e flúor nas soluções. Após a ciclagem de pH, metade de cada lesão foi submetida a um segundo desafio desmineralizante por 14 dias. A outra metade foi utilizada para determinação da concentração de flúor, cálcio e fosfato. Secções transversais das lesões foram medidas quanto à dureza e densidade mineral. Para a contínua remineralização delineada para os grupos 1 e 2, a quantidade de mineral (cálcio e flúor) depositado decresceu após os 3 dias iniciais. Nos grupos 3 e 5 ocorreu um constante ganho e perda de cálcio durante o período de 10 dias de ciclagem. Na presença de flúor (grupos 4 e 6), o ganho ou perda de cálcio diminuiu após o primeiro dia de ciclagem. No fim do período de ciclagem as amostras tratadas com solução remineralizante acrescida de flúor alcançaram um equilíbrio em que não mais ocorreu reparo ou lesão. A quantidade de

flúor incorporado dentro do esmalte foi mais alta para o grupo 6 (ciclagem altamente cariogênica). Além disso, o flúor foi depositado em maior profundidade na lesão. A presença de flúor na solução foi mais importante que o tempo de desmineralização, revelando que as lesões do grupo 6 tiveram um menor grau de progressão do que as lesões do grupo 5. Com relação aos perfis de dureza, os dados revelaram que as lesões do grupo 3 tiveram valores de dureza mais altos que o grupo 5 e as lesões do grupo 4 apresentaram valores de dureza mais altos que o grupo 6. Quanto a porcentagem de volume mineral, as lesões do grupo 4 e 6 mostraram-se superiores aos grupos 3 e 5.

Silverstone (1983) avaliou dois aspectos importantes do processo de remineralização em um estudo, *in vitro*. Primeiro, o efeito quantitativo que o íon flúor tem na remineralização de lesões de esmalte. Segundo, o efeito que a remineralização tem na estrutura cristalina submicroscópica da lesão. Foram utilizados dentes com lesões naturais de cárie e dentes que foram submetidos à indução de cárie artificial com gelatina acidificada. De cada dente, uma única secção longitudinal central foi obtida para atuar como controle. Características histológicas das lesões provenientes das secções (controle) foram documentadas qualitativa e quantitativamente em microscopia de luz polarizada e microrradiografia, respectivamente. As metades remanescentes de cada dente foram expostas a fluidos calcificantes com duas concentrações de cálcio (1mM e 3mM). O tempo de exposição aos fluidos calcificantes foram de 5 ou 10 consecutivos 6min, ou de 1h ininterrupta. Uma metade foi exposta a um fluido calcificante sintético, enquanto a outra metade foi exposta ao mesmo fluido acrescido de íons flúor na concentração de 0,05mM ou 0,50mM (1 ou 10ppmF). Após a exposição aos fluidos, as metades dos dentes foram seccionadas e examinadas em microscopia de luz polarizada e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os resultados indicaram que quando a concentração de cálcio no fluido calcificante foi de 3mM, a remineralização limitou-se às camadas superficiais da lesão, enquanto que quando a concentração de cálcio foi de 1mM,

ocorreu remineralização em toda a profundidade da lesão. A adição de íons flúor (1ppmF) ao fluido calcificante com 1mM de cálcio aumentou significativamente o grau de remineralização. Entretanto, com o flúor na concentração de 10ppmF não houve efeito adicional sobre o grau de remineralização. Este estudo mostra de forma clara que um dos principais mecanismos por meio do qual o flúor reduz a incidência de cárie é através da remineralização.

Wefel e Harless (1984a) utilizaram microrradiografia e microscopia de luz polarizada para comparar o efeito no esmalte de várias técnicas que produzem lesões de cárie iniciais artificiais com lesões de cárie iniciais naturais. Foram utilizados molares permanentes humanos distribuídos em 2 grupos. Um grupo foi composto por 20 dentes com sinais de lesão de mancha branca natural e o outro grupo por 30 dentes julgados hígidos, os quais foram submetidos a técnicas de indução de lesão de cárie artificial. As técnicas utilizadas foram um sistema ácido-gel, um sistema inibidor etano difosfonato (EHDP) e um sistema tampão. Após a indução de lesão artificial, os dentes foram seccionados em amostras de 80 μm . A mesma secção foi utilizada para microscopia de luz polarizada e microrradiografia. Todas as lesões de cárie naturais mostraram zona de superfície e corpo da lesão, enquanto 65% exibiram zona escura. As lesões produzidas artificialmente foram mais rasas e paralelas à superfície. As lesões artificiais produzidas pelo sistema inibidor EHDP não revelaram zona de superfície após embebição em água. O sistema tampão de lactato, quando utilizado por períodos maiores, formou lesões mais profundas, sendo somente o corpo da lesão visualizado. Após embebição em água, todas as lesões produzidas pelo sistema ácido-gel apresentaram zona de superfície birrefringente negativamente e corpo da lesão com birrefringência positiva. A profundidade da lesão foi de 250 a 300 μm e seu formato, mais triangular, o que mostra que o sistema ácido-gel produziu lesões mais parecidas com lesões de mancha branca naturais.

Essas lesões artificiais seriam os melhores substratos para estudos de remineralização ou progressão da lesão.

Com o objetivo de avaliar o efeito de aplicações tópicas de flúor em lesões de mancha branca artificiais e posterior exposição ácida (progressão da lesão), Wefel e Harless (1984b) selecionaram 84 molares permanentes humanos hígidos. Um gel de gelatina acidificada a 17% (pH 4,2) foi utilizado para produzir lesão de cárie artificial com uma profundidade média de 200 μ m. Após a formação da lesão, foi obtida uma secção da área central para determinar a condição da lesão antes do tratamento. As metades remanescentes foram designadas aleatoriamente para o grupo experimental e controle. Os agentes fluoretados utilizados foram soluções de flúor a 1,23% (w/v) de NH_4F , TiF_4 , FFA e Na_2SnF_6 . Cada metade do grupo experimental foi imersa por 4min, em 2mL da solução. Após o tratamento com flúor, foi obtida uma secção para estabelecer o efeito do tratamento na lesão antes de sua progressão. As metades foram novamente envernizadas e imersas em gel acidificado para uma segunda desmineralização. Secções foram obtidas após a progressão da lesão. Após embebição em água e quinolina, a profundidade total da lesão foi determinada por luz polarizada. O tratamento com flúor antes da progressão da lesão não produziu mudanças em sua profundidade. Entretanto, as secções controle avançaram 100 μ m em profundidade após a progressão das lesões. Apesar disso, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa após progressão da lesão, entre as secções controle e experimental, para qualquer grupo de tratamento, com relação à profundidade da lesão.

Hicks; Silverstone; Flaitz (1984) investigaram o efeito do condicionamento ácido em lesões de cárie artificiais pré-tratadas com solução de NaF 2%. Foram utilizados 36 molares e pré-molares humanos hígidos. Lesões de cárie artificiais foram induzidas com gel de gelatina acidificada (pH 4,0) por 10 a 12 semanas. Secções longitudinais foram obtidas para o controle. A face de corte das metades restantes dos dentes foi envernizada e a seguir,

procedeu à exposição de cada metade a 20mL de solução de NaF por 4min, seguida de lavagem por 10min com água deionizada-destilada. As metades dos dentes foram divididas em 12 grupos, de acordo com a concentração do ácido fosfórico utilizado e o período de exposição. As concentrações do ácido foram de 20%, 30% e 40% não tamponados e 50% tamponado com 7% de óxido de zinco. Os períodos de exposição foram de 30s, 1 e 2min. Após o condicionamento ácido, as secções foram embebidas em água e analisadas em luz polarizada. Estas lesões foram comparadas com as lesões controle. As porções remanescentes das metades dos dentes, num total de 12 lesões para cada um dos 12 grupos de tratamento, foram preparadas para avaliação ao MEV do efeito do tratamento na topografia da superfície das lesões. Pela avaliação ao MEV comprovaram a existência de coberturas globulares na superfície das lesões tratadas com NaF. A morfologia de superfície das lesões tratadas com NaF e condicionadas variou de acordo com o agente condicionante (tamponado ou não) e com a duração da exposição. Através da luz polarizada constataram a perda de esmalte da zona de superfície, com variação de 3 a 5 μ m, para todas as concentrações de ácido fosfórico aplicados por 30s. Para o tempo de 1min, os valores médios para a perda da superfície variaram entre 7 e 10 μ m. Com o condicionamento ácido por 2min, os valores médios de perda da superfície foram entre 9 e 12 μ m. A profundidade média da zona de superfície das lesões controle foi de 22 μ m e das lesões tratadas com NaF e condicionadas foi de 23 μ m quando medidas desde a superfície de esmalte condicionada. Algumas lesões controle apresentaram pseudo-isotropia da zona de superfície e algumas lesões condicionadas apresentaram zona de superfície pseudo-isotrópica e um nível abaixo, birrefringência negativa, o que indica que ocorreu deposição mineral. Os autores concluíram que o condicionamento ácido de lesões tratadas com flúor poderia facilitar a remineralização do corpo da lesão, visto que criaria vias para a difusão de cálcio, fosfato e flúor.

Holmen et al. (1986) examinaram as características histológicas e ultra-estruturais de lesões tratadas com Duraphat, *in vivo*, e reexpostas a desafio cariogênico por 14 dias. Foram selecionados 9 pacientes, entre 11 e 15 anos de idade, que apresentavam 2 pré-molares sem sinais visíveis de cárie e que seriam removidos por motivos ortodônticos. Os dentes foram bandados e após 4 semanas, um pré-molar de cada paciente foi removido (controle). Neste momento a banda do outro dente foi removida e realizou-se profilaxia com pedra-pomes, recimentação da banda e aplicação de Duraphat. Após 2 semanas o dente foi removido. Secções foram obtidas da parte central, no sentido vestibulo-lingual, e examinadas em luz polarizada. As metades remanescentes dos dentes foram examinadas ao MEV. Todas as secções do grupo controle, embebidas em água, apresentaram lesão de subsuperfície birrefringente positivamente sob uma camada de superfície com birrefringência negativa. A secagem ao ar tornou a zona de superfície pseudo-isotrópica e a profundidade da lesão variou de 120 a 210µm da superfície. As características histológicas das secções do grupo experimental (Duraphat) foram mais variadas do que as secções do grupo controle. Após embebição em água revelaram uma redução considerável da porosidade da subsuperfície, mediante uma aparência pseudo-isotrópica. A secagem ao ar conferiu zona de superfície com birrefringência positiva e, com exceção de um caso, a profundidade da lesão foi levemente reduzida em relação às secções do grupo controle. Avaliação ao MEV revelou em menor aumento que as secções do grupo controle apresentavam irregularidades na superfície, predominantemente como erosão. Em maior aumento observou-se dissolução da periferia dos cristais individuais assim como dissolução completa de grupos de cristais. Em menor aumento, as superfícies experimentais (Duraphat) pareceram com relativa lisura, sem sinais de dissolução. Os autores concluíram que, embora o tratamento com Duraphat tivesse proporcionado uma redução da porosidade da subsuperfície em relação ao grupo controle, o exame da distribuição de poros nos espécimes tratados com Duraphat mostraram uma nova

lesão de subsuperfície em desenvolvimento. Esta constatação pode ser atribuída ao desafio ácido produzido no experimento, o qual eventualmente levará a uma perda mineral maior.

Hicks (1986) avaliou os efeitos do condicionamento ácido nas lesões de cárie artificiais pré-tratadas com solução de flúor-fosfato acidulado (FFA), com respeito ao padrão de condicionamento e quanto às características histopatológicas das lesões de cárie. Foram selecionados 36 molares e pré-molares humanos. Lesões de cárie artificiais foram produzidas com gel de gelatina acidificada (pH 4,0) por 12 semanas, tanto na superfície vestibular quanto na lingual. A seguir, os espécimes foram seccionados longitudinalmente em 3 metades. A metade central serviu como controle. Antes da aplicação da solução FFA, as superfícies de corte das duas metades remanescentes foram envernizadas. Cada metade foi exposta a 20mL de solução FFA, por 4min. As metades dos dentes foram então, divididas em 12 grupos de acordo com a concentração do ácido fosfórico usado para o condicionamento ácido, 20%, 30% e 40% não-tamponados e 50% tamponado com óxido de zinco a 7%. Os períodos de exposição foram 30s, 1 e 2min. Secções das lesões controle e das lesões condicionadas e pré-tratadas com FFA foram examinadas em microscopia de luz polarizada após embebição em água. Dez lesões de cada um dos grupos de tratamento foram examinadas e comparadas com suas lesões controle. A profundidade média das zonas de superfície foi determinada para ambos grupos controle e tratamento, assim como a média da perda de superfície dos grupos de tratamento. Dez lesões de cada um dos grupos de tratamento foram avaliadas ao MEV, a fim de determinar o efeito do tratamento na topografia da superfície. A perda de esmalte da zona de superfície variou de 5 a 6 μ m para todas as concentrações de ácido fosfórico em um tempo de exposição de 30s. Com o tempo de exposição de 1min, a média das perdas de superfície variou de 10 a 14 μ m, tendo a solução ácida tamponada o menor valor. Com o tempo de 2min, a média da perda de superfície variou de 12 a 16 μ m. A maior perda de esmalte da zona de superfície ocorreu quando a lesão foi condicionada com ácido fosfórico a

20% por 2min. A profundidade média da zona de superfície para a lesão controle foi de 27 μ m e para a lesão tratada de 26 μ m, quando medida desde a superfície de esmalte condicionada. A morfologia da superfície das lesões tratadas foi dependente do ácido fosfórico, tamponado ou não, e do tempo de condicionamento. Embora o condicionamento ácido da superfície da lesão FFA resulte em perda da superfície do esmalte, a zona de superfície pareceu similar àquela da lesão controle. Os autores concluíram que o condicionamento ácido de lesões tratadas com FFA pode permitir uma maior velocidade e grau de remineralização em função da presença de microporosidades e maiores níveis de flúor na lesão. As microporosidades podem aumentar a área da superfície disponível para interação com fluidos bucais, além de fornecer vias para o corpo da lesão.

Featherstone et al. (1986) utilizaram-se de resultados de um experimento, *in vivo*, com o intuito de desenvolver um modelo de ciclagem, *in vitro*, que os representasse de forma qualitativa e quantitativa. O experimento desenvolvido, *in vitro*, avaliou o efeito de baixas concentrações de flúor em saliva artificial. O experimento, *in vivo*, foi composto por 20 pacientes, que possuíam bráquetes ortodônticos em dentes experimentais, distribuídos em 4 grupos: grupo A (dentífrico NaF); grupo B (dentífrico NaF e bochecho diário NaF a 0,05%); grupo C (dentífrico NaF e gel FFA a 1,23%, semanalmente) e grupo D (dentífrico NaF, bochecho NaF a 0,05% e gel FFA a 1,23%). Após 1 mês, os dentes foram extraídos, seccionados e avaliados quanto a microdureza transversal. Os resultados de dureza foram convertidos em % de volume mineral. O modelo de ciclagem, *in vitro*, comparou o efeito do dentífrico NaF (1000ppmF) com o dentífrico MFP (1000ppmF), em coroas de esmalte humano de molares e pré-molares. Cada grupo teste constituiu-se de 10 dentes, os quais foram submetidos a solução desmineralizante por 6h, seguida de tratamento por 5min com pasta fluída de dentífrico. A seguir, os dentes foram imersos por 17h em saliva artificial. Este sistema de ciclagem foi repetido por 14 dias, exceto nos fins de semana quando os dentes

foram armazenados em saliva artificial. Além dos grupos tratados com dentifrício, um grupo foi submetido ao ciclo de desmineralização e remineralização (Des/Rem) e outro, à desmineralização (Des). Após a ciclagem, os dentes foram seccionados longitudinalmente e avaliados quanto a microdureza transversal. Os valores de dureza foram convertidos em % de volume mineral. Este modelo de ciclagem foi também utilizado para avaliar o efeito de concentrações de flúor (0,005 mg/L; 0,03 mg/L; 0,04mg/L; 0,1mg/L e 0,5mg/L) em saliva artificial sobre o esmalte de dentes humanos. Cada grupo teste foi constituído por 10 dentes. Após o período de ciclagem, amostras foram preparadas e avaliadas quanto a dureza da secção transversal. Os resultados do experimento, *in vivo*, demonstraram que o grupo A sofreu desmineralização até 75µm de profundidade, com variação da perda mineral de 14% a 25µm até 0 a 75µm. No grupo B e C observou-se completa inibição de desmineralização, com perfis de dureza próprias de esmalte normal. Quanto aos experimentos, *in vitro*, constatou-se para o grupo dentifrício NaF desmineralização até 75µm de profundidade, com a perda de volume mineral variando entre 5 e 15%. A perda mineral no grupo MFP foi mais severa (até 36%) e ocorrendo até 120µm. Os perfis minerais do grupo Des/Rem e Des foram quase idênticos. A adição de 0,03mg/L de flúor em saliva artificial obteve um efeito significativo na redução da profundidade da lesão e da perda mineral (de 65% para 45% no corpo da lesão). Os autores concluíram que aplicações freqüentes de produtos fluoretados em baixa concentração são efetivos no combate à cárie, até mesmo em situações de alto desafio cariogênico.

Mellberg; Lass; Petrou (1988) investigaram a habilidade de géis de FFA 1,23% e NaF 2% em inibir a progressão de lesão de cárie artificial. Quarenta blocos de esmalte de molares humanos foram submetidos a períodos simulando desafio cariogênico e a períodos de remineralização. Lesões de cárie artificiais foram produzidas nos blocos de esmalte através da imersão em solução acidificada por 16h. Em seguida, os blocos foram lavados e imersos em

solução remineralizante por 8h. Após nova imersão em solução acidificada por 16h, 10 blocos de esmalte (controle) foram analisados para determinar a extensão da lesão formada. Os 30 blocos remanescentes foram tratados com FFA, NaF ou água por 4min, e então, imersos novamente em solução remineralizante por 8h. Os ciclos de desmineralização e remineralização foram conduzidos por 6 dias, sendo as soluções trocadas diariamente. Um segundo tratamento com flúor foi realizado antes da última imersão em solução acidificada e remineralizante. A extensão da formação da lesão foi determinada através de microrradiografia quantitativa computadorizada e a quantidade de perda mineral através da área integrada entre perfis de densidade mineral do esmalte hígido e do esmalte dos espécimes de tratamento. A perda mineral das lesões não tratadas foi relativamente pequena. Os blocos tratados com água desenvolveram lesões mais acentuadas e a perda mineral estendeu-se para uma profundidade maior que 100 μ m da superfície. O tratamento com NaF inibiu de forma considerável a progressão da lesão enquanto que o tratamento com FFA inibiu por completo a progressão da lesão, além de produzir remineralização.

Seppä (1988) avaliou a eficácia de vernizes fluoretados e de uma solução de fluoreto de sódio na remineralização de 120 blocos de esmalte humano hígidos, desmineralizados por 6h em solução tampão de ácido láctico. Os blocos foram divididos aleatoriamente em 6 grupos (20 blocos cada) e armazenados em saliva artificial durante os 9 dias do experimento. A saliva foi renovada todos os dias. Durante 9 dias, um grupo não recebeu qualquer tratamento (Grupo Controle) e os outros grupos foram tratados com uma (primeiro dia) ou três (primeiro, quarto, sétimo dia) aplicações de verniz Duraphat nas concentrações de 2,3% e 1,1%, e com solução de fluoreto de sódio a 0,1% diariamente. Uma vez por dia os blocos foram removidos da saliva, imersos por 30min em solução de ácido láctico tamponado. Após este período os blocos foram lavados e recolocados na saliva artificial. No fim do experimento, a fim de determinar a resistência ácida e a absorção de flúor pelo esmalte, os blocos foram cobertos com cera,

exceto uma pequena área, e imersos por 1h em solução de ácido lático tamponado. A quantidade de cálcio e flúor dissolvido foi determinada através de espectrofotometria de absorção atômica e eletrodo específico, respectivamente. A leitura da microdureza do esmalte de cada bloco foi realizada inicialmente, após desmineralização por 6h, após o nono dia e após 1h de desmineralização, com indentador Vickers. Os vernizes fluoretados foram mais efetivos do que a solução de fluoreto de sódio. A absorção de flúor pelo grupo verniz a 2,3% foi maior do que o verniz a 1,1% e a solução NaF. Três aplicações de Duraphat 2,3% foram ligeiramente mais efetivas do que qualquer dos outros tratamentos com vernizes, mas uma aplicação de Duraphat 2,3% não foi mais efetiva do que os tratamentos com Duraphat 1,1% (1x e 3x). O esmalte tratado 3x com Duraphat 2,3% ou 1,1% apresentou a maior resistência ácida durante a 1h de desmineralização.

Van Dorp e Ten Cate (1992) compararam a efetividade de selantes de fôssulas e fissuras e de compostos fluoretados em inibir ou reduzir a progressão de lesão de cárie em esmalte de fissuras e de superfície lisa. Foram utilizados terceiros molares humanos impactados, os quais foram embutidos em resina epóxica e selados com verniz ácido-resistente, com exceção de uma área na fissura e em superfície lisa. A seguir, os espécimes foram radiografados numa direção ocluso-apical e submetidos a desafio cariogênico, *in vitro*, por 9 semanas. Após 4 e 9 semanas, os espécimes foram radiografados para registrar a perda mineral. Quarenta e oito molares foram divididos em 8 grupos de 6 espécimes: grupo 1 (Desmineralização por 14 semanas - controle negativo); grupo 2 (Selante Delton e desgaste); grupo 3 (Selante White e desgaste); grupo 4 (Desgaste); grupo 5 (Duraphat – 72h a 37°C); grupo 6 (Elmex 1,23% F - 72h a 37°C); grupo 7 (Sondagem) e grupo 8 (Desmineralização por 9 semanas – controle positivo). Após os tratamentos, os espécimes foram submetidos a 5 semanas adicionais de desmineralização. Em seguida, novas radiografias foram realizadas e os espécimes foram totalmente embutidos em resina epóxica. Secções transversais, incluindo

a região de fissura e a superfície lisa, foram obtidas e fotografadas em microscopia de luz. O grupo 1 apresentou lesão severamente aumentada após 5 semanas adicionais de desmineralização quando comparado com o grupo 8, submetido a 9 semanas de desmineralização. As lesões foram principalmente restritas às paredes da fissura. A desmineralização em fissuras estreitas mostrou-se menos homogênea do que em fissuras rasas. O microscópio de luz revelou nos espécimes dos grupos dos selantes, em locais submetidos a força de desgaste, um aumento irregular da progressão da lesão. Em sítios onde o selante ainda estava presente, nenhuma progressão da lesão foi observada. A imagem de raios-X revelou progressão da lesão na região da fissura, em particular, para o grupo 2. O grupo 4 mostrou aumento irregular da progressão da lesão em todas as direções, para ambas superfícies observadas em microscópio de luz e em imagens de raios-X. Em geral, o tratamento com Duraphat não protegeu contra a progressão da lesão na região da fissura, quando comparado com o controle negativo. No grupo 6 observou-se ao raio-X progressão da lesão em ambas superfícies, comparável com o grupo 8 e menor do que o grupo 1. Os espécimes sondados revelaram em microscópio de luz progressão da lesão em direção lateral nas paredes da fissura. Desmineralização aumentada não foi observada na base da fissura, provavelmente pelo não alcance desta região pela sonda. Os autores concluíram que o uso de sonda no exame de lesões deve ser abandonado e o uso de selantes em combinação com flúor deve ser encorajado.

Seppä; Leppänen; Hausen (1995) compararam o efeito preventivo de um verniz fluoretado (Duraphat[®]) e de um gel de flúor-fosfato acidulado (Nupro). Um total de 254 crianças (entre 12 e 13 anos de idade), com alta experiência de cárie, foi dividido aleatoriamente em 2 grupos (verniz: 125 crianças; gel: 129 crianças). Os participantes receberam aplicações semi-anuais das substâncias fluoretadas por 3 anos. A média de CPOS total no início do estudo foi de 6,8 (grupo verniz) e 8,0 (grupo gel). Durante o estudo, a média

de CPOS para os grupos verniz e gel foram 6,8 e 7,7, respectivamente, quando lesões iniciais de cárie foram incluídas, e 3,1 e 3,6 quando lesões iniciais de cárie foram excluídas. Nas superfícies oclusais a diferença entre os grupos foi muito pequena e a favor do grupo gel. A diferença foi mais evidente em superfícies proximais (verniz: 1,4 e gel: 1,9), embora não estatisticamente significativa.

Garcia-Godoy et al. (1995) compararam o efeito do tempo de aplicação de gel acidulado (1,23%) na formação de lesões de cárie artificiais em esmalte. Dez molares permanentes humanos hígidos, selecionados para o estudo, *in vitro*, foram seccionados em 4 partes. Um verniz ácido-resistente foi aplicado nos quartos de dentes, com exceção de uma janela no terço médio vestibular e lingual. Cada quarto de dente foi designado para um dos 2 grupos de tratamento: 1) 1min de gel FFA nos quartos disto-vestibular e disto-lingual; 2) 4min de gel FFA nos quartos mésio-vestibular e mésio-lingual. Após o tratamento com gel acidulado, verniz foi removido das adjacências das janelas de esmalte hígido tratadas com flúor. Esta área exposta hígida serviu como controle. Lesões de cárie artificiais foram produzidas nas janelas teste e controle com gel de gelatina acidificada (1,0mM de cálcio, 0,6mM de fosfato e 0,05mM de fluoreto, pH 4,75) por 10 semanas. Secções longitudinais foram obtidas de cada quarto de dente, embebidas em água e avaliadas em microscopia de luz polarizada. A profundidade da zona de superfície e do corpo da lesão foi quantificada por 5 medidas, por secção. As médias das profundidades da zona de superfície para o grupo controle e ambos grupos de tratamento foram similares. As zonas de superfície variaram de 15 a 18 μ m em profundidade e foram compostas de esmalte birrefringente negativamente, indicando um volume de poros menor que 5%. A profundidade do corpo da lesão revelou médias com diferenças significativas entre o grupo controle (186 μ m) e grupos FFA 1min (117 μ m) e FFA 4min (111 μ m). Entretanto, as diferenças não foram significativas entre os tratamentos 1 e 4min com FFA.

Øgaard et al. (1996) avaliaram o desenvolvimento e a progressão de lesões de cárie induzidas, *in vivo*, com ou sem aplicação de verniz fluoretado (Duraphat®), em esmalte hígido e cariado. A perda mineral e as mudanças estruturais foram avaliadas através de microrradiografia quantitativa e microscópio de varredura a laser, respectivamente. Bandas ortodônticas foram fixadas em pré-molares, que seriam extraídos por razões ortodônticas, para induzir cárie de esmalte na superfície vestibular. A parte do estudo relativa ao desenvolvimento de cárie foi composta por 6 pares de pré-molares, sendo que 1 dente de cada par recebeu, no início, uma aplicação de Duraphat®. O contralateral serviu como controle. Todos os dentes foram extraídos após 4 semanas. A parte do estudo relativa à progressão da lesão de cárie foi composta por 4 pares de pré-molares, que também foram bandados. Após 4 semanas sem qualquer tratamento, um pré-molar de cada par foi extraído e analisado (controle). Os contralaterais receberam uma aplicação de Duraphat® e foram extraídos após 2 semanas adicionais. Com relação ao desenvolvimento da lesão, a análise microrradiográfica mostrou que o tratamento com Duraphat® em esmalte hígido reduziu a profundidade de lesão perto de 48% quando comparado com o grupo controle. Não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo tratado e controle quanto aos valores de perda mineral. Com relação à progressão da lesão, nenhuma diferença significativa foi encontrada quanto à profundidade das lesões ou perda mineral entre os dentes não tratados e extraídos após 4 semanas e os dentes com lesões tratados com flúor e extraídos após 2 semanas adicionais. As imagens ao microscópio de varredura estavam de acordo com as mensurações em microrradiografia.

Lijima et al. (1999) compararam a remineralização, *in vitro*, de lesões iniciais naturais e lesões artificiais. Foram utilizadas secções finas de esmalte obtido de pré-molares humanos. As secções com lesões naturais e as secções com lesões artificiais, produzidas por um gel acidificado, foram fixadas aos pares em um suporte. As secções foram microrradiografadas no início e após 2 e 4 semanas de remineralização (solução com 1ppmF e pH 7). A solução

remineralizante foi trocada toda semana. Os resultados mostraram que os valores de profundidade da lesão não mudaram significativamente após 2 e 4 semanas de remineralização. O acúmulo mineral, entretanto, foi substancial e significativo em lesão natural e lesão artificial. Embora o acúmulo de mineral na lesão natural ter sido duas vezes maior do que na lesão artificial nos mesmos períodos de remineralização, ambas secções lesão natural e lesão artificial remineralizaram similarmente, *in vitro*.

Pearce; Larsen; Coote (1999) utilizaram 17 molares humanos, hígidos ou com lesão de cárie visível nas fissuras, com o objetivo de mapear a distribuição de flúor e cálcio no esmalte superficial das fissuras oclusais e de determinar a relação entre as variações na concentração de flúor e a ocorrência de áreas desmineralizadas no esmalte e dentina subjacente. Foram realizadas secções longitudinais através das fissuras, sendo que a condição de cárie de secções de fissura de 7 dentes foram determinadas por microrradiografia e de secções de fissura de 10 dentes foram determinadas visualmente após secagem. Todas as 17 amostras foram mapeadas pela sonda de próton para quantificar flúor e cálcio. Verificou-se na superfície de esmalte hígido de sulcos e fissuras alta concentração de flúor, variando entre 1800 e 4200ppmF. Em lesões iniciais a concentração de flúor variou entre 1900 e 7200ppmF. Nestas lesões um aumento de flúor foi ocasionalmente visto no corpo da lesão. Em lesões de cárie avançadas, as concentrações de flúor foram consideravelmente elevadas, variando entre 2700 e 10.000ppmF. Os autores sugerem que a alta concentração de flúor detectada no esmalte mais externo é adquirido durante a maturação pré-eruptiva, momento em que o esmalte é mais poroso. Concentrações aumentadas de flúor em lesões de subsuperfície do esmalte de fissura não foi encontrado, fato que faz pressupor que o flúor não se difunde para o interior da parte mais profunda da lesão, tendo assim, pequeno efeito na progressão de tais lesões.

Zimmer; Robke; Roulet (1999) avaliaram a efetividade de um verniz fluoretado (Duraphat) em uma comunidade com baixo nível sócio-econômico e apresentando altos níveis

de cárie. O índice CPOD foi registrado no início e no final do estudo, perfazendo um total de 269 crianças examinadas. Ambos os grupos do estudo, controle e teste receberam uma vez por ano educação para saúde dental, a qual compreendia instruções de higiene, escovação supervisionada e recomendação nutricional. O grupo teste recebeu 3 a 4 aplicações de verniz fluoretado por ano. O grupo controle consistiu de 143 crianças e o grupo teste de 126 crianças. Dentre as 126 crianças do grupo teste, 16 foram excluídas da análise de dados, pois durante o período do estudo (4 anos) receberam menos de 3 aplicações de verniz fluoretado. As 110 crianças do grupo teste foram então divididas em grupos A e B. O grupo A (43 crianças) recebeu menos de 8 aplicações de verniz no período do estudo. O grupo B (67 crianças) recebeu no mínimo 8 aplicações no período do estudo, que compreendia um mínimo de 2 aplicações por ano. Não foi constatada diferença estatisticamente significativa em relação às médias do escore CPOD, entre os grupos teste (A e B) e o grupo controle, no exame inicial e final. Quanto ao incremento de cárie, detectou-se uma diferença estatisticamente significativa entre o grupo B e o grupo controle. A inibição no incremento de cárie foi de 37% no grupo B. A diferença não foi significativa entre o grupo A e controle. Os autores constataram, assim, que a frequência de 2 aplicações anuais de verniz fluoretado mostrou-se efetiva em inibir a ocorrência de cárie.

Hicks et al. (2001) averiguaram o efeito de vernizes fluoretados no desenvolvimento de cárie em esmalte decíduo. Quarenta dentes decíduos foram distribuídos em 4 grupos de tratamento: 1) Duraphat (NaF 5%); 2) Duraflor (NaF 5%); 3) Cavity Shield (NaF 5%); 4) Controle. Os dentes foram cobertos com um verniz ácido-resistente, com exceção de uma janela de esmalte hígido em superfície lisa (5x1mm). Após os tratamentos, os grupos foram submetidos a termociclagem (500 ciclos de 5° a 50°C) em saliva sintética. A seguir, os espécimes foram suspensos em um meio para produção de cárie artificial (2,2mM de cálcio, 2,2mM de fosfato, 50mM de ácido acético, 0,5ppmF, pH 3,9) por 10 dias. Cinco secções

longitudinais foram obtidas por espécime e avaliadas em microscopia de luz polarizada quanto à profundidade do corpo da lesão. A água foi utilizada como meio de embebição. O tratamento com verniz fluoretado proporcionou decréscimo significativo na profundidade do corpo da lesão quando comparado com o grupo controle. A redução da profundidade da lesão foi similar entre os grupos tratados com verniz, variando entre 28% e 34%. O maior efeito preventivo foi encontrado no grupo Cavity Shield (34%) e o menor no grupo Duraphat (28%). O grupo controle apresentou lesões com zona de superfície intacta, birrefringente positivamente (volume de poros > 5%). Os grupos vernizes apresentaram zona de superfície intacta, birrefringente negativamente (volume de poros < 5%), indicando decréscimo na perda mineral. O corpo da lesão dos espécimes do grupo controle exibiu um maior grau de birrefringência positiva se comparados com os grupos vernizes, indicando maior perda mineral. O corpo da lesão dos espécimes dos grupos vernizes, com revelado decréscimo de birrefringência positiva exibiam áreas pseudo-isotrópicas (volume de poros de 5%), indicativo de reduzida desmineralização. Algumas lesões dos grupos vernizes apresentavam corpo da lesão com área de birrefringência negativa. Os autores concluíram que os vernizes fluoretados proporcionaram aos dentes decíduos graus comparáveis de resistência ao desafio cariogênico.

Com o objetivo de avaliar o efeito do verniz fluoretado (Duraphat) em lesões de cárie iniciais na dentição decídua, Autio-Gold e Courts (2001) selecionaram 183 crianças (de 3 a 5 anos de idade) que foram distribuídas aleatoriamente em 2 grupos. O grupo verniz foi composto por 68 crianças e o grupo controle por 115 crianças. Os examinadores, devidamente calibrados, executaram exames ao início e após 9 meses do estudo. Foram realizadas 2 aplicações de verniz no grupo teste (inicialmente e após 4 meses). Ao final do estudo restaram 59 crianças no grupo verniz e 83 crianças no grupo controle. Aos 9 meses observaram um ligeiro aumento na prevalência de cárie no grupo controle quando comparado com o grupo verniz. No grupo controle, 36,9% das lesões iniciais ativas (oclusal, vestibular e lingual)

permaneceram inalteradas, 37,8% foram inativadas e 3,6% progrediram. No grupo verniz, 8,2% das lesões iniciais permaneceram inalteradas, 81,2% foram inativadas e 2,4% progrediram. Pelos resultados os autores sugeriram que 2 aplicações de verniz fluoretado podem ser efetivas em paralisar lesões de cárie iniciais na dentição decídua.

Delbem e Cury (2002) avaliaram o efeito do tempo de aplicação de géis fluoretados, NaF e FFA, na absorção de flúor pelo esmalte, assim como na resistência do esmalte a desmineralização sob um alto desafio cariogênico, *in vitro*. Foram utilizados 192 blocos de esmalte dental obtido de 45 terceiros molares humanos impactados. Os 192 blocos de esmalte foram divididos aleatoriamente em 4 grupos de 36 e um grupo de 48. O grupo de 48 blocos foi utilizado como controle, e os grupos de 36 blocos foram utilizados para aplicação de flúor gel, NaF 2% ou FFA 1,23%, por 1 e 4min. Vinte e quatro blocos de cada grupo de 36 foram submetidos à ciclagem de pH e os 12 blocos restantes foram reservados para análise. Após aplicação de flúor gel nos blocos dos grupos experimentais, cada bloco foi imerso em saliva humana estimulada (1mL por bloco) por 30min, a fim de simular o flúor residual presente na saliva após aplicação tópica profissional. Cada grupo foi submetido a 10 dias de ciclagem de pH, como proposta por Featherstone et al. (1986), a fim de simular um alto desafio cariogênico. Os blocos permaneciam em solução desmineralizante por 6h (20mL por bloco) e em solução remineralizante por 18h (10mL por bloco). No fim de semana os blocos foram mantidos em solução remineralizante e ambas as soluções foram trocadas antes de dar início ao novo ciclo de 5 dias. Após a ciclagem de pH, microdureza do esmalte da superfície e da secção transversal foi determinada em 12 blocos, enquanto flúor foi determinado nos 12 blocos restantes, de cada grupo. Estas análises também foram realizadas em blocos hígidos e em blocos que receberam aplicação de flúor, mas não foram submetidos à ciclagem de pH. Os autores concluíram que o gel FFA aplicado por 1 ou 4min foi mais eficiente do que o gel NaF, reduzindo a desmineralização do esmalte da superfície ou a formação de lesão de cárie. Um

tempo menor de aplicação do flúor e um produto apropriado para cada situação clínica específica deve ser considerada.

Em um estudo, *in situ*, Lagerweij e Ten Cate (2002) compararam a remineralização de lesões de cárie pré-formadas, em espécimes de incisivos bovinos, usando uma pasta dental fluoretada (1450ppmF como NaF) associada ou não a aplicações diárias de um gel fluoretado (12.500ppmF, parcialmente como NaF, Olafluor e Dectafluor, pH 4,5). A pesquisa foi composta por 26 participantes, sendo 14 participantes do grupo TP (pasta dental fluoretada) e 12 participantes do grupo TPG (pasta dental fluoretada associada a gel fluoretado). Os espécimes foram desmineralizados artificialmente (gel de metilcelulose a 8% e solução de ácido láctico a 0,1M) por 1 semana. A seguir, parte da lesão foi recoberta com agente adesivo para proteger a lesão inicial. Os espécimes foram adaptados às próteses parciais dos participantes. Os tratamentos foram realizados por 4 semanas, sendo que o grupo TP realizou escovação com pasta dental fluoretada 2x ao dia, por 2min a cada escovação. O grupo TPG, além de utilizar a pasta dental fluoretada, foi instruído para aplicar gel fluoretado nos espécimes, por 4min, à noite. Após o período de tratamento, secções com espessura de 100 μ m foram obtidas das extremidades do centro da lesão dos espécimes. As secções foram avaliadas através de microrradiografia para o cálculo da perda mineral integrada (% vol x μ m), profundidade da lesão (μ m), conteúdo mineral da zona de superfície e do corpo da lesão (% vol). Foi realizada análise de flúor solúvel em álcali e flúor estruturalmente ligado. A média de perda mineral integrada inicial não diferiu significativamente entre os 2 grupos. Após o período experimental, *in situ*, os valores de perda mineral foram de 862% e 793% vol x μ m, indicando uma redução no tamanho da lesão de 44% e 54% para os grupos TP e TPG, respectivamente. A zona de superfície no grupo TPG ganhou 27% de volume mineral e o grupo TP somente 11%. A profundidade da lesão no grupo TP foi reduzida em 25% e no grupo TPG em 35%. As concentrações de flúor (ligado e fracamente ligado) foram muito

maiores no grupo TPG ($389\mu\text{gF}/\text{cm}^2$) do que no grupo TP ($57\mu\text{gF}/\text{cm}^2$). O grupo TP apresentou mais flúor (ligado e fracamente ligado) que as lesões controle. Os autores concluíram que as lesões do grupo TPG mostraram maior remineralização e absorção de flúor do que as lesões do grupo TP. O flúor alcançou as partes mais profundas da lesão e as porosidades da superfície não foram ocluídas pelo tratamento, o que foi indicado pela remineralização que ocorreu através da profundidade da lesão.

Leme et al. (2003) verificaram o efeito de dentifrícios fluoretados associados à aplicação de gel FFA, mediado por saliva, no reparo de lesões de cárie iniciais artificiais, sob condições dinâmicas (ciclagem de pH) simulando o ambiente bucal. Blocos de esmalte, obtidos de incisivos bovinos foram selecionados para o preparo de lesões de cárie iniciais. A lesão de cárie foi produzida mediante a suspensão dos blocos em 32mL de uma solução contendo 0,05M de tampão de acetato, 50% saturado com esmalte bovino, pH 5, por 16h a 37°C. Setenta e dois blocos com cárie artificial foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos de 36 espécimes. Pré-tratamento com gel FFA, por 4min, foi efetuado em um dos grupos. Novamente, os 36 blocos de cada grupo foram aleatorizados em 3 grupos de 12 espécimes cada. Dois grupos, um tratado com gel FFA e o outro não (C), foram mantidos em ambiente úmido até a realização de análise. Os outros 4 grupos foram submetidos a ciclagem de pH para avaliar a remineralização do esmalte. Durante a ciclagem 2 grupos foram tratados com dentifrício não fluoretado, um previamente tratado com FFA (FFA + DP) e o outro não (DP). Os outros 2 grupos foram tratados com dentifrício fluoretado (FFA + DF e DF). O regime de tratamento durante a ciclagem de pH consistiu de 3 fases: 1) 1min de imersão em 50mL de pasta fluida de dentifrício, 4x ao dia, para simular escovação dental; 2) entre os tratamentos com dentifrício, os blocos foram imersos individualmente em 4mL de saliva humana a 37°C. A saliva foi substituída 2x ao dia; 3) imersão individual dos blocos em 12mL de solução desmineralizante por 2h. A ciclagem foi executada por 12 dias. A solução desmineralizante

foi trocada no 6º dia de ciclagem. Após a ciclagem de pH, análise de microdureza (superficial e da secção transversal) e determinação de flúor foram realizadas em todos os blocos de esmalte. Análise de flúor foi também realizada diariamente das amostras de saliva (diurna e noturna) e das soluções desmineralizantes (primeira e segunda semana). A porcentagem de recuperação da microdureza da superfície foi significativamente maior para os blocos tratados com dentifrício fluoretado (DF) em relação aos outros (DP, FFA + DP e FFA + DF). Os blocos tratados com FFA + DP ou FFA + DF tiveram uma recuperação da microdureza da superfície significativamente menor que o grupo DP. Com respeito à dureza da lesão cariosa, diferenças significativas entre os tratamentos somente foram observadas a distância de 20µm. Os blocos tratados com DF e FFA + DF tiveram mais altos valores de dureza (KHN) do que o grupo DP. Depósito de flúor foi mais alto no grupo tratado com FFA. A concentração decresceu significativamente após ciclagem de pH e tratamento com dentifrício não-fluoretado (FFA + DP). A redução não foi significativa após tratamento com dentifrício fluoretado (FFA + DF). A concentração de flúor nos blocos de esmalte dos grupos DF, FFA + DP e FFA + DF foi maior do que nos blocos do grupo DP. A concentração de flúor na saliva do primeiro dia foi mais alta para os grupos FFA + DP e FFA + DF. O mesmo se sucedeu com a concentração de flúor da solução desmineralizante utilizada do 1º ao 6º dia, dos grupos FFA + DP e FFA + DF. Os autores concluíram que, apesar do tratamento com FFA depositar altas quantidades de flúor no esmalte, uma aplicação freqüente de flúor em baixa concentração é mais importante para o reparo de lesões de cárie iniciais.

Maia; Souza; Cury (2003) avaliaram, sob condições dinâmicas de ciclagem de pH, o efeito combinado da aplicação de dentifrício fluoretado (Tandy) e verniz fluoretado (Duraphat) na dureza da superfície do esmalte e na absorção de flúor. Em um total de 111 blocos de esmalte de incisivos bovinos, submetidos a teste de microdureza superficial (entre 302,5 e 376,1KHN), foi produzido lesão de cárie inicial. Após este procedimento os blocos

foram novamente submetidos a microdureza de superfície. Setenta e oito blocos, com microdureza variando entre 75,9 e 168,7KHN foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos de 39 espécimes. Em um grupo foi aplicado verniz fluoretado (mantido por 24h) e o outro grupo não foi pré-tratado. Os 39 blocos de cada grupo foram novamente distribuídos de forma aleatória em 3 grupos de 13 espécimes. Dois grupos de 13, um tratado com verniz fluoretado (VF) e o outro não (C), foram mantidos em ambiente úmido até subsequente análise. Os outros 4 grupos foram submetidos a ciclagem de pH. Durante a ciclagem de pH, 2 grupos foram tratados com dentifrício não-fluoretado: um previamente tratado com verniz fluoretado (VF + DP) e o outro não (DP). Os outros 2 grupos foram tratados com dentifrício fluoretado (VF + DF e DF). Os ciclos de pH foram executados por 12 dias. Os blocos foram embebidos por 1min em 50mL de dentifrício diluído, 4x ao dia. Entre os tratamentos com dentifrícios, os blocos foram imersos em saliva artificial a 37°C. Ao meio-dia os blocos foram imersos em solução desmineralizadora por 2h. Após a ciclagem de pH, análise de microdureza e determinação de flúor foi executado em todos os blocos. Todos os grupos tiveram a dureza da superfície do esmalte aumentada. A mais alta porcentagem de recuperação da microdureza da superfície foi encontrada para o tratamento com DF, e a menor com o VF + DP. Efeito adicional não foi verificado quando da combinação de VF + DF. A saliva artificial utilizada atuou de forma efetiva em remineralizar o esmalte, visto que até mesmo o grupo DP teve a superfície do esmalte endurecida. A concentração mais alta de flúor no esmalte foi verificada no grupo DF. Todos os tratamentos (DF, VF + DP, VF + DF) mostraram diferença quanto à concentração de flúor do grupo DP. A diferença entre os grupos DF e VF + DF não foi estatisticamente significativa. Os autores concluíram que, embora uma única aplicação de verniz fluoretado seja capaz de aumentar a concentração de flúor no esmalte com lesão inicial, não traz benefícios adicionais quando associado ao dentifrício fluoretado.

Diante da literatura revisada pode se observar a escassez de trabalhos, *in vitro*, que avaliem o efeito do flúor na superfície de cicatrículas e fissuras. A quase totalidade dos trabalhos revisada foram realizados em dentes permanentes e em superfície lisa. Desta forma, é clara a necessidade de trabalhos que tentem suprir esta lacuna e que esclareçam as questões metodológicas que dificultam as pesquisas na superfície oclusal.

3 PROPOSIÇÃO

Avaliar o efeito preventivo de compostos fluoretados em alta concentração no esmalte de cicatrículas e fissuras submetido à ciclagem de pH, através de:

- a) determinação da porcentagem de volume mineral do esmalte interno das paredes da fissura a partir dos valores de dureza;
- b) avaliação das características histológicas da lesão de cárie artificial em microscopia de luz polarizada;
- c) avaliação da profundidade da lesão de cárie artificial em microscopia de luz polarizada;
- d) análise de flúor das soluções utilizadas na ciclagem de pH através do método potenciométrico.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Amostra

Foram selecionados 60 segundos molares decíduos (33 inferiores e 27 superiores), extraídos por motivos alheios a esta pesquisa e que foram doados à Disciplina de Odontopediatria, do Centro de Ciências da Saúde (CCS), da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Esta pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC e após aprovação, sob protocolo nº131/2002 (ANEXO 01), foi iniciada. Todos os procedimentos foram realizados pela autora desta dissertação, com exceção da análise das fotomicrografias de luz polarizada. Estas foram analisadas pela autora e por seu orientador.

Inicialmente, os dentes foram submetidos à profilaxia com jato de bicarbonato, lavados com água deionizada e avaliados com o auxílio de uma lupa, para análise da superfície oclusal. Foram excluídos aqueles que apresentaram cárie, selantes, manchas escurecidas e manchas claras brilhantes (indicativas de lesões de cárie estacionadas), trincas

ou quaisquer outros defeitos que poderiam interferir nos resultados do estudo. Foi realizado exame radiográfico interproximal (tempo de exposição de 0,8s) de todos os dentes com o intuito de averiguar a presença de cárie oculta em dentina.

Após a seleção, os dentes foram armazenados em solução de timol a 0,1%, pH 7 (TAKAGI; LIAO; CHOW, 2000), até o momento de sua utilização.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Preparo inicial da amostra

Previamente aos procedimentos, os dentes decíduos foram removidos da solução de timol a 0,1%, lavados com água deionizada e secos com papel absorvente (Milli S.A., Curitiba – PR). Fio ortodôntico 0,6mm (Morelli, Sorocaba – SP) foi fixado com resina acrílica autopolimerizável incolor (Vipi, Pirassununga – SP) à base da coroa dental (FIG. 1). Em seguida, os dentes foram lavados com água deionizada em aparelho de ultra-som Branson-modelo 1210 (Odontobrás, Ribeirão Preto – SP), durante 5min para a remoção de resíduos de resina acrílica de sua superfície. Após a secagem com jato de ar, as coroas dos dentes foram isoladas com 2 camadas de esmalte de unha (Risqué, Taboão da Serra – SP), ficando exposta apenas à região de cicatrículas e fissuras e a maior parte das vertentes internas das cúspides (FIG. 2). A área exposta de cada espécime foi calculada através de sua medição com um

paquímetro digital 727-2001 (Starrett, Itu – SP), a fim de se calcular o volume de solução para cada grupo quando da realização da ciclagem de pH.



Figura 1 – Fio ortodôntico fixado ao dente.



Figura 2 – Isolamento da coroa dental com esmalte, com exceção da superfície oclusal.

4.2.2 Divisão da amostra

Os espécimes foram divididos aleatoriamente em 4 grupos de 15 espécimes (QUADRO 1) e identificadas de 1 a 60.

O grupo I (Controle) foi submetido à ciclagem de pH.

No grupo II foi aplicado gel de fluoreto de sódio neutro (2% NaF, pH 7,0), por 4min e submetido à ciclagem de pH.

No grupo III foi aplicado gel de flúor-fosfato acidulado (1,23% F, 0,1M de ácido fosfórico, pH 3,6 a 3,9), por 4min e submetido à ciclagem de pH.

No grupo IV foi aplicado verniz de fluoreto de sódio a 5% (2,26% F), por 4min e submetido à ciclagem de pH.

Grupo	Nº de espécimes	Flúor utilizado	Tempo de aplicação	Nome comercial	Fabricante	Lote
I	15	—	—	—	—	—
II	15	Gel neutro NaF 2%	4min	Top Gel	Vigodent	001-03
III	15	Gel de FFA 1,23%	4min	Top Gel	Vigodent	001-03
IV	15	Verniz NaF 5%	4min	Duraphat	Colgate	08.01-04

Quadro 1 – Compostos fluoretados.

O resumo da parte experimental é dado no fluxograma a seguir (FIG. 3).

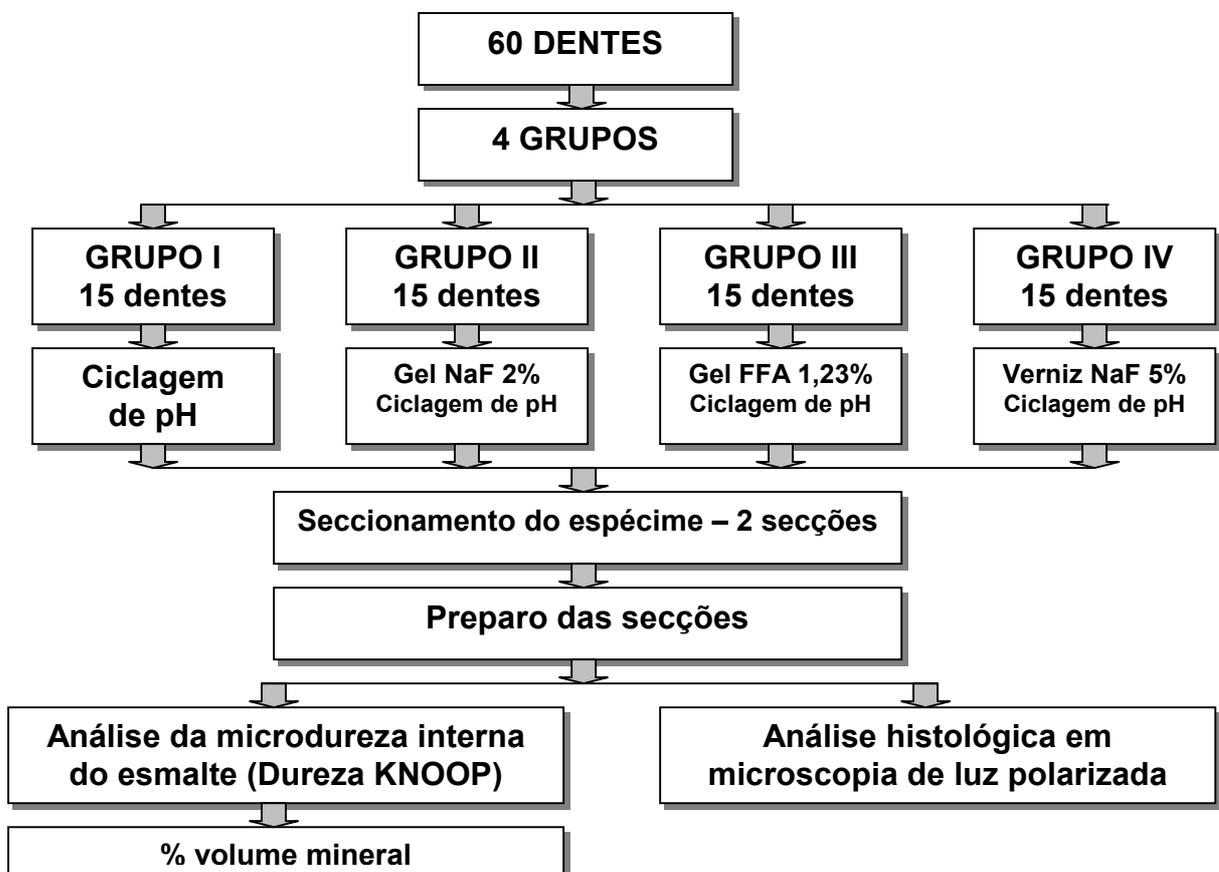


Figura 3 – Fluxograma.

4.2.3 Aplicação de compostos fluoretados nas cicatrículas e fissuras

Os compostos fluoretados foram aplicados com seringa plástica descartável (BD, Curitiba – PR) (FIG. 4) sobre as cicatrículas e fissuras dos espécimes (grupos II, III, IV) e mantidos por 4min (FIG. 5 e 6). Após o tempo estipulado de aplicação, os espécimes foram lavados com água deionizada e limpos em aparelho de ultra-som Branson-modelo 1210 (Odontobrás, Ribeirão Preto – SP) com água deionizada. No grupo que recebeu aplicação de verniz fluoretado (grupo IV), primeiramente removeu-se o excesso de verniz com uma espátula Hollemback (Duflex, São Paulo – SP), seguida da utilização de um cotonete (Johnson & Johnson Indústria e Comércio Ltda, São José dos Campos – SP) umedecido em acetona (Círio Química Ind. Ltda, Guaramirim – SC) (ACUNA et al., 1990; CRUZ; ØGAARD; RÖLLA, 1992). A seguir iniciou-se a ciclagem de pH.



Figura 4 – Compostos fluoretados: Gel NaF, Gel FFA, verniz fluoretado.

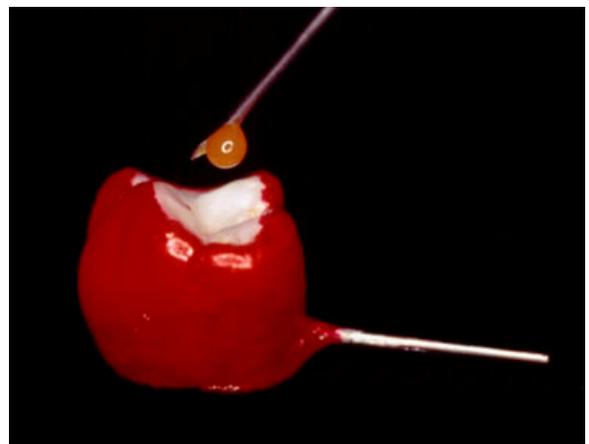


Figura 5 – Aplicação de verniz fluoretado com seringa descartável.

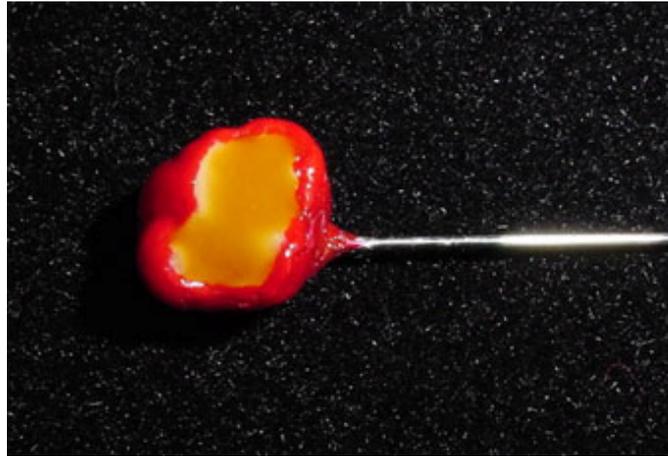


Figura 6 – Verniz fluoretado na superfície oclusal.

4.2.4 Ciclagem de pH

Utilizou-se o modelo de ciclagem de pH proposto por Featherstone et al. (1986), modificado por Chedid (1999), com o objetivo de simular um baixo desafio cariogênico (TEN CATE; DUIJSTERS, 1982). Inicialmente cada grupo foi imerso por 3h em solução desmineralizante (2,0mM de cálcio e de fosfato em 75mM de tampão acetato, pH 4,3), a uma temperatura de 37°C. Decorrido esse período, os espécimes foram lavados por 1min com água deionizada, secos com papel absorvente (Milli S.A., Curitiba – PR) e imersos em solução remineralizante (1,5mM de cálcio, 0,9mM de fosfato, 150mM de cloreto de potássio em 0,1M de tampão TRIS, pH 7,0) por 21h, a uma temperatura de 37°C. Em seguida, os espécimes foram removidos da solução, lavados por 1min com água deionizada e secos com papel absorvente (Milli S.A., Curitiba – PR). Estes procedimentos foram repetidos até completar um total de 10 ciclos. Durante o fim de semana os espécimes permaneceram em solução remineralizante, e, antes de iniciar o novo ciclo de 5 dias (8º ao 12º dia) ambas as soluções foram trocadas. Os volumes das soluções utilizadas seguiram a proporção de 6,24mL de solução desmineralizante por mm² de área da superfície oclusal exposta. Para a solução remineralizante a proporção foi de 3,12mL/mm² (CHEDID, 1999).

4.2.5 Análise de flúor das soluções

A concentração de fluoreto foi determinada nas soluções padrões e nas soluções reservadas do primeiro, quinto, oitavo e décimo-segundo dia de ciclagem, através do método potenciométrico EA-940 (ATI Orion – USA) com eletrodo de lantânio combinado, seletivo para íon flúor 96-09 ionplus (Orion – USA).

A curva de calibração (potencial *versus* log da concentração) foi estabelecida a partir de uma série de soluções padrões, com concentrações do fluoreto (NaF) preparadas em TISAB I. Através dessas concentrações foi determinada a diferença de potencial (mV) de fluoreto da amostra em relação ao fluoreto presente no eletrodo. Assim, interpolando com os valores da curva de calibração, obteve-se os valores da concentração de fluoreto nas soluções.

4.2.6 Obtenção das secções

Todos os espécimes foram seccionados em uma cortadeira elétrica Isomet (Buehler[®], Lake Bluff – IL – USA) (FIG. 7), aparelhada com disco diamantado dupla face nº 11-4253 (Buehler[®], Lake Bluff – IL – USA), longitudinalmente, no sentido vestibulo-lingual, obtendo-se 2 secções, com espessura de 1,5mm (FIG. 8 e 9). Uma secção foi utilizada para a leitura da microdureza interna do esmalte e a outra para análise histológica das lesões. As secções obtidas foram armazenadas em recipientes plásticos fechados e recobertas com lenços de papel Softy's (Papéis Melhoramentos, Caieiras – SP) umedecidos em água deionizada, conferindo 100% de umidade, até o momento de seu preparo.



Figura 7 – Seccionamento do espécime em cortadeira elétrica.



Figura 8 – Cortes no espécime superior.

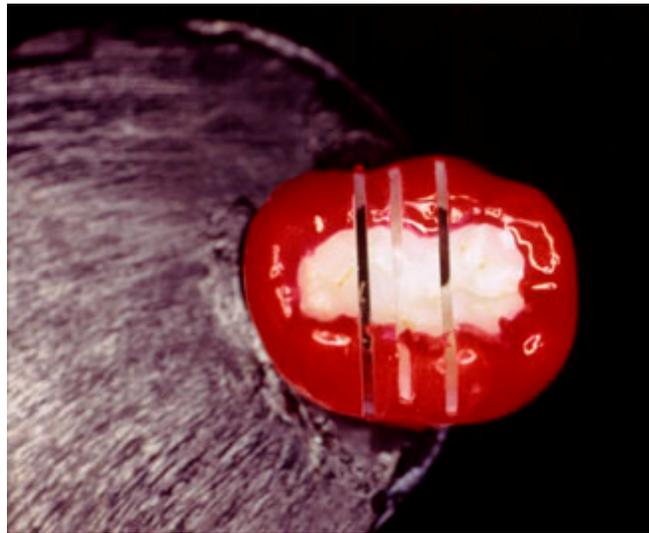


Figura 9 – Cortes no espécime inferior.

4.2.7 Preparo das secções para o ensaio de microdureza

As secções transversais definidas para análise da microdureza foram embutidas em resina acrílica autopolimerizável incolor (Vipi, Pirassununga – SP) através de embutidora (Arotec, Cotia – SP). O tempo de termopolimerização foi de 7min. O acabamento das amostras foi realizado em uma politriz DP 10 (Panambra Industrial e Técnica S.A) utilizando-se lixas d'água (Norton, Vinhedo – SP) com granulações 600 e 1200. Para o polimento foi empregado um disco de feltro azul (Arotec, Cotia – SP) umedecido em pasta de diamante 1 μ (Enila Equipamentos Ltda, São Paulo – SP) deixando-se as superfícies planas, polidas e sem irregularidades, com o intuito de evitar interferências nos testes de dureza. A cada troca de lixa e após o polimento as amostras foram lavadas com água deionizada e limpas em aparelho de ultra-som Branson-modelo 1210 (Odontobrás, Ribeirão Preto – SP) com água deionizada, durante 5min, a fim de remover resíduos de sua superfície. Até o momento da realização do teste, as amostras (FIG. 10) foram armazenadas em recipientes plásticos fechados, protegidas por lenços de papel Softy's (Papéis Melhoramentos, Caieiras – SP) umedecidos em água deionizada, a fim de evitar a desidratação e conseqüente trinca nas mesmas.



Figura 10 – Amostra polida.

4.2.8 Ensaio de microdureza interna

O teste de microdureza possibilita obter informação do grau de desmineralização ou remineralização (FEATHERSTONE et al., 1983). Desde que a lesão de cárie inicial ocorre na subsuperfície do esmalte (SILVERSTONE, 1983), medidas de microdureza em secções transversais fornecem mais detalhadamente as condições da lesão (PURDELL-LEWIS; GROENVELD; ARENDS, 1976).

A leitura da microdureza interna do esmalte foi realizada utilizando-se microdurômetro HMV 2 versão 1.23 (Shimadzu, São Paulo – SP) com penetrador de diamante Knoop. A carga estática utilizada foi de 25g (FEATHERSTONE et al., 1983) e o tempo de 10s. Foi estabelecido como limite para os valores de dureza entre 272 a 440KHN (CRAIG; PEYTON, 1958). Em cada secção foram realizadas 48 indentações, sendo 3 fileiras de 8 indentações em cada parede da entrada da fissura. As indentações foram realizadas a 10, 30, 50, 70, 90, 110, 220, 330 μ m da superfície. A distância entre as fileiras foi de 100 μ m. Após a localização da base da fissura (FIG. 11) e previamente ao início do teste, a secção foi girada na base do microdurômetro, com a finalidade de deixar a parede lateral da fissura paralela ao solo (FIG. 12 e 13). Como a base das fissuras é variável, foi estabelecido um ponto central neste local e a partir daí, uma distância foi percorrida até o local da parede lateral que se mostrasse mais paralelo ao solo para iniciar as indentações (FIG. 14 e 15).

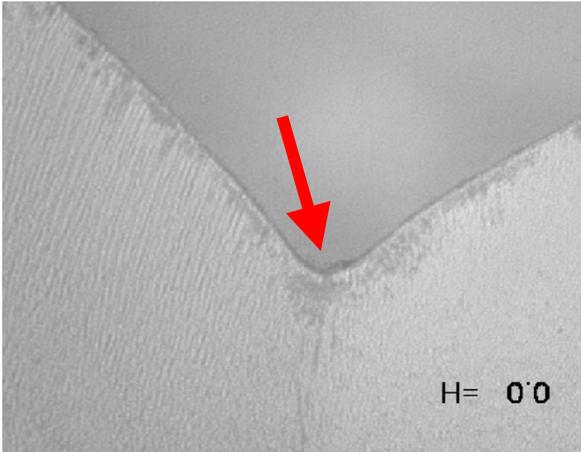


Figura 11 – Base da fissura localizada. 10x.

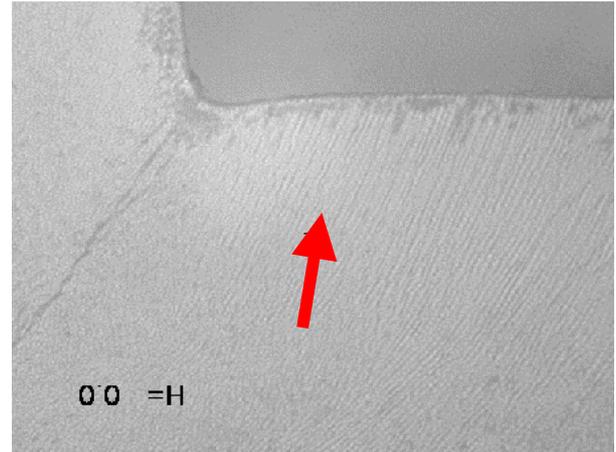


Figura 12 – Parede lateral direita da fissura paralela ao solo. 10x.

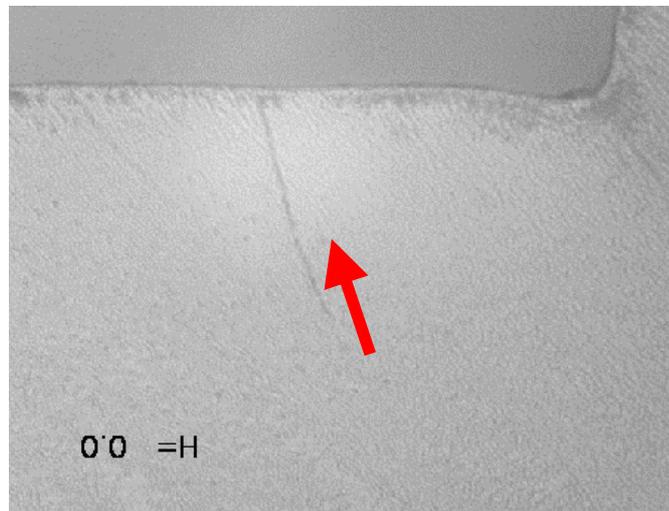


Figura 13 – Parede lateral esquerda da fissura paralela ao solo. 10x.

A indentação Knoop é feita por uma ponta diamantada especial de formato piramidal, que penetra na superfície do material a ser testado em função da carga sobre a ponta exercida, o que pode variar de 25 a 1000g (GERRARD; WINTER, 1986). A ponta piramidal produz uma indentação comprida, rasa e estreita, minimizando fraturas no material e oferecendo boa sensibilidade (PURDELL-LEWIS; GROENVELD; ARENDS, 1976). O conteúdo mineral do esmalte é, em geral, linearmente correlacionado com o comprimento da indentação

(diagonal), ou com a profundidade da penetração do indentador (ARENDS; SCHUTHOF; JONGEBLOED, 1980).

Antes de ser dado início aos procedimentos de microdureza, as secções foram inspecionadas através do microscópio acoplado ao microdurômetro, com o objetivo de se determinar quaisquer irregularidades como polimento inadequado, que pudessem interferir nos resultados do estudo.

Os valores de dureza Knoop obtidos foram convertidos em valores de % de volume mineral (FEATHERSTONE et al., 1986; WHITE; FEATHERSTONE, 1987; NELSON et al., 1992) através de uma equação derivada descrita por Featherstone et al. (1983):

$$\% \text{ vol mineral} = 4,3 \sqrt{\text{KHN}} + 11,3 \quad (r = 0,919).$$

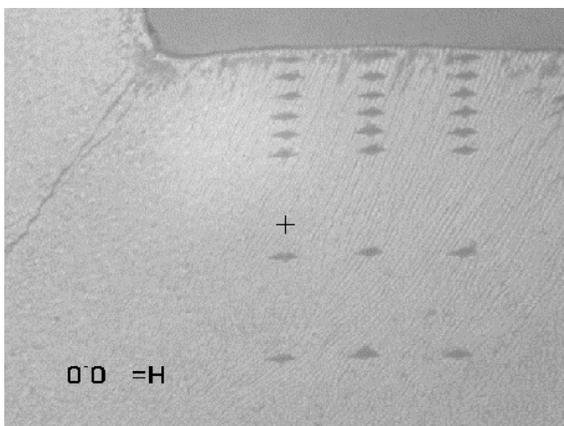


Figura 14 – Parede lateral direita da fissura após teste de microdureza com indentador Knoop. 10x.

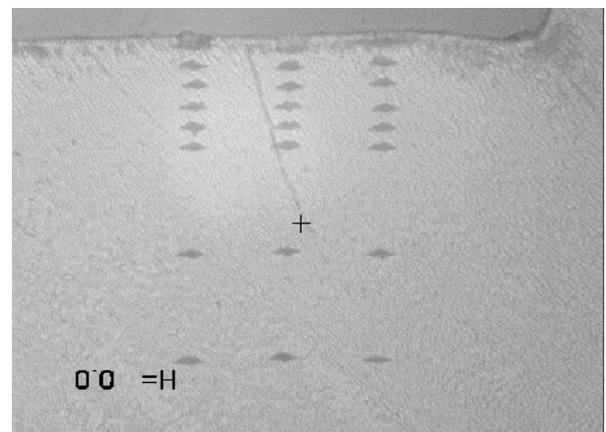


Figura 15 – Parede lateral esquerda da fissura após teste de microdureza com indentador Knoop. 10x.

4.2.9 Preparo das secções para avaliação em microscopia de luz polarizada

As secções foram lixadas com uma seqüência gradual de lixas d'água 800, 1000, 1200, 1500 e 2000 (Norton, Vinhedo – SP) até obter-se uma espessura aproximada de 200µm.

Após o lixamento e previamente (48h) ao exame em microscópio de luz polarizada BX 40 (Olympus), as secções foram embebidas em água (Índice de refração – I.R. 1,33).

4.2.10 Avaliação histológica em microscopia de luz polarizada

As secções foram examinadas em objetiva de 10x, em microscópio de luz polarizada BX 40 (Olympus) com a utilização de um filtro polarizador e fotografadas. Foram analisadas as zonas histológicas da lesão de cárie artificial. A profundidade das lesões artificiais foi medida através de uma ocular calibrada (10x), adaptada ao microscópio polarizador. A distância entre a secção e a objetiva foi constante para todas as medições e para todas as secções. Foram realizadas 3 medidas em cada parede da fissura.

A forma birrefringente depende do volume dos espaços presentes, do índice de refração do espécime e do meio de embebição (DARLING, 1958; GUSTAFSON; GUSTAFSON, 1961).

4.2.11 Análise estatística

Inicialmente fez-se a análise da distribuição dos dados para verificar o teste estatístico a ser utilizado nas análises.

Para os resultados de porcentagem de volume mineral e profundidade da lesão de cárie artificial foi utilizado o teste de análise de variância de um critério (one-way ANOVA), ao nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$).

Os valores de flúor nas soluções remineralizadora e desmineralizadora, e as características histológicas da lesão de cárie foram analisados descritivamente.

5 RESULTADOS

5.1 VALORES DE FLUORETO NAS SOLUÇÕES DESMINERALIZADORA E REMINERALIZADORA

A concentração média de fluoreto nas soluções padrões foi de $0,021\text{mgL}^{-1}$. O GRAF. 1 demonstra a concentração de fluoreto na solução desmineralizadora para os 4 grupos, ao primeiro, quinto, oitavo e décimo-segundo dia de ciclagem. A concentração de fluoreto variou de $0,017$ a $0,034\text{mgL}^{-1}$. Pode-se observar que a concentração de fluoreto no primeiro dia foi maior para todos os grupos, com exceção do grupo III, quando comparados com os grupos ao quinto dia. Quanto à concentração de fluoreto no oitavo dia para todos os grupos, observa-se uma equivalência em relação ao décimo segundo dia.

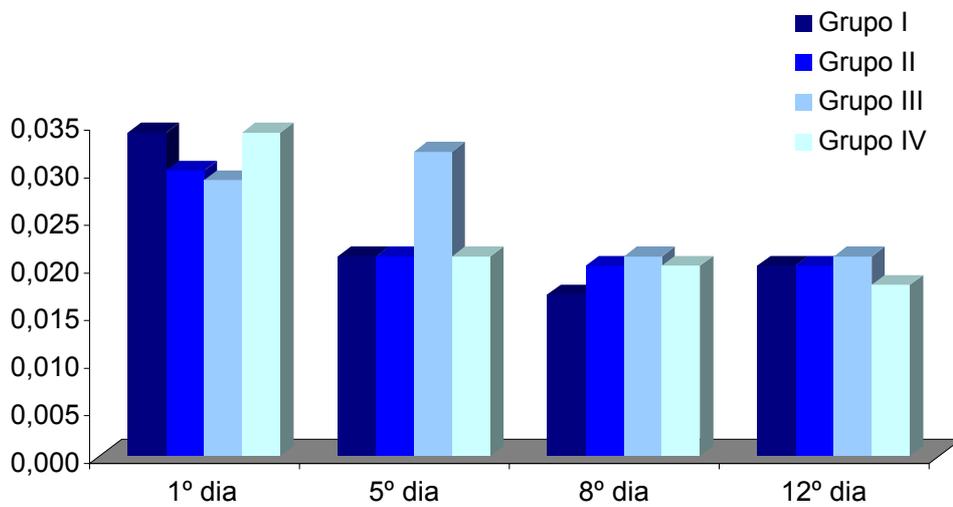


Gráfico 1 - Concentração de fluoreto (mgL^{-1}) na solução desmineralizadora.

O GRAF. 2 exhibe a concentração de fluoreto na solução remineralizadora para os 4 grupos, ao primeiro, quinto, oitavo e décimo-segundo dia de ciclagem. A concentração de fluoreto nas soluções variou de 0,017 a $0,027\text{mgL}^{-1}$. Ao primeiro dia observa-se que a solução do grupo I e IV apresentou maior concentração de fluoreto do que no quinto dia. Quanto à solução do grupo II, a concentração de fluoreto aumentou no quinto dia. No grupo III, a concentração de fluoreto nas soluções foi equivalente no primeiro e quinto dia.

A solução remineralizadora dos grupos I e IV no oitavo dia mostrou-se com maior concentração de fluoreto do que ao décimo segundo dia. A concentração de fluoreto da solução do grupo II aumentou no décimo segundo dia. A concentração de fluoreto da solução do grupo III foi equivalente no oitavo e décimo segundo dia.

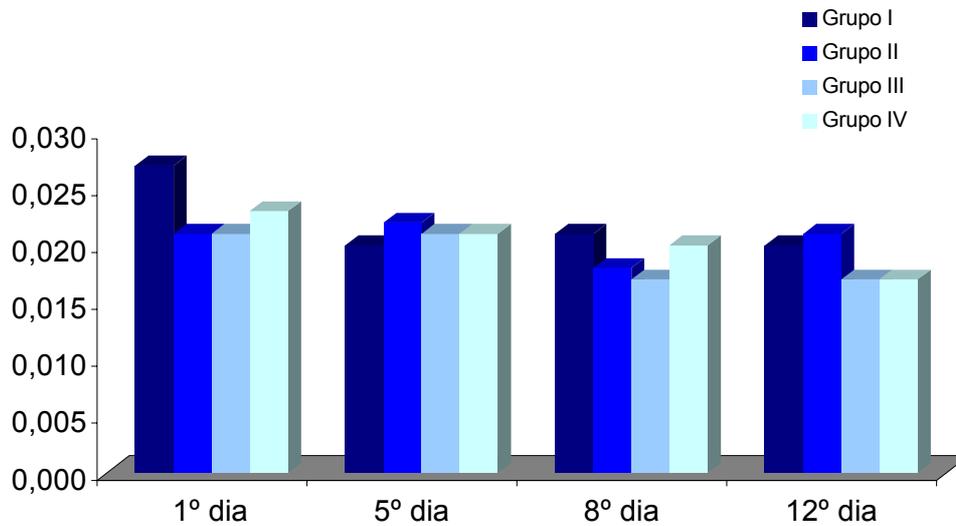


Gráfico 2 - Concentração de fluoreto (mgL^{-1}) na solução remineralizadora.

5.2 PORCENTAGEM DE VOLUME MINERAL DO ESMALTE INTERNO

Os dados de porcentagem de volume mineral foram obtidos a partir dos dados de microdureza.

Durante a realização do teste de microdureza constatou-se que 55% das secções apresentavam erosão da superfície, sendo 10% no grupo I, 13,3% no grupo II, 18,3% no grupo III e 13,3% no grupo IV. Observou-se também nas fotomicrografias do teste de microdureza, estruturas diferenciadas em regiões próximas, o que confirma o trajeto tortuoso dos prismas (FIG. 16 a 20).

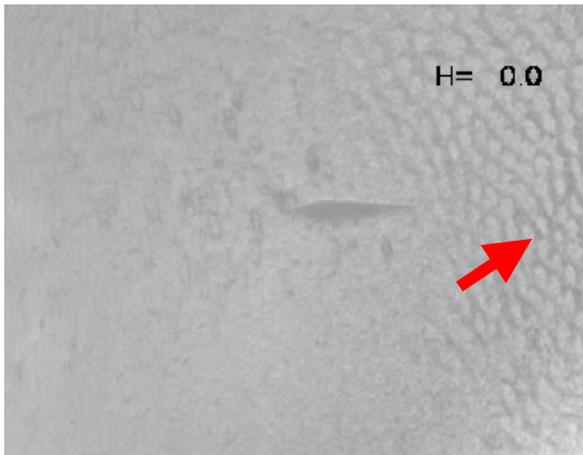


Figura 16 – Fotomicrografia de secção transversal do esmalte da superfície oclusal. Lado direito da imagem observa-se prismas em forma de "buraco de fechadura", o que aparenta um corte transversal (seta). 40x.

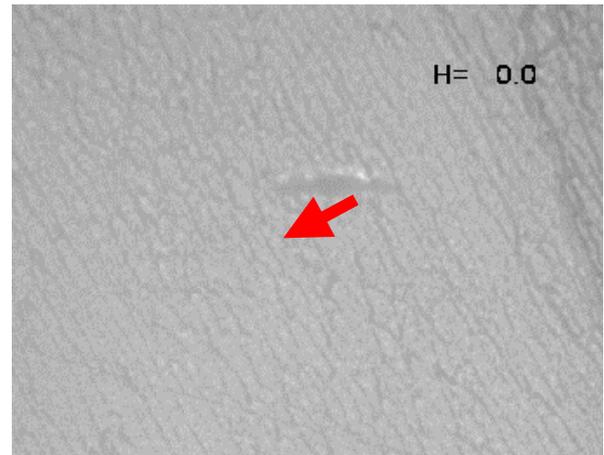


Figura 17 – Fotomicrografia de secção transversal do esmalte da superfície oclusal. Lado esquerdo da imagem, próximo ao canto inferior esquerdo, corpos dos prismas. Na região central observam-se prismas em forma de "buraco de fechadura" (seta). 40x.

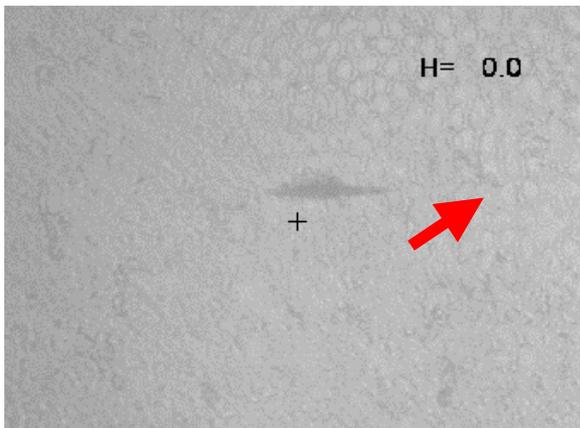


Figura 18 – Fotomicrografia de secção transversal do esmalte da superfície oclusal. Lado direito da imagem, prismas em forma de "buraco de fechadura" (seta). 40x.

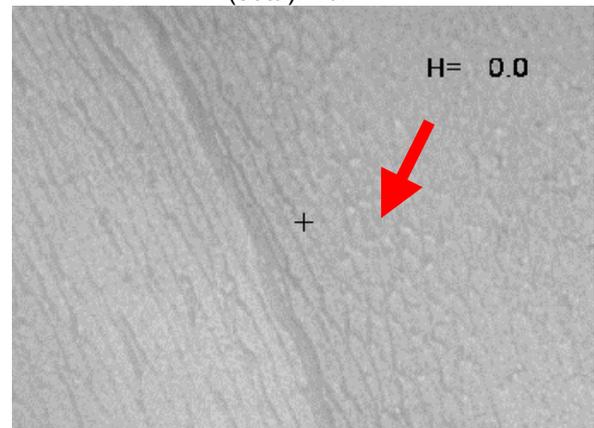


Figura 19 – Fotomicrografia de secção transversal do esmalte da superfície oclusal. Lado direito da imagem, prismas em forma de "buraco de fechadura" (seta). 40x.

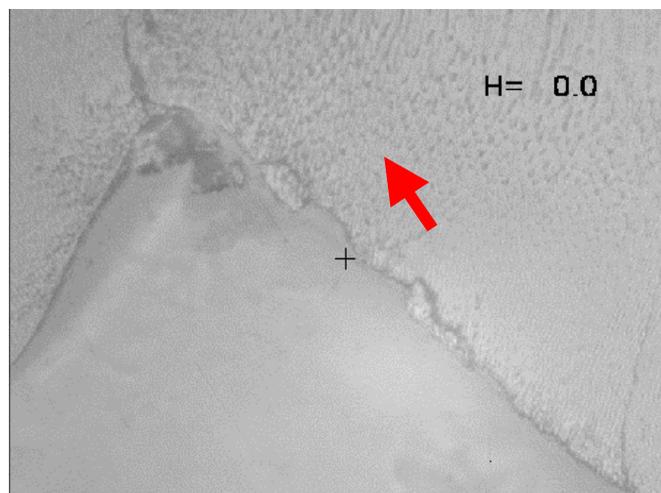


Figura 20 – Fotomicrografia de secção transversal do esmalte da superfície oclusal. Prismas em forma de "buraco de fechadura" (seta). Imagem invertida da fissura. 40x.

Na TAB. 1 observa-se os resultados da porcentagem de volume mineral nas profundidades de 10, 30, 50, 70, 90, 110, 220, 330 μ m da superfície do esmalte dos dentes decíduos submetidos a diferentes tratamentos e à ciclagem de pH.

Tabela 1 - Porcentagem de volume mineral no esmalte interno, segundo o grupo e a profundidade de indentação. Valores médios e desvios-padrão.

Profundidade	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
10 μm	64,1 (12,9)	60,1 (14,6)	67,5 (11,2)	68,4 (13,2)
30 μm	80,0 (10,3)	74,4 (16,2)	83,9 (6,8)	83,0 (7,5)
50 μm	85,2 (7,1)	87,5 (7,8)	86,6 (5,2)	86,5 (5,5)
70 μm	86,9 (7,2)	91,9 (5,3)	86,8 (5,0)	88,0 (3,6)
90 μm	88,0 (6,8)	92,7 (5,8)	88,1 (4,9)	88,0 (4,2)
110 μm	88,0 (6,9)	92,6 (5,9)	87,3 (6,2)	88,1 (4,5)
220 μm	86,9 (7,1)	91,3 (5,7)	85,3 (7,1)	87,0 (5,6)
330 μm	88,5 (6,5)	90,4 (3,5)	86,4 (6,0)	87,6 (3,8)

Observa-se que as médias nos 4 grupos foram muito parecidas. O teste ANOVA para comparação dos grupos indicou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) apenas para a profundidade de 70 μ m, entre as porcentagens médias de volume mineral no esmalte dos grupos II e III. Nessa profundidade o teste ANOVA teve valor de F igual a 2,939 e p igual a 0,04.

À distância de 10 μ m da superfície do esmalte não houve diferença de porcentagem de volume mineral no esmalte entre os 4 grupos de tratamento.

À distância de 30 μ m não houve diferença de porcentagem de volume mineral entre os 4 grupos, embora tenha havido uma média maior no grupo III.

À 50 μ m da superfície do esmalte não houve diferença de porcentagem de volume mineral entre os 4 grupos.

Os resultados da distância de 70 μ m demonstram que a porcentagem de volume mineral no grupo II foi significativamente maior que no grupo III ($p=0,04$), embora não tivesse sido estatisticamente maior que nos grupos I e IV.

Em relação à distância de 90 μ m, embora tenha havido uma média expressivamente maior no grupo II em relação aos outros grupos, a diferença não foi estatisticamente significante ($p=0,053$).

À distância de 110 e 220 μ m verificou-se também uma média maior no grupo II em relação aos demais grupos, embora a diferença não tenha sido estatisticamente significante ($p=0,067$; $p=0,08$, respectivamente).

À distância de 330 μ m não houve diferença de porcentagem de volume mineral no esmalte entre os quatro grupos ($p=0,194$).

Todos os valores de F e p estão na TAB. 2 do APÊNDICE 1.

Pelo GRAF. 3 observa-se um comportamento similar para todos os grupos. Os perfis de volume mineral mostram um aumento em mineral até aproximadamente 70 μ m.

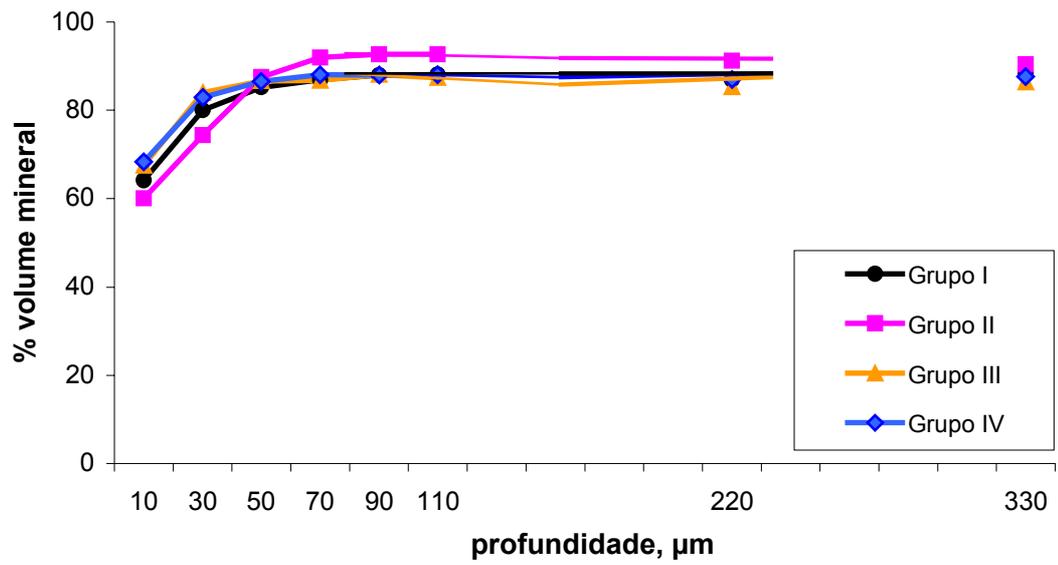


Gráfico 3 - Perfis de microdureza como porcentagem de volume mineral versus profundidade da superfície do esmalte.

Nos QUADROS 2 e 3, respectivamente, nos APÊNDICES 2 e 3 estão os valores de toda a estatística descritiva dos 4 grupos, quanto aos dados de microdureza Knoop e de porcentagem de volume mineral.

5.3 CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DA LESÃO DE CÁRIE ARTIFICIAL VISUALIZADA EM LUZ POLARIZADA

As FIG. 21 a 24 retratam fotomicrografias de luz polarizada, após embebição em água (I.R. 1,33).

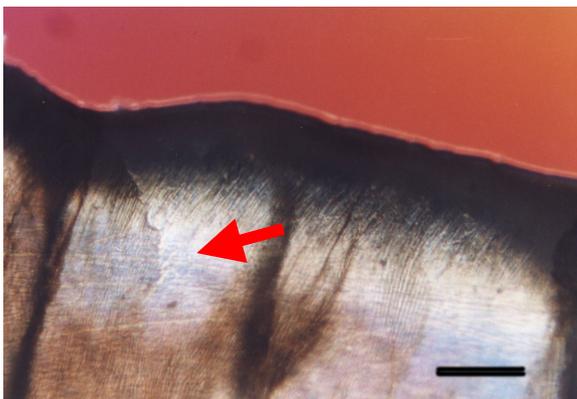


Figura 21a – Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo I. Zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão pseudo-isotrópico. Abaixo da região pseudo-isotrópica, zona de birrefringência negativa (seta). Abaixo desta zona, zona de birrefringência positiva.

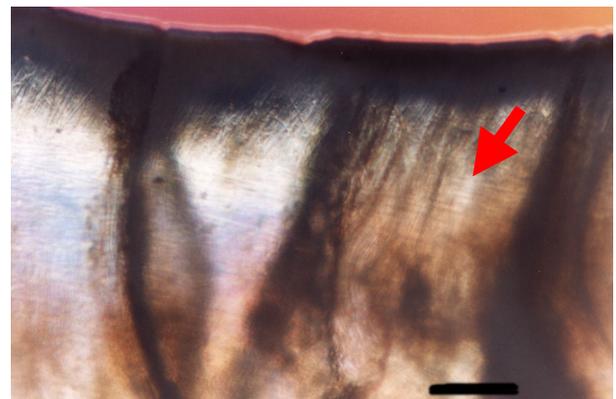


Figura 21b – Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo I. Zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão pseudo-isotrópico. Abaixo da região pseudo-isotrópica, intervalos de birrefringência negativa (seta). Abaixo, zona de birrefringência positiva.

Embebição em água. Aumento original 330X. Espaço barra 66,7µm.

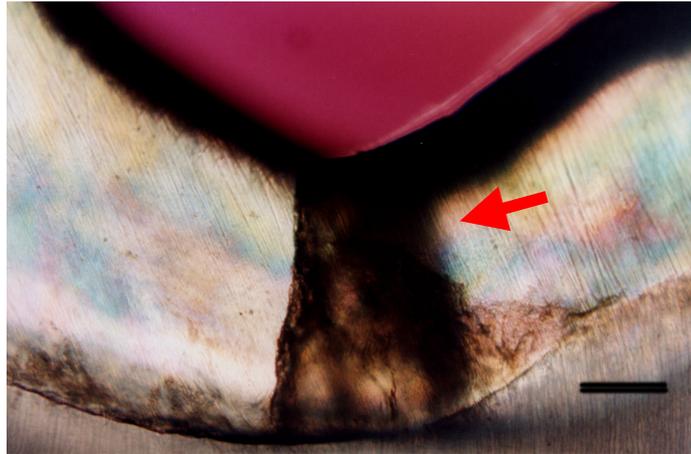


Figura 22a – Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo II. Vista central da fissura - paredes laterais com zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão pseudo-isotrópico. Base da fissura com birrefringência positiva (seta).

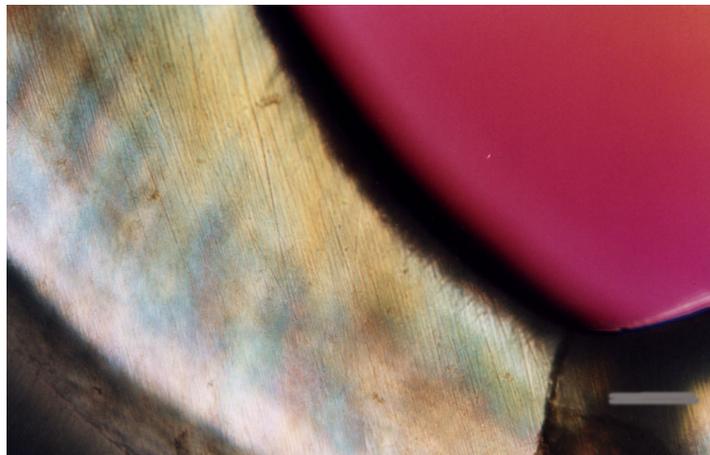


Figura 22b – Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo II. Parede lateral esquerda da fissura - zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão pseudo-isotrópico.

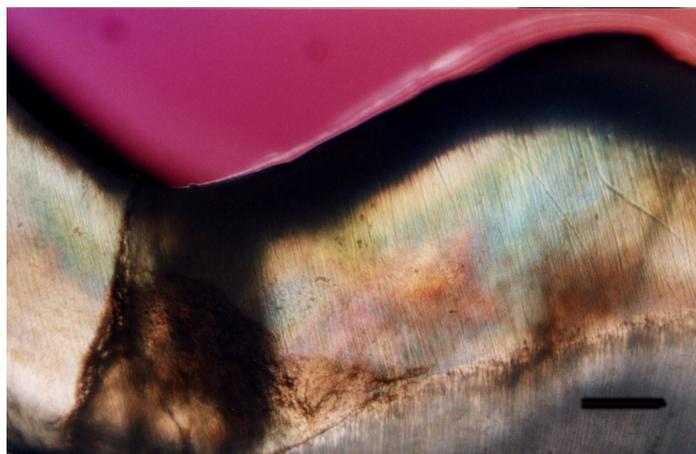


Figura 22c – Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo II. Parede lateral direita da fissura - zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão pseudo-isotrópico.

Embebição em água. Aumento original 330X. Espaço barra 66,7µm.



Figura 23a – Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo III. Vista central do sulco - zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão com birrefringência negativa intercalada com birrefringência positiva.

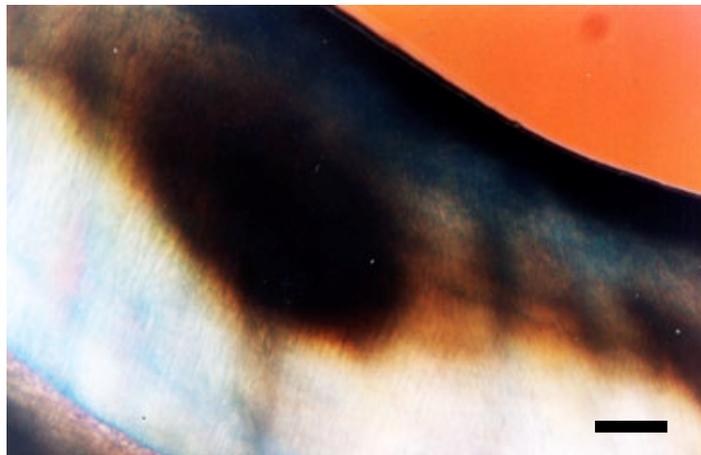


Figura 23b – Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo III. Parede lateral esquerda do sulco - zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão com pseudo-isotropia intercalado com birrefringência positiva.

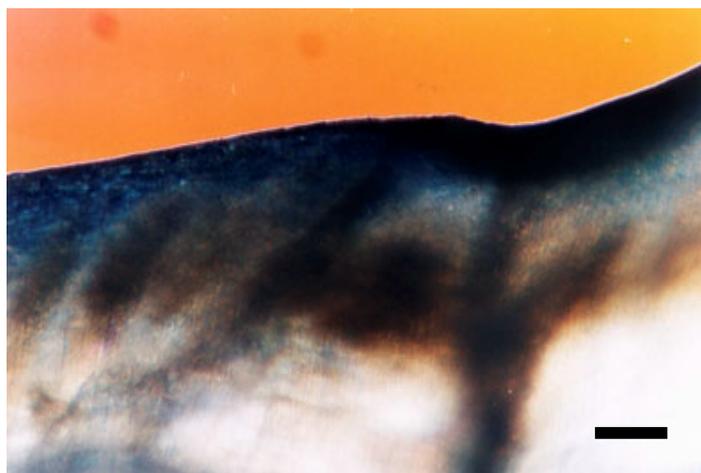


Figura 23c – Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo III. Parede lateral direita do sulco – zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão com faixas de pseudo-isotropia, birrefringência negativa e birrefringência positiva.

Embebição em água. Aumento original 330X. Espaço barra 66,7µm.

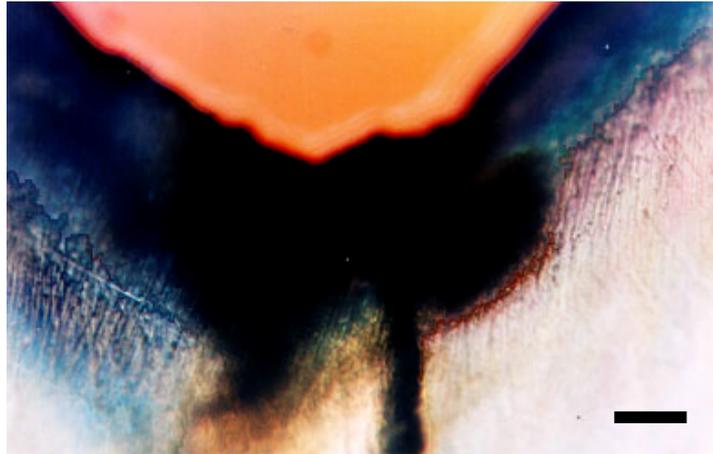


Figura 24a – Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo IV. Vista central da fissura - paredes laterais com zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão pseudo-isotrópico intercalado com birrefringência negativa.

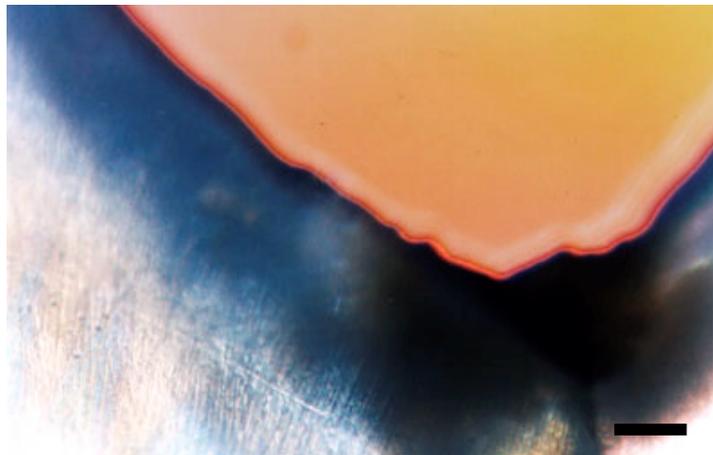


Figura 24b – Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo IV. Parede lateral esquerda da fissura - zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão pseudo-isotrópico, intercalado com birrefringência negativa.



Figura 24c – Fotomicrografia de luz polarizada de secção do grupo IV. Parede lateral direita da fissura - zona de superfície pseudo-isotrópica e corpo da lesão pseudo-isotrópico intercalado com birrefringência negativa.

7Embebição em água. Aumento original 330X. Espaço barra 66,7µm.

5.4 PROFUNDIDADE DA LESÃO DE CÁRIE ARTIFICIAL VISUALIZADA EM LUZ POLARIZADA

Os valores de profundidade das lesões de cárie artificiais, nas paredes das fissuras, estão apresentados na TAB. 3. O teste ANOVA indicou não haver diferença estatisticamente significativa entre as médias de profundidade observadas nos 4 grupos.

O desvio-padrão apresentado pelos 4 grupos revela uma grande variabilidade na profundidade da lesão para cada grupo.

Tabela 3 - Valores descritivos para profundidade em μm , da lesão de cárie artificial das secções visualizadas em microscopia de luz polarizada.

	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
média	146,9	111,3	166,2	171,7
Desvio-padrão	57,7	37,8	100,1	75,5
mínimo	71,7	56,7	51,7	53,3
1 quartil	113,3	90,8	112,5	113,3
mediana	145,0	95,0	133,3	161,7
3 quartil	160,0	148,3	175,0	216,7
máximo	316,7	178,3	396,7	301,7

F = 2,18; p = 0,10

6 DISCUSSÃO

Embora a melhor maneira de prevenir e controlar a cárie dental seja por meio de produtos fluoretados em baixa concentração e alta frequência, a combinação desse método com a aplicação de fluoretos em alta concentração é ainda necessária em indivíduos com alta atividade da doença. Por questões metodológicas e como forma de delimitar o número de variáveis procurou-se na presente pesquisa avaliar o efeito tão somente de produtos fluoretados em alta concentração. Assim, procurou-se confirmar os achados na literatura de que os compostos fluoretados aplicados profissionalmente são efetivos em reduzir a formação de cárie dental (GARCIA-GODOY et al., 1995; DELBEM; CURY, 2002).

A fluoretação da água de abastecimento assim como a utilização de dentifrícios fluoretados é uma realidade que se difundiu mundialmente e que gerou benefícios para a população em geral. Apesar disso, seja por motivos econômicos, de saneamento básico e por questões de políticas de saúde locais, uma grande parcela da população encontra-se desprotegida dos efeitos benéficos dessas fontes de flúor. Como forma de minimizar estas carências, muitos programas municipais procuram abranger as comunidades através da atenção odontológica primária. Estes programas englobam educação para saúde bucal, escovação supervisionada e aplicação de produtos fluoretados em alta concentração. Esta realidade justifica a avaliação da efetividade real desses produtos.

A menor efetividade de produtos fluoretados altamente concentrados em superfície oclusal é verificada em estudos clínicos (SEPPÄ; LEPPÄNEN; HAUSEN, 1995), entretanto, poderia se esperar uma maior eficácia caso houvesse uma remoção de placa efetiva, que segundo Carvalho; Ekstrand; Thylstrup (1989) é capaz de controlar a doença cárie. Adicionalmente à remoção adequada da placa, o fluoreto auxilia no controle da doença. Os trabalhos de Carvalho; Ekstrand; Thylstrup (1989) e Ekstrand; Bjørndal (1997) constataram que o início da lesão de cárie em superfície oclusal é influenciado pelo acúmulo de placa na entrada da fissura e não pela morfologia do sistema sulco-fossa.

Na presente pesquisa foi utilizado o modelo de ciclagem de pH, como forma de simular o processo dinâmico que ocorre na cavidade bucal frente à formação da lesão de cárie. A ciclagem tem a função de obter dados qualitativos e quantitativos que possam guiar o desenvolvimento de pesquisas clínicas. Este método combina períodos de desafio ácido com períodos de reparo da lesão (FEATHERSTONE et al., 1986, 1990), simulando, assim, a formação da lesão cariiosa, a qual é um processo alternado por eventos de desmineralização e remineralização (SILVERSTONE, 1977). Parâmetros como, tempo em que as amostras permanecem em cada solução, grau de subsaturação ou supersaturação em relação a hidroxiapatita, fluorapatita ou outras fases, e o uso ou não de saliva são os quesitos que mais variam na técnica. Na presente pesquisa, os espécimes permaneceram por 3h na solução desmineralizadora a cada dia do ciclo, visto que a proposta foi simular um baixo desafio cariogênico (TEN CATE; DUIJSTERS, 1982).

A ciclagem de pH elimina componentes salivares, com exceção do cálcio, fosfato e flúor. Este modelo, além de avaliar a efetividade de compostos fluoretados, pode ser utilizado para analisar os efeitos do flúor em baixa concentração em soluções mineralizantes (TEN CATE; DUIJSTERS, 1982; SILVERSTONE, 1983; FEATHERSTONE et al., 1986), e em soluções ácidas (TEN CATE; DUIJSTERS, 1983). Apesar de simular o processo de formação

da lesão cáriosa, *in vivo*, os resultados provenientes desta metodologia, *in vitro*, devem ser interpretados com cautela (FEATHERSTONE et al., 1990).

Ten Cate e Duijsters (1982) constataram que a presença de flúor em solução remineralizadora auxilia no mecanismo de remineralização. Em pesquisa publicada no ano seguinte, esses autores verificaram que a presença de flúor em soluções tampões ácidas reduz o grau de desmineralização. Lijima et al. (1999) verificaram, *in vitro*, que a presença de flúor em solução remineralizadora não somente aumenta a remineralização de lesões artificiais como também de lesões naturais. Estes dados fornecem evidências de que o flúor presente na cavidade bucal possui papel determinante na redução da solubilidade do esmalte e no aumento da remineralização dessa estrutura (FEJERSKOV; THYLSTRUP; LARSEN, 1981; CURY, 1989; MARGOLIS; MORENO, 1990; TEN CATE, 1990; FEATHERSTONE, 2000). Estas constatações confirmam os achados da presente pesquisa em que o grupo controle apresentou comportamento similar aos grupos de tratamento, o que pode ser atribuído ao fluoreto residual presente na solução padrão ($0,021\text{mgL}^{-1}$).

Soluções subsaturadas com relação ao cálcio e fosfato podem induzir a desmineralização da subsuperfície do esmalte (LARSEN; BRUNN, 1988; MARGOLIS; MORENO, 1990). Entretanto, a supersaturação em relação a fluorapatita é um pré-requisito para que a zona de superfície seja bem mineralizada (MARGOLIS; MORENO, 1990). Caso o meio seja subsaturado em relação a fluorapatita, é bem provável que se forme um defeito erosivo ao invés de um defeito de subsuperfície (TEN CATE, 1990). No presente estudo, 55% das amostras utilizadas para o teste de microdureza apresentaram erosão da superfície, fato que pode ser conseqüência de uma baixa concentração de fluoreto nas soluções padrões ($0,021\text{mgL}^{-1}$), possivelmente proveniente da água destilada utilizada no preparo das soluções, como também de reagentes dos tampões (FEATHERSTONE et al., 1990). O grupo III foi o que mais apresentou amostras erodidas (18,3%), seguidas pelos grupos II (13,3%) e grupo IV

(13,3%). A alta concentração de fluoreto em soluções e géis (FFA) pode ter cooperado com o processo erosivo, pois provocam uma dissolução da camada mais externa (0,1 a 0,2 μ m) do esmalte que leva a desagregação de cálcio (MARGOLIS; MORENO, 1990; LAGERWEIJ; TEN CATE, 2002). A erosão constatada nas amostras pode também ser atribuída ao processo de desmineralização e remineralização, que embora tenha simulado um baixo desafio cariogênico, pode ter representado um alto desafio, visto que os dentes utilizados nesta pesquisa foram decíduos, os quais já apresentavam desgaste da superfície oclusal, decorrente do processo mastigatório. Esta afirmativa é corroborada por Silverstone (1968), que constatou uma maior velocidade de progressão de lesões produzidas em esmalte desgastado do que em esmalte não desgastado.

A concentração de fluoreto encontrada na solução desmineralizante do primeiro, quinto, oitavo e décimo segundo dia de ciclagem variou de 0,017 a 0,034 mgL^{-1} . Leme et al. (2003) verificaram em sua pesquisa que os grupos tratados com dentifício não-fluoretado (PD) e dentifício fluoretado (FD) durante a ciclagem de pH, apresentaram em suas soluções desmineralizantes médias de concentração de fluoreto que variaram entre 0,0352 a 0,0743 mgL^{-1} . A diferença na variação da concentração de fluoreto encontrada nesse estudo em relação à concentração encontrada na presente pesquisa pode ser justificada pela frequência dos tratamentos com flúor, pela concentração do agente fluoretado, e pelo nível de desmineralização ocorrido, visto que a porcentagem de fluoreto removida da solução correlaciona-se com o grau de desmineralização (TEN CATE; DUIJSTERS, 1983). Na presente pesquisa foram utilizados compostos fluoretados em alta concentração, por uma única vez, em esmalte hígido e maduro, e antes de dar início à ciclagem de pH, o que poderia justificar a menor concentração encontrada no presente trabalho.

A similaridade da porcentagem de volume mineral encontrado para os 4 grupos ressalta que o grupo I (controle), que não recebeu qualquer tratamento, apresentou o mesmo

comportamento que os grupos de tratamento. Uma hipótese justificável seria a presença de flúor residual ($0,021\text{mgL}^{-1}$) nas soluções que, embora considerado um valor baixo, poderia auxiliar na redeposição mineral da estrutura do esmalte, visto que na presença de flúor as soluções se tornam supersaturadas em relação a fluorapatita (TEN CATE, 1997). Esta hipótese é corroborada por Delbem e Cury (2002) que verificaram em seu estudo que mesmo o grupo controle teve aumento da concentração de flúor no esmalte após a ciclagem de pH. Neste estudo, a concentração de flúor encontrada nas soluções padrões foi da ordem de 0,07 a $0,08\text{mgL}^{-1}$. Esta hipótese reproduz a afirmativa de que qualquer íon fluoreto presente em solução pode se precipitar ou ser adsorvido dentro da lesão (TEN CATE; DUIJSTERS, 1982; ARENDS; CHRISTOFFERSEN, 1990), ou mesmo facilitar a precipitação de fosfato e cálcio (FEJERSKOV; THYLSTRUP; LARSEN, 1981).

As médias de porcentagem de volume mineral verificado entre os grupos de tratamento foram muito parecidas. A aplicação do teste ANOVA indicou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) somente para a profundidade de $70\mu\text{m}$, entre os grupos II e III. Sugere-se que a atuação do flúor no processo de redeposição mineral, principalmente em profundidade compatível com o corpo da lesão, pode ter sido impedida pela deposição mineral nos poros da zona de superfície restringindo, assim, sua ação no interior da lesão (TEN CATE; DUIJSTERS, 1982; PEARCE; LARSEN; COOTE, 1999). Uma alta concentração de flúor é verificada na superfície do esmalte de fissuras com lesão de cárie natural inicial, mas é ocasionalmente visto no corpo da lesão, o que sugere que o flúor é absorvido pelo esmalte mais externo, remineralizando a zona de superfície, e assim, impedindo a penetração de cálcio e fosfato necessários para reparar o corpo da lesão (PEARCE; LARSEN; COOTE, 1999). Entretanto, segundo Lijima et al. (1999), em lesões formadas, *in vitro*, mudanças minerais geralmente ocorrem até uma profundidade de aproximadamente 100 a $300\mu\text{m}$, mediante concentrações de até 1ppmF.

Hicks; Silverstone; Flaitz (1984) e Hicks (1986) sugerem que o condicionamento ácido de lesões tratadas com flúor poderia facilitar a remineralização do corpo da lesão, visto que produz vias para a difusão de cálcio, fosfato e flúor.

O tempo de aplicação pode também ter cooperado para os resultados de porcentagem de volume mineral. Até mesmo no grupo IV (verniz fluoretado), o tempo de aplicação foi de 4min, embora em pesquisas, *in vitro*, o tempo de permanência do verniz na estrutura dentária seja, na maioria das vezes, de 24h, em ambiente úmido (SEPPÄ, 1988; ACUNA et al., 1990; MAIA; SOUZA; CURY, 2003). A proposta foi padronizar o tempo de aplicação para todos os grupos, independente do tempo necessário ao verniz fluoretado para liberar flúor para a formação de fluoreto de cálcio (ØGAARD; SEPPÄ; RØLLA, 1994).

O tratamento foi realizado em superfície aparentemente hígida, que segundo a literatura forma menor quantidade de fluoreto de cálcio (TEN CATE, 1997). Além disso, dentes maduros apresentam menor permeabilidade, característica que poderia refletir na formação de fluoreto de cálcio sobre a superfície do esmalte. Esta seria uma hipótese para a não diferença encontrada entre os grupos de tratamento e o grupo controle. Mesmo que o fluoreto de cálcio tenha sido formado, pode não ter sido suficiente na inibição do processo de desmineralização ou no aumento da remineralização. Segundo Øgaard; Seppä; Rølla (1994) a difusão de fluoreto em lesões de cárie em cicatrículas e fissuras é dependente do tempo e da concentração do produto aplicado. Mas, não necessariamente o aumento na concentração de fluoreto produzirá um melhor efeito anticárie (SEPPÄ, 1988). Essa afirmação é corroborada por Maia; Souza; Cury (2003) que verificaram em pesquisa, *in vitro*, que, embora produtos altamente concentrados formem altas concentrações de flúor no esmalte com lesão inicial, não aumenta a habilidade remineralizadora da saliva na superfície do esmalte. Neste estudo, o tratamento com verniz fluoretado, previamente a ciclagem de pH, associado a dentifrício placebo foi menos efetivo do que tratamento com dentifrício placebo na recuperação da

dureza da superfície. O mesmo padrão foi encontrado por Leme et al. (2003) quando avaliaram tratamento com FFA. Nesta pesquisa uma única aplicação de FFA, previamente à ciclagem, não foi mais eficiente do que o tratamento diário com dentifrício fluoretado no reparo de lesões. Provavelmente o mecanismo de ação do FFA possa estar relacionado à redução da desmineralização do esmalte (GARCIA-GODOY et al., 1995; DELBEM; CURY, 2002). Entretanto, Mellberg; Lass; Petrou (1988) constataram em pesquisa, *in vitro*, a remineralização de blocos de esmalte de superfície lisa tratados com FFA, além da inibição da progressão da lesão. Em um estudo, *in situ*, Lagerweij e Ten Cate (2002) verificaram maior remineralização em blocos de esmalte tratados com pasta dental fluoretada associada à aplicação de gel fluoretado (NaF, Olafluor e Dectafluor).

Embora os trabalhos de Garcia-Godoy et al. (1995), Delbem e Cury (2002) comprovem a efetividade do FFA em superfície lisa, na presente pesquisa onde foi utilizada região de cicatrículas e fissuras, não ocorreu diferença significativa entre os grupos, seja quanto aos dados de porcentagem de volume mineral ou de profundidade da lesão. No que se refere a este último, os achados da presente pesquisa são corroborados pela afirmação de Wefel e Harless (1984b), de que aplicações de FFA em esmalte hígido não produzem nenhuma diferença na formação da lesão. Entretanto, mesmo em esmalte hígido, o tratamento com FFA produz uma dissolução do esmalte com precipitação de produtos de reação ricos em flúor sobre a superfície do esmalte (MARGOLIS; MORENO, 1990). Esta absorção inicial de flúor é seguida por uma difusão mais lenta e controlada do flúor proveniente das coberturas de fluoreto de cálcio na superfície do esmalte (HICKS, 1986).

No estudo de Garcia-Godoy et al. (1995) a avaliação do efeito do FFA na formação de lesão de cárie artificial foi verificada por meio de luz polarizada, metodologia também utilizada na presente pesquisa. Delbem e Cury (2002) avaliaram o efeito de géis neutro e acidulado na resistência do esmalte a desmineralização, mediante procedimentos de

microdureza. No presente trabalho foi utilizado o teste de microdureza, e seus dados transformados em porcentagem de volume mineral, visto que existe uma boa correlação (0,91) entre microdureza e porcentagem de volume mineral em lesão de cárie (FEATHERSTONE et al., 1983). Phillips e Swartz (1948) afirmavam que uma mudança na dureza do esmalte poderia refletir numa mudança química da apatita. Entretanto, Soni e Brudevold (1959) afirmavam que a dureza do esmalte não necessariamente estava relacionada ao grau de mineralização. Estes autores creditavam a maior dureza do esmalte ao depósito de flúor nessa estrutura.

A unidade de dureza Knoop utilizado no presente estudo foi baseado em dados da literatura, em que a maioria dos estudos foi realizada em dentes permanentes (CALDWELL et al., 1957; CRAIG; PEYTON, 1958). O limite de variação de dureza utilizada foi entre 272 e 440KHN, limite de valores obtido na pesquisa de Craig e Peyton (1958). Embora o conteúdo mineral do esmalte decíduo seja menor que o do esmalte permanente (MORTIMER, 1976; BHASKAR, 1978), o que lhe confere uma menor organização cristalina (SKALERIC et al., 1982), o limite de valores utilizado na presente pesquisa encontra apoio no trabalho de Caldwell et al. (1957) em que verificou-se em dentes decíduos valores de dureza que variaram entre 272 a 399KHN.

Na presente pesquisa as indentações realizadas no esmalte interno tiveram valores de dureza baixos próximo à superfície do esmalte, o que confirma o desafio cariogênico ao qual os espécimes foram submetidos. Reintsema e Arends (1988) verificaram também um menor valor de dureza próximo à superfície em espécimes parcialmente desmineralizados.

Seppä (1988), com o propósito de verificar a resistência ácida de blocos de esmalte de superfície lisa, constatou que 3 aplicações de verniz fluoretado a 2,3% ou a 1,1% foram similares em reduzir a solubilidade do esmalte. Este resultado vem confirmar que a redução

da solubilidade do esmalte não é diretamente proporcional ao conteúdo de flúor absorvido, visto que o verniz a 1,1% absorveu menor quantidade de flúor que o verniz a 2,3%. Os achados desse estudo são confirmados por pesquisas clínicas conduzidas por Zimmer; Robke; Roulet (1999) e Autio-Gold e Courts (2001) que constataram que 2 aplicações de verniz fluoretado (Duraphat) foi eficaz em inibir a formação de cárie e paralisar lesões iniciais, respectivamente. Os resultados da pesquisa de Autio-Gold e Courts (2001) mostraram que 77,8% das lesões ativas na superfície oclusal foram inativadas.

A princípio, pensava-se que o flúor sistêmico induzia à formação de esmalte contendo flúor, o qual era mais resistente à dissolução ácida. Entretanto, muito pouco flúor é incorporado aos cristais de hidroxiapatita (RØLLA; ØGAARD; CRUZ, 1993; THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1995). O efeito anticariogênico é agora principalmente atribuído ao flúor presente na fase líquida do esmalte e no fluido da placa. A concentração de flúor nesses meios é dependente da disponibilidade de flúor solúvel na superfície do esmalte, particularmente como fluoreto de cálcio (ACUNA et al., 1990).

Segundo Fejerskov; Thylstrup; Larsen (1981), o mecanismo de ação do flúor em reduzir a solubilidade do esmalte está ligado à atividade do íon flúor no fluido bucal muito mais do que o alto conteúdo de flúor no esmalte. Estes autores sugerem que baixas concentrações de flúor (0,2 a 1ppmF) influenciam no efeito cariostático. Øgaard et al. (1988) afirmam que íons flúor no ambiente bucal são mais importantes no mecanismo cariostático do que o flúor fortemente ligado. Estas afirmações são corroboradas por estudos, *in vitro*, e epidemiológico (KIDD et al., 1980; KUNZEL, 1980).

Avaliações de secções de esmalte através de luz polarizada são úteis na descrição de lesões de cárie iniciais e de suas alterações subseqüentes (WEFEL; HARLESS, 1984a), visto que esta metodologia reflete a perda mineral através de mudanças nas propriedades ópticas do

esmalte (FEATHERSTONE et al., 1983; WEFEL; HARLESS, 1984a). A birrefringência de cada zona da lesão de cárie é definida pelo volume dos espaços presentes e pelo meio de embebição utilizado (DARLING, 1958; GUSTAFSON; GUSTAFSON, 1961).

No presente estudo, a zona de superfície das lesões de todos os grupos apresentou pseudo-isotropia. Quanto ao corpo da lesão, muitas lesões apresentavam birrefringência positiva, algumas lesões pseudo-isotropia e outras apresentando áreas interpostas de esmalte birrefringente negativamente, dando às lesões uma aparência segmentada. No estudo de Hicks; Silverstone; Flaitz (1984), as lesões controle apresentaram zona de superfície pseudo-isotrópica. As lesões tratadas com solução de NaF a 2% e condicionadas com ácido fosfórico apresentaram zona de superfície pseudo-isotrópica e abaixo dessa uma zona de birrefringência negativa, o que indica que ocorreu deposição mineral através das vias de difusão produzidas pelo condicionamento. Em pesquisa conduzida por Hicks et al. (2001), o tratamento com vernizes fluoretados (Duraphat, Duraflor, Cavity Shield) revelou lesões com zona de superfície birrefringente negativamente (volume de poros < 5%), indicando decréscimo de perda mineral. O corpo da lesão apresentou decréscimo de birrefringência positiva, com muitas áreas de pseudo-isotropia, indicativo de reduzida desmineralização. Algumas lesões dos grupos dos vernizes apresentavam corpo da lesão birrefringente negativamente. Os espécimes do grupo controle apresentaram zona de superfície birrefringente positivamente (volume de poros > 5%) e corpo da lesão com maior grau de birrefringência positiva quando comparados com os grupos dos vernizes.

Quanto a profundidade das lesões das paredes da fissura, o teste ANOVA indicou não haver diferença estatisticamente significante entre as médias dos grupos.

O tratamento com soluções de flúor a 1,23% (NH_4F , TiF_4 , FFA e Na_2SnF_6) de lesões de cárie artificiais em superfície lisa, realizado por Wefel e Harless (1984b), antes da indução

da progressão da lesão, não produziu mudanças na profundidade das lesões. A profundidade média das lesões foi de 200 μ m. Garcia-Godoy et al. (1995) por sua vez, avaliou o efeito do gel de FFA por 1 e 4min na formação de lesões artificiais. Verificou que a média de profundidade para o corpo da lesão do grupo controle foi de 186 μ m, para o gel de FFA por 1min de 117 μ m e para o gel por 4min de 111 μ m. Estes valores de profundidade de lesão encontram-se dentro da faixa de variação encontrada na presente pesquisa, entretanto, foi utilizada superfície oclusal o que nos remete a fazer apenas inferências, embora esta superfície possua duas lesões distintas, vestibular e lingual, ao longo das paredes da fissura.

No presente trabalho, em função da profundidade de lesão para os 4 grupos não ter tido diferença estatisticamente significativa, não se pôde presumir redução da profundidade da lesão, mesmo porque o desvio-padrão foi muito alto. Van Dorp e Ten Cate (1992) constataram que o tratamento com Duraphat e Elmex não foi efetivo contra a progressão da lesão de cárie em fissuras. Holmen et al. (1986), entretanto, verificaram, *in vivo*, redução da profundidade da lesão no grupo tratado com Duraphat, além de uma redução acentuada na porosidade da subsuperfície, quando comparado com as lesões controle. Estas apresentavam profundidade entre 120 e 210 μ m. Ao contrário, Øgaard et al. (1996) não constataram, *in vivo*, diferença significativa quanto à profundidade das lesões ou perda mineral entre dentes não tratados e extraídos após 4 semanas, e dentes tratados com Duraphat e extraídos após 2 semanas adicionais. Em pesquisa, *in vitro*, Hicks et al. (2001) constataram que o tratamento de esmalte decíduo de superfície lisa com vernizes fluoretados proporcionou decréscimo significativo na profundidade do corpo da lesão em comparação com o grupo controle.

Wefel e Harless (1984a) verificaram em luz polarizada, que as lesões naturais de superfície lisa apresentavam formato triangular, freqüentemente não visualizado em lesões artificiais. As lesões artificiais foram rasas e com contornos menos irregulares. Analisando as fotomicrografias de luz polarizada da presente pesquisa verificou-se uma variabilidade na

profundidade e no formato das lesões. Muitas lesões foram sugestivas de lesões naturais, visto que foram bem profundas e apresentavam o delineamento de seus limites de forma bastante irregular. Van Dorp e Ten Cate (1992) verificaram uma menor homogeneidade das lesões de esmalte de fissura do que as lesões em superfície lisa, fato que é confirmado pela presente pesquisa.

Em algumas lesões do presente trabalho foi observado uma faixa de zona de birrefringência negativa intercalando o corpo da lesão pseudo-isotrópico ou birrefringente positivamente nas paredes das fissuras, próximo à superfície externa (NEWBRUN; BRUDEVOLD; MERMAGEN, 1959). Trabalhos futuros com luz polarizada se fazem necessários como forma de avaliar superfícies oclusais aparentemente híginas de molares decíduos. Nesta oportunidade, constatando-se a presença de lesões, a comparação com as lesões desta pesquisa serviria para esclarecer dúvidas quanto aos aspectos aqui apresentados.

Foi verificado nas secções transversais utilizadas para o teste de microdureza da presente pesquisa estruturas diferenciadas em regiões próximas, o que confirma o trajeto tortuoso dos prismas, sugerindo, assim, a limitação da ação dos fluoretos nessa superfície. Pesquisas futuras que avaliem a microdureza do esmalte interno da superfície oclusal são imprescindíveis como forma de gerar parâmetros que possam ser seguidos e de forma a estabelecer limites de atuação nessa área.

A confirmação de dados clínicos que verificaram a efetividade de compostos fluoretados em superfície lisa em detrimento das superfícies oclusais necessita ser estabelecida, *in vitro*. Desta forma, propõe-se que novos estudos sejam feitos com o intuito de verificar o efeito do flúor em superfície oclusal. Como sugestões metodológicas, propõe-se a padronização da área do dente a ser tratada para toda a amostra, independente dos diferentes tamanhos dos dentes. Na presente pesquisa, a área estipulada para o tratamento variou

segundo o dente, o que impediu a padronização dos limites dos testes que pode ser o responsável pela grande variabilidade dos dados coletados.

7 CONCLUSÕES

A metodologia utilizada e os resultados obtidos nesta pesquisa, permite-nos concluir que:

- a) não houve diferença estatisticamente significante entre as médias de porcentagem de volume mineral para os 4 grupos;
- b) histologicamente não foram observadas modificações nas lesões de cárie. A grande maioria das lesões de subsuperfície apresentaram-se com pseudo-isotropia;
- c) não houve diferença estatisticamente significante entre as médias de profundidade de lesão para os 4 grupos;
- d) a concentração de fluoreto nas soluções utilizadas durante a ciclagem de pH variaram entre 0,017 e 0,034mgL⁻¹;
- e) os compostos fluoretados de alta concentração não diferiram entre si com relação à perda mineral.

REFERÊNCIAS²

ACUNA, V. et al. In vitro fluoride uptake by enamel and dentin- a comparative study of two varnishes. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v.48, n.2, p.89-92, Apr. 1990.

ARENDS, J.; CHRISTOFFERSEN, J. Nature and role of loosely bound fluoride in dental caries. **J. Dent. Res.**, Washington, v.69, p.601-605, Feb.1990.

ARENDS, J.; SCHUTHOF, J.; JONGEBLOED, W. G. Lesion depth and microhardness indentations on artificial white spot lesions. **Caries Res.**, Basel, v.14, p.190-195, 1980.

AUTIO-GOLD, J. T.; COURTS, F. Assessing the effect of fluoride varnish on early enamel carious lesions in the primary dentition. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.132, n.9, p.1247-1253, Sept. 2001.

BHASKAR, S. N. Esmalte. In: _____. **Histologia e embriologia oral de Orban**. 2.ed. São Paulo: Artes Médicas, 1978. cap.3, p.47-105.

CALDWELL, R. C. et al. Microhardness studies of intact surface enamel. **J. Dent. Res.**, Washington, v.36, n.5, p.732-738, Oct. 1957.

CARVALHO, J. C.; EKSTRAND, K. R.; THYLSTRUP, A. Dental plaque and caries on occlusal surfaces of first permanent molars in relation to stage of eruption. **J. Dent. Res.**, Washington, v.68, n.5, p.773-779, May 1989.

CHEDID, S. J. Avaliação da quantidade de dentifrício fluoretado ou NaF a 0,02% no desenvolvimento de cárie em dentes decíduos: estudo in vitro utilizando modelo de ciclagens de pH. 1999. 102 f. Tese (Doutorado em Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

CRAIG, R. G.; PEYTON, F. A. The microhardness of enamel and dentin. **J. Dent. Res.**, Washington, v.37, n.4, p.661-668, Aug. 1958.

CRUZ, R.; ÖGAARD, B.; RÖLLA, G. Uptake of KOH – soluble and KOH – insoluble Fluoride in sound human enamel after topical application of a Fluoride varnish (Duraphat) or

² Baseado na NBR 6023: 2002 da ABNT.

a neutral 2% NaF solution in vitro. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v.100, n.3, p.154-158, June 1992.

CURY, J. A. Uso do flúor. In: BARATIERI et al. **Dentística: procedimentos preventivos e restauradores**. Rio de Janeiro: Santos, 1989. cap. 2, p.43-67.

DARLING, A. I. Studies of the early lesion of enamel caries. Its nature, mode of spread, and points of entry. **Br. Dent. J.**, London, v.105, n.4, p.119-135, Aug.1958.

DELBEM, A. C. B.; CURY, J. A. Effect of application time of APF and NaF gels on microhardness and fluoride uptake of *in vitro* enamel caries. **Am. J. Dent.**, San Antonio, v.15, n.3, p.169-172, June 2002.

EKSTRAND, K. R.; BJØRNDAL, L. Structural analyses of plaque and caries in relation to the morphology of the groove-fossa system on erupting mandibular third molars. **Caries Res.**, Basel, v.31, n.5, p.336-348, Sept./Oct.1997.

FEATHERSTONE, J. D. B. et al. Comparison of artificial caries: like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. **Caries Res.**, Basel, v.17, n.5, p.385-391, Sept./ Oct. 1983.

FEATHERSTONE, J. D. B. et al. Enhancement of remineralisation in vitro and in vivo. In: LEACH, S.A. (Ed). **Factors relating to demineralisation and remineralisation of the teeth**. Washington: IRL Press, 1986. p.23-34.

FEATHERSTONE, J. D. B. et al. Dependence of *in vitro* demineralization of apatite and remineralization of dental enamel on fluoride concentration. **J. Dent. Res.**, Washington, v.69, p.620-625, Feb. 1990.

FEATHERSTONE, J. D. B. The science and practice of caries prevention. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.131, n.7, p.887-899, July 2000.

FEJERSKOV, O.; THYLSTRUP, A.; LARSEN, M. J. Rational use of fluorides in caries prevention. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v.39, n.4, p.241-249, Aug.1981.

GARCIA-GODOY, F. et al. Acidulated phosphate fluoride treatment and formation of caries-like lesions in enamel: effect of application time. **J. Clin. Pediatr. Dent.**, Birmingham, v.19, n.2, p.105-110, Winter 1995.

GERRARD, W. A.; WINTER, P. J. Evaluation of toothpastes by their ability to assist rehardening of enamel in vitro. **Caries Res.**, Basel, v.20, n.3, p.209-216, May/June 1986.

GUSTAFSON, G.; GUSTAFSON, A-G. Human dental enamel in polarized light and contact micro-radiography. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v.19, n.2, p.259-287, 1961.

HICKS, J. et al. Fluoride varnishes and caries development in primary tooth enamel: an *in vitro* study. **ASDC J. Dent. Child.**, Chicago, v.68, n.5/6, p.304-310, Sept./Dec. 2001.

HICKS, J. Acid-etching of caries-like lesions of enamel treated with acidulated phosphate fluoride: an in vitro study. **ASDC J. Dent. Child.**, Chicago, v.53, n.5, p.346-353, Sept./Oct. 1986.

HICKS, M. J.; SILVERSTONE, L. M.; FLAITSZ, C. M. A scanning electron microscopic and polarized light microscopic study of acid-etching of caries-like lesions in human tooth enamel treated with sodium fluoride in vitro. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v.29, n.10, p.765-772, 1984.

HOLMEN, L. et al. A polarized light and scanning electron microscope study of the effect of Duraphat treatment on in vivo caries. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v.94, n.6, p.521-529, Dec. 1986.

KIDD, E. A. M. et al. Influence of fluoride in surface enamel and degree of dental fluorosis on caries development *in vitro*. **Caries Res.**, Basel, v.14, p.196-202, 1980.

KRASSE, B. **Risco de cáries: guia prático para controle e assessoramento.** São Paulo: Quintessence, 1988. 112 p.

KUNZEL, W. Effect of an interruption in water fluoridation on the caries prevalence of the primary and secondary dentition. **Caries Res.**, Basel, v.14, p.304-310, 1980.

LAGERWEIJ, M. D.; TEN CATE, J. M. Remineralisation of enamel lesions with daily applications of a high-concentration fluoride gel and a fluoridated toothpaste: an in situ study. **Caries Res.**, Basel, v.36, n.4, p.270-274, July/Aug. 2002.

LARSEN, M. J.; BRUUN, C. Esmalte – Saliva Reações químicas inorgânicas. In: THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Tratado de Cariologia.** Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1988. cap.10, p.169-193.

LEME, A. F. et al. Effect of fluoridated dentifrice and acidulated phosphate fluoride application on early artificial carious lesions. **Am. J. Dent.**, San Antonio, v.16, n.2, p.91-95, Apr. 2003.

LIJIMA, Y. et al. In vitro remineralization of in vivo and in vitro formed enamel lesions. **Caries Res.**, Basel, v.33, n.3, p.206-213, May/June 1999.

LUSI, A. Validity of diagnostic and treatment decisions of fissure caries. **Caries Res.**, Basel, v.25, n.4, p.296-303, July/Aug. 1991.

MAIA, L.C.; SOUZA, I. P. R.; CURY, A. Effect of a combination of fluoride dentifrice and varnish on enamel surface rehardening and fluoride uptake *in vitro*. **Eur. J. Oral Sci.**, Cambridge, v.111, n.1, p.68-72, Feb. 2003.

MALTZ, M.; CARVALHO, J. Diagnóstico da doença cárie. In: KRIGER, L. (Coord.) **Promoção de saúde bucal - ABOPREV.** São Paulo: Artes Médicas, 1997. cap.4, p.70-91.

MARGOLIS, H. C.; MORENO, E. C. Physicochemical perspectives on the cariostatic mechanisms of systemic and topical fluorides. **J. Dent. Res.**, Washington, v.69, p.606-613, Feb.1990.

MELLBERG, J. R.; LASS, A.; PETROU, I. Inhibition of artificial caries lesion formation by APF e neutral NaF Office gels. **Am. J. Dent.**, San Antonio, v.1, n.6, p.255-257, Dec. 1988.

MORTIMER, K. V. The relationship of deciduous enamel structure to dental disease. **Caries Res.**, Basel, v.4, n.2, p.206-223, 1970.

NELSON, D. G. A. et al. High resolution fluoride profiles of artificial in vitro lesions treated with fluoride dentifrices and mouthrinses during pH cycling conditions. **Caries Res.**, Basel, v.26, n.4, p.254-262, July/Aug. 1992.

NEWBRUN, E. **Cariologia**. São Paulo: Santos, 1988. 326 p.

NEWBRUN, E.; BRUDEVOLD, F.; MERMAGEN, H. A microradiographic evaluation of occlusal fissures and grooves. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.58, n.2, p.26-31, Feb. 1959.

ØGAARD, B. et al. Microradiography and confocal laser scanning microscopy applied to enamel lesions formed in vivo with and without fluoride varnish treatment. **Eur. J. Oral Sci.**, Cambridge, v.104, n.4, p.378-383, Aug. 1996.

ØGAARD, B.; SEPPÄ, L.; RØLLA, G. Professional topical fluoride applications – clinical efficacy and mechanism of action. **Adv. Dent. Res.**, Washington, v.8, n.2, p.190-201, July 1994.

PEARCE, E. I. F.; LARSEN, M. J.; COOTE, G. E. Fluoride in enamel lining pits and fissures of the occlusal groove-fossa system in human molar teeth. **Caries Res.**, Basel, v.33, n.3, p.196-205, May/June 1999.

PHILLIPS, R. W.; SWARTZ, M. L. Effect of fluorides on hardness of tooth enamel. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.37, n.1, p.1-13, July 1948.

PURDELL-LEWIS, D. J.; GROENVELD, A.; ARENDS, J. Hardness test on sound enamel and artificially demineralization white spot lesions. **Caries Res.**, Basel, v.10, n.3, p.201-215, May/June 1976.

REINTSEMA, H.; ARENDS, J. An in vivo study of microhardness and fluoride uptake in partially demineralized human enamel covered by plaque. **J. Dent. Res.**, Washington, v.67, n.2, p.471-473, Feb. 1988.

RØLLA, G.; ØGAARD, B.; CRUZ, R. A. Topical application of fluorides on teeth. New concepts of mechanisms of interaction. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.20, n.2, p.105-108, Feb.1993.

SEPPÄ, L. Effects of a sodium fluoride solution and a varnish with different fluoride concentrations on enamel remineralization *in vitro*. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v.96, n.4, p.304-309, Aug. 1988.

SEPPÄ, L.; LEPPÄNEN, T.; HAUSEN, H. Fluoride varnish versus acidulated phosphate fluoride gel: a 3-year clinical trial. **Caries Res.**, Basel, v.29, n.5, p.327-330, Sept./Oct.1995.

SILVERSTONE, L. M. The surface zone in caries and in caries-like lesions produced *in vitro*. **Br. Dent. J.**, London, v.125, n.4, p.145-157, Aug. 1968.

SILVERSTONE, L. M. Remineralization phenomena. **Caries Res.**, Basel, v.11, p.59-84, 1977.

SILVERSTONE, L. M. Remineralization and enamel caries: new concepts. **Dental Update**, v.10, n.4, p.261-273, 1983.

SKALERIC, U. et al. Microcrystal arrangement in human deciduous dental enamel studied by electron paramagnetic resonance. **Caries Res.**, Basel, v.16, n.1, p.47-50, Jan./Feb. 1982.

SONI, N. N.; BRUDEVOLD, F. Microradiographic and polarized light studies of initial carious lesions. **J. Dent. Res.**, Washington, v.38, n.6 , p.1187-1194, Nov./Dec. 1959.

TAKAGI, S.; LIAO, H.; CHOW, L. C. Effect of tooth-bound fluoride on enamel demineralization/remineralization *in vitro*. **Caries Res.**, Basel, v.34, n.4, p.281-288, July/Aug. 2000.

TEN CATE, J. M. *In vitro* Studies on the effects of fluoride on de- and remineralization. **J. Dent. Res.**, Washington, v.69, p.614-619, Feb. 1990.

TEN CATE, J. M. Review on fluoride, with special emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. **Eur. J. Oral Sci.**, Cambridge, v.105, n.5, p.461-465, Oct.1997.

TEN CATE, J. M.; DUIJSTERS, P. P. E. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. **Caries Res.**, Basel, v.16, n.3 , p.201-210, May/June 1982.

TEN CATE, J. M.; DUIJSTERS, P. P. E. Influence of fluoride in solution on tooth demineralization. I. Chemical data. **Caries Res.**, Basel, v.17, n.3, p.193-199, May/June 1983.

THEILADE, E.; FEJERSKOV, O.; HÖRSTED, M. A transmission electron microscopic study of 7 day old bacterial plaque in human tooth fissures. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v.21, n.10, p.587– 598, 1976.

THYSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. Características clínicas e patológicas da cárie dental. In: _____. **Cariologia clínica**. 2.ed. São Paulo: Santos, 1995. cap.6, p.111–157.

VAN DORP, C. S. E.; TEN CATE, J. M. Preventive measures and caries progression: an *in vitro* study on fissures and smooth surfaces of human molars. **ASDC J. Dent. Child.**, Chicago, v.90, p.257-262, July/Aug. 1992.

WEFEL, J. S.; HARLESS, J. D. Comparison of artificial white spots by microradiography and polarized light microscopy. **J. Dent. Res.**, Washington, v.63, n.11, p.1271-1275, Nov. 1984a.

WEFEL, J. S.; HARLESS, J. D. Topical fluoride application and lesion progression in vitro. **J. Dent. Res.**, Washington, v.63, n.11, p.1276-1278, Nov. 1984b.

WHITE, D. J.; FEATHERSTONE, J. D. B. A longitudinal microhardness analysis of fluoride dentifrice effects on lesion progression in vitro. **Caries Res.**, Basel, v.21, n.6, p.502-512, Nov./Dec. 1987.

ZIMMER, S.; ROBKE, F. J.; ROULET, J-F. Caries prevention with fluoride varnish in a socially deprived community. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, Copenhagen, v.27, n.2, p.103-108, Apr. 1999.

APÊNDICES

APÊNDICE 01Tabela 2 - Valores de F para todas as comparações. Profundidade em μm .

Profundidade	Valor de F	Valor de p
10	1,277	0,291
30	2,382	0,078
50	0,341	0,795
70	2,939	0,040
90	2,705	0,053
110	2,512	0,067
220	2,369	0,080
330	1,621	0,194

APÊNDICE 02

GRUPOS	MEDIDAS	10 µm	30 µm	50 µm	70 µm	90 µm	110 µm	220 µm	330 µm
GRUPO I	MÉDIA	166,4	266,6	302,2	314,2	322,0	323,2	314,5	325,9
	DESVIO PADRÃO	76,4	71,5	55,9	58,7	54,3	55,1	53,6	53,2
	MINIMO	39,3	142,3	225,0	210,8	211,2	204,3	218,3	228,0
	MAXIMO	325,2	376,5	392,3	419,8	406,3	427,5	366,2	403,2
	INTERVALO CONF	37,4	35,0	27,4	28,7	26,6	27,0	26,3	26,1
	LIM INFERIOR	129,0	231,6	274,8	285,5	295,4	296,2	288,3	299,8
	LIM SUPERIOR	203,8	301,6	329,5	343,0	348,6	350,2	340,8	352,0
GRUPO II	MÉDIA	147,7	239,4	325,0	355,8	361,5	361,7	348,9	340,6
	DESVIO PADRÃO	86,1	98,1	57,4	47,3	52,2	54,3	52,0	30,9
	MINIMO	46,9	37,0	239,7	291,8	292,8	288,7	265,5	287,3
	MAXIMO	320,7	351,8	402,5	432,5	446,3	458,2	469,5	395,8
	INTERVALO CONF	42,2	48,1	28,1	23,2	25,6	26,6	25,5	15,2
	LIM INFERIOR	105,5	191,4	296,9	332,6	335,9	335,1	323,5	325,4
	LIM SUPERIOR	189,9	287,5	353,1	379,0	387,1	388,3	374,4	355,7
GRUPO III	MÉDIA	186,7	290,8	310,8	312,4	322,5	318,3	301,5	309,5
	DESVIO PADRÃO	69,6	50,7	41,5	39,1	39,2	47,9	53,3	46,5
	MINIMO	95,8	178,4	239,5	257,2	266,3	238,2	206,4	190,0
	MAXIMO	349,2	385,8	393,5	388,2	381,7	383,8	373,2	388,2
	INTERVALO CONF	34,1	24,8	20,3	19,2	19,2	23,5	26,1	22,8
	LIM INFERIOR	152,6	265,9	290,4	293,2	303,3	294,8	275,4	286,7
	LIM SUPERIOR	220,9	315,6	331,1	331,5	341,7	341,8	327,6	332,3
GRUPO IV	MÉDIA	194,8	286,8	311,6	320,9	320,5	321,5	313,2	317,4
	DESVIO PADRÃO	75,4	45,3	35,5	29,9	33,9	36,5	43,3	30,9
	MINIMO	74,4	189,0	216,4	272,0	241,5	246,7	206,3	260,8
	MAXIMO	306,5	353,5	366,7	376,5	374,3	380,5	378,0	383,0
	INTERVALO CONF	36,9	22,2	17,4	14,7	16,6	17,9	21,2	15,1
	LIM INFERIOR	157,8	264,6	294,2	306,2	303,9	303,6	292,0	302,3
	LIM SUPERIOR	231,7	309,0	329,0	335,5	337,1	339,4	334,4	332,5

Quadro 2 – Valores de toda estatística descritiva dos 4 grupos, quanto aos dados de microdureza Knoop.

APÊNDICE 03

GRUPOS	MEDIDA	10 µm	30 µm	50 µm	70 µm	90 µm	110 µm	220 µm	330 µm
GRUPO I	MÉDIA	64,1	80,0	85,2	86,9	88,0	88,0	86,9	88,5
	DESVIO PADRÃO	12,9	10,3	7,1	7,2	6,8	6,9	7,1	6,5
	MÍNIMO	37,9	58,5	74,4	73,6	73,6	72,7	74,8	76,2
	MÁXIMO	87,9	94,7	96,2	99,2	97,8	100,1	95,8	97,3
	INTERVALO CONF	6,3	5,0	3,5	3,5	3,3	3,4	3,5	3,2
	LIM INFERIOR	57,8	75,0	81,7	83,4	84,6	84,6	83,4	85,3
	LIM SUPERIOR	70,4	85,1	88,7	90,5	91,3	91,4	90,4	91,6
GRUPO II	MÉDIA	60,1	74,4	87,5	91,9	92,7	92,6	91,3	90,4
	DESVIO PADRÃO	14,6	16,2	7,8	5,3	5,8	5,9	5,7	3,5
	MÍNIMO	40,4	37,3	74,2	84,2	84,3	84,3	81,2	83,9
	MÁXIMO	87,8	91,2	97,4	100,6	102,1	103,2	104,4	96,7
	INTERVALO CONF	7,2	7,9	3,8	2,6	2,8	2,9	2,8	1,7
	LIM INFERIOR	52,9	66,4	83,7	89,3	89,9	89,7	88,5	88,7
	LIM SUPERIOR	67,2	82,3	91,3	94,5	95,5	95,5	94,0	92,1
GRUPO III	MÉDIA	67,5	83,9	86,6	86,8	88,1	87,3	85,3	86,4
	DESVIO PADRÃO	11,2	6,8	5,2	5,0	4,9	6,2	7,1	6,0
	MÍNIMO	50,7	67,5	77,2	79,8	80,7	76,4	71,3	70,1
	MÁXIMO	90,1	95,7	96,1	95,8	94,8	95,3	94,2	95,8
	INTERVALO CONF	5,5	3,3	2,6	2,5	2,4	3,1	3,5	2,9
	LIM INFERIOR	62,0	80,6	84,0	84,3	85,7	84,3	81,9	83,5
	LIM SUPERIOR	72,9	87,3	89,1	89,2	90,5	90,4	88,8	89,4
GRUPO IV	MÉDIA	68,4	83,0	86,5	88,0	88,0	88,1	87,0	87,6
	DESVIO PADRÃO	13,2	7,5	5,5	3,6	4,2	4,5	5,6	3,8
	MÍNIMO	44,6	61,7	68,8	81,7	77,6	78,3	72,4	80,3
	MÁXIMO	86,3	91,8	92,4	94,0	94,5	94,7	94,9	95,3
	INTERVALO CONF	6,5	3,7	2,7	1,7	2,1	2,2	2,7	1,8
	LIM INFERIOR	61,9	79,3	83,8	86,3	86,0	85,9	84,3	85,8
	LIM SUPERIOR	74,9	86,6	89,2	89,8	90,1	90,3	89,8	89,5

Quadro 3 – Valores de toda estatística descritiva dos 4 grupos, quanto aos dados de porcentagem de volume mineral.

ANEXOS

ANEXO 01