CAMILA DE ALMEIDA BRANDÃO GUGLIELMI

**Efeito de materiais restauradores em contato proximal com lesões de cárie em
dentes decíduos**

São Paulo

2013

CAMILA DE ALMEIDA BRANDÃO GUGLIELMI

**Efeito de materiais restauradores em contato proximal com lesões de cárie em
dentes decíduos**

Versão Original

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Doutor, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas.

Área de concentração: Odontopediatria

Orientador(a): Profa. Dra. Daniela
Prócida Raggio

São Paulo

2013

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Guglielmi, Camila de Almeida Brandão.

Efeito de materiais restauradores em contato proximal com lesões de cárie em dentes decíduos / Camila de Almeida Brandão Guglielmi ; orientadora Daniela Prócida Raggio. -- São Paulo, 2013.

74 p. : il.: fig., tab., quadros ; 30 cm.

Tese (Doutorado) -- Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas. Área de Concentração: Odontopediatria. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão original

1. Cárie dentária. 2. Cimentos de ionômeros de vidro. 3. Flúor.

I. Raggio, Daniela Prócida . II. Título.

Guglielmi CAB. Efeito de materiais restauradores em contato proximal com lesões de cárie em dentes decíduos. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências Odontológicas.

Aprovado em: / / 2013

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Aos meus pais, Mario Luiz e Fernanda, por tudo que me ensinaram e pelos exemplos diários de determinação.

Aos meus irmãos, Marina e Tiago, por tornarem a minha vida todos os dias mais alegre na companhia de vocês.

Ao meu amor, Fernando, por fazer parte da minha vida trazendo sempre incentivo e companheirismo.

A todos os pacientes que possam ser beneficiados por este trabalho.

AGRADECIMENTOS

A minha querida orientadora, Profa. Daniela Raggio, um exemplo de professora, mãe, amiga...e tudo aquilo que realmente importa nesta vida. Sua dedicação ao seu trabalho, paciência e bom humor todos os dias fazem a vida de qualquer pessoa que está ao seu lado mais fácil. Muito obrigada por me orientar neste trabalho e em tantos outros. O crescimento profissional e pessoal ao seu lado é certo e ser sua orientada é um grande privilégio.

Ao meu querido professor Fausto Mendes, com quem tive a sorte de aprender e conviver durante a graduação, especialização e pós-graduação. Com seu enorme coração, é capaz de abraçar todos os alunos da pós como se fossem seus orientados, inclusive eu! Muito obrigada por toda a ajuda com este trabalho.

Aos professores Mariana Braga e Marcelo Bönecker, com os quais tive a oportunidade de trabalhar em outros estudos e que, certamente, contribuíram também para este.

A todos os professores do Departamento de Odontopediatria, José Carlos Imparato, Márcia Wanderley, Salete Correa, Ana Lídia Ciamponi e Ana Estela Haddad, com os quais a convivência diária sempre trouxe grandes ensinamentos.

À professora Adriana Ortega, sempre disposta a ensinar um pouco mais sobre qualquer assunto que envolva odontopediatria.

À Professora Patrícia Freitas pelas sugestões e informações que auxiliaram este estudo.

A minha amiga Daniela Hesse, com quem tive a oportunidade de estar durante a graduação, a especialização e o Doutorado. Dani, você é uma grande companheira, sempre tão atenciosa e divertida! Não sei o que teria sido de mim sem você em todas as viagens para congressos nacionais e internacionais, estudo multicêntrico, clínicas, etc.

As minhas amigas e também companheiras Tamara Tedesco, Tathiane Lenzi, Ana Flávia Calvo e Karlinha Rezende. A ajuda de vocês neste e em outros trabalhos foi fundamental. Muito obrigada por serem sempre tão prestativas e pela divertida companhia diária.

A todos os colegas da pós-graduação do Departamento de Odontopediatria. Vocês moram no meu coração!

A todos os voluntários que participaram deste estudo de forma tão dedicada. Sem vocês ele não seria possível!

Aos colegas de profissão e formação Anna Cristina Biella, Maria Fernanda Nadal e Bruno Segawa, pessoas queridas que conheci na graduação e que se tornaram grandes amigos.

Aos professores e funcionários do Departamento de Materiais Dentários, Dentística e LELO e do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN- USP) por auxiliarem no desenvolvimento deste estudo.

A Fapesp pelo auxílio à pesquisa concedido.

À Faculdade de Odontologia da USP, por ter sido minha segunda casa e minha fonte de aprendizado desde a graduação.

RESUMO

Guglielmi CAB. Efeito de materiais restauradores em contato proximal com lesões de cárie em dentes decíduos. [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2013. Versão Original.

Por ser comum a existência de lesão de mancha branca em superfícies proximais adjacentes à lesões de cárie já cavitadas, este estudo teve como objetivo investigar o efeito terapêutico de materiais que liberam flúor sobre lesões com as quais estejam em contato proximal, *in vitro* (I) e *in situ* (II). Para o estudo I, 130 blocos de esmalte obtidos de caninos decíduos passaram pelo processo de indução de lesão de cárie por ciclagem de pH, durante 10 dias. As medições do conteúdo mineral foram realizadas por meio da análise de fluorescência induzida pela luz (QLF™ e VistaProof™), no momento inicial (esmalte hígido) e após a formação das lesões de mancha branca. Dez espécimes foram recolhidos e seccionados transversalmente, no centro da lesão, para análise de dureza transversal (Shimadzu Micro Hardness tester, 25g, 15s). Posteriormente, blocos cilíndricos foram preparados com 6 diferentes materiais restauradores (n=20): resina composta (Z350®), cimento de ionômero de vidro (CIV) de alta viscosidade (Ketac Molar® e Riva Self Cure®), CIV modificado por resina (Vitremer®), CIV modificado por resina nanoparticulado (Ketac Nano®) e resinas compostas modificadas por poliácidos (Dyract Extra®). Cada bloco de esmalte foi unido a um bloco de material, de modo que a face da lesão e a do material simulassem o ponto de contato existente em uma restauração ocluso-proximal. Estes conjuntos sofreram então novo desafio cariogênico (ciclagem de pH) durante 7 (n=10) ou 14 dias (n=10). Após o desafio, os 120 espécimes foram recolhidos e novamente analisados com relação à fluorescência induzida. Em seguida, foram seccionados transversalmente no centro da lesão para que fosse feita a análise de dureza transversal. Para o estudo II, os espécimes foram preparados de maneira semelhante ao estudo I, porém, para a etapa do desafio cariogênico (após o contato com os materiais restauradores), os 120 espécimes foram inseridos em dispositivos intra-orais. Dez voluntários utilizaram os dispositivos em duas fases (7 e 14 dias), com intervalo de 1 semana entre elas. Os voluntários gotejaram solução de sacarose 20%, 8 vezes/dia e utilizaram dentifrício fluoretado (1.450 ppm) 3 vezes/dia durante o estudo. Ao final de ambos os estudos, todos os espécimes foram

recolhidos e analisados com relação ao conteúdo mineral pelos métodos de fluorescência induzida e pelo teste de microdureza transversal. Para análise de normalidade e homogeneidade dos dados obtidos foram utilizados os testes de Anderson-Darling e Levene, respectivamente. Para o estudo I, ANOVA de dois fatores com teste complementar de Tukey não demonstrou diferença entre os valores obtidos com o QLFTM para os diferentes grupos e tempos após desafio ($\alpha=0,05$). Para os valores de dureza, no entanto, o mesmo teste confirmou que há menor perda mineral para as lesões em contato com o CIV de alta viscosidade, quando comparado com a resina composta e com o resinas compostas modificadas por poliácidos. Após 14 dias de desafio, o CIV de alta viscosidade mostra-se superior também aos CIVs modificados por resina e compômer. Para o estudo II, análise de multinível demonstrou haver maior perda para aquelas lesões em contato com a resina composta e o resinas compostas modificadas por poliácidos, para os valores obtidos com o QLFTM, enquanto que para os valores de dureza o mesmo teste demonstra que os CIVs de alta viscosidade desempenham melhor performance comparado a todos os outros grupos de materiais, independente do tempo de desafio. Os valores obtidos com o equipamento Vista ProofTM não diferiram estatisticamente com relação aos grupos ou períodos experimentais, em ambos os estudos, de acordo com os testes de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis ($\alpha=0,05$). Embora diferentes materiais liberadores de flúor possam reduzir a progressão de lesões de cárie quando em contato proximal, o CIV de alta viscosidade mostra-se com uma melhor opção para este fim.

Palavras-chave: Cárie dental. Cimentos de ionômero de vidro. Flúor.

ABSTRACT

Guglielmi CAB. Mineral content of enamel carious lesions in approximal contact with different restorative materials in primary teeth. [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2013. Versão Original.

This study investigated the possibility of caries lesions arrest when in approximal contact with fluoride-releasing restorative materials, *in vitro* (I) and *in situ* (II). White-spot lesions were initially formed in 130 primary enamel specimens via a pH cycling regimen during 10 days. Light-induced fluorescence images (QLF™ and Vista Proof™) were made of each enamel slab at the beginning and after the lesions induction to assess the mineral loss/gain of the artificial caries lesions. Ten specimens were collected and transversally cut for microhardness analysis. The rest of them were put in contact with cylindrical blocks of 6 different materials (n=20): composite resin (Z350®), high viscous glass ionomer (GIC) (Ketac Molar® and Riva Self Cure®), resin-modified GIC (Vitremer®), resin- modified nano-ionomer (Ketac Nano®) and compomer (Dyract Extra®). These settings were designed to simulate the contact point between the restoration and the approximal lesion. For the study I, they were subjected to a new cariogenic challenge (pH cycling) for 7 (n=10) or 14 days (n=10). For the study II, the specimens were prepared in a similar manner and a randomized double-blind *in situ* design was conducted in two phases (7/14 days) for the subsequent cariogenic challenge. Ten volunteers wore palatal devices containing 6 specimens (caries lesion + restorative). The volunteers used fluoride dentifrice 3x/day and a 20% sucrose solution was dripped onto the slabs 8x /day. At the end of both studies, specimens were collected for mineral analysis by fluorescence methods and traversal microhardnes. Distribution of data and equality of variances were determined using Kolmogorov–Smirnov and Levene tests. Two-way ANOVA demonstrated no differences for values obtained with QLF™ for the study I ($\alpha=0.05$). The same test demonstrated lower mineral loss for specimens in contact with high viscous GIC for the CSMH analysis. After 14 days, high viscous GIC were even superior to resin-modified GIC or compomer. For the study II, multilevel analysis demonstrated higher mineral loss for the specimens in contact with composite resin and compomer for values obtained with QLF™ ($\alpha=0.05$). The CSMH analysis demonstrated that high viscous GIC had the best performance when compared

to all other materials, regardless the duration of challenge. For both studies, Mann-Whitney and Kruskal-Wallis demonstrated no differences for values obtained with VistaProof™ ($\alpha=0.05$). In conclusion, high viscous GIC can arrest enamel lesion when in approximal contact with them, although other fluoride-releasing materials can moderately prevent enamel loss.

Key-words: Dental caries. Glass ionomer cements. Fluoride.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DA LITERATURA	14
3 PROPOSIÇÃO	22
4 MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 ESTUDO <i>IN VITRO</i>	23
4.1.1 Preparo dos espécimes	23
4.1.2 Quantificação de fluorescência induzida pela luz - QLF™	26
4.1.3. Quantificação de fluorescência induzida pela luz - VistaProof™	27
4.1.4. Análise de microdureza transversal	28
4.1.5. Análise estatística	29
4.2. ESTUDO <i>IN SITU</i>	29
4.2.1. Seleção dos voluntários	30
4.2.2. Preparo dos espécimes	30
4.2.3. Dispositivos intra-orais	31
4.2.4. Protocolo de utilização dos dispositivos intra-orais	31
4.2.5. Quantificação de fluorescência induzida pela luz - QLF™	32
4.2.6. Quantificação de fluorescência induzida pela luz - VistaProof™	33
4.2.7. Análise de microdureza transversal	33
4.2.8. Análise estatística	33
5 RESULTADOS	35
5.1 ESTUDO <i>IN VITRO</i>	35
5.2 ESTUDO <i>IN SITU</i>	41
6 DISCUSSÃO	47
7 CONCLUSÕES	58
REFERÊNCIAS	59
APÊNDICE A – Fluxograma da metodologia para estudos I e II	70
APÊNDICE B – Termo de consentimento livre e esclarecido	71
APÊNDICE C – Orientações aos participantes do estudo	73
ANEXO – Aprovação do Comitê de ética em Pesquisa da FOUSP	74

1 INTRODUÇÃO

A doença cárie ocorre por meio de um processo dinâmico, induzido por ácidos fracos resultantes do metabolismo de carboidratos de bactérias que compõem o biofilme dental. Para formá-lo, os microrganismos não se depositam diretamente na superfície do esmalte dental, mas sim sobre uma camada acelular constituída principalmente por proteínas salivares adsorvidas. Esta serve como base para a subsequente adesão de microrganismos. A constante atividade bacteriana no biofilme sobre a superfície dental determina flutuações no pH, que acabam por ocasionar perda ou ganho de minerais (Kidd; Fejerskov, 2004).

Quando esse processo cumulativo de des e remineralização tem como resultado a dissolução de parte da porção mineral do esmalte, há um aumento do espaço entre os cristais de hidroxiapatita, que pode ser observado clinicamente como aumento da rugosidade e opacidade desse tecido. A consequente diminuição de sua translucidez pode ser diagnosticada como a presença de “mancha branca” que representa, portanto, o primeiro sinal clínico da doença (Braga et al., 2010).

Um dos requisitos para a formação biofilme bacteriano cariogênico é a existência de superfícies sólidas (tecidos duros). Dentre essas, a face oclusal de molares, particularmente durante o período de erupção, e as faces proximais são geralmente as regiões de maior acúmulo de biofilme. Isto ocorre porque o biofilme tende a se desenvolver em áreas específicas que não estejam expostas ao desgaste mecânico durante a função mastigatória ou à escovação, isto é, em áreas de estagnação (Kidd; Fejerskov, 2004).

Como afirmam Nyvad e Fejerskov (1997), a progressão de uma lesão pode ser impedida em qualquer estágio, mesmo quando há cavitação, desde que as condições ambientais, como o controle do biofilme e presença de flúor, sejam favoráveis. Neste caso, o tratamento restaurador da cavidade com qualquer tipo de material, ao impedir o acúmulo de biofilme sobre a lesão, pode evitar sua progressão. Mais do que isso, entretanto, acredita-se que os materiais restauradores capazes de liberar flúor não só podem promover a remineralização do tecido envolvido com a lesão cavitada em questão, mas também de lesões incipientes em superfícies com as quais tenha contato.

O efeito carioestático de materiais restauradores que liberam flúor sobre lesões de cárie secundárias adjacentes à restauração já encontra-se bem sedimentado na literatura (Van Dijken, 1996; Tantbirojn et al., 1997; Yaman, et al., 2004; Mickenautsch et al., 2009).

Alguns estudos sugerem também que superfícies em contato proximal com materiais como o cimento de ionômero de vidro convencional ou modificado por resina e o resinas compostas modificadas por poliácidos podem se beneficiar do efeito preventivo ocasionado pela liberação de flúor (Lennon et al., 2007; Lee et al., 2008). Quando existe uma lesão de cárie envolvendo superfícies proximais, é provável que o dente adjacente apresente, ao menos, lesão incipiente em esmalte. Estas lesões poderiam ser favorecidas pela propriedade de liberação de flúor de determinados materiais restauradores, agindo de forma a inibir sua progressão ou até promovendo sua remineralização.

É sabido, porém, que materiais restauradores que contenham flúor possuem desigual capacidade de liberá-lo ou de recapturá-lo do ambiente bucal. Este potencial está relacionado à sua constituição, mecanismo de presa e conteúdo intrínseco do íon de cada um deles, variando também conforme as condições ambientais (Wiegand et al., 2007). Atualmente existem diversos materiais disponíveis, incluindo cimentos de ionômero de vidro convencionais ou de alta viscosidade, cimentos de ionômero de vidro modificados por resina e resinas compostas modificadas por poliácidos. A composição de cada um deles é capaz de influenciar tanto suas propriedades físicas como também a quantidade de flúor liberado, o que determinará a indicação e as vantagens para o uso nas diferentes situações.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Os cimentos de ionômero de vidro foram desenvolvidos com a proposta de liberar flúor para o meio e reincorporá-lo após aplicações tópicas, possuindo diferentes vantagens em relação a outros materiais restauradores, como a alta biocompatibilidade e adesão química às estruturas dentais (Mount, 1999). Entretanto, este material, desenvolvido a partir da junção do cimento de silicato e do policarbonato de zinco, possui algumas propriedades mecânicas deficientes quando comparado a outros. Deste modo, novos materiais capazes de liberar flúor, tais como cimentos de ionômero de vidro de alta viscosidade, ionômeros modificados por resina, resinas compostas modificadas por poliácidos e resinas compostas com incorporação de flúor, entre outros, foram criados com o propósito de combinar resistência mecânica e potencial anticariogênico. Estes materiais, todavia, demonstram quantidades variáveis de liberação de flúor o que pode interferir na propriedade de inibição da formação de lesão de cárie secundária (Carvalho; Cury, 1999; Mazzaoui et al., 2000; Guglielmi et al., 2011).

Os cimentos de ionômero de vidro convencionais foram criados por Wilson e Kent (Wilson; Kent, 1972) na Inglaterra na década de 70, sendo normalmente constituídos por um pó e um líquido que ao se misturarem dão início a uma reação de presa do tipo ácido-base. O pó é constituído basicamente por sílica, cálcio, alumínio e fluoretos e o líquido por solução aquosa dos ácidos poliacrílico, tartárico e itacônico. Nesta reação, ocorre primeiramente a fase de deslocamento de íons, na qual o ácido dissolve a camada mais externa das partículas de vidro do pó. Assim, o íon hidrogênio desloca os íons cálcio e alumínio presentes no pó, que inicialmente se unem ao flúor formando fluoreto de cálcio e alumínio. Com o aumento da acidez, estes compostos se dissociam, reagindo com os polímeros acrílicos para formar complexos mais estáveis. Reação semelhante ocorre entre o líquido e o tecido dental: o hidrogênio desloca o cálcio e o fosfato e estes acabam reagindo com grupos carboxílicos, aderindo ao esmalte ou dentina. Na fase seguinte, há então a formação da matriz gel a partir das ligações cruzadas iônicas de poliacrilato de cálcio, caracterizadas pelo endurecimento do cimento e pela sua opacidade. Esta fase leva em torno de 5 a 10 minutos. A partir de então, ocorre a formação do gel sílica e incorporação do vidro à matriz do cimento, processo que continua ao longo do tempo, evidenciado pelo aumento da resistência do

cimento com o tempo (Wasson; Nicholson, 1993). A reação do tipo ácido-base é uma importante característica dos cimentos de ionômero de vidro, e é por meio deste mecanismo que o flúor é inicialmente liberado ao meio (Mount, 1999). O potencial anticariogênico dos cimentos de ionômero de vidro para o tecido ao redor da restauração já foi diversas vezes comprovado por estudos *in vitro* (Salas et al., 2011), *in situ* (Sousa et al., 2009) e *in vivo* (Trairatvorakul et al., 2011).

Apesar de suas variadas vantagens, os cimentos de ionômero de vidro convencionais não costumam apresentar igual longevidade quando comparados a outros materiais restauradores, principalmente em cavidades envolvendo faces proximais (Frankenberger et al., 1997; Qvist et al., 2010). Com o desenvolvimento do Tratamento Restaurador Atraumático (ART), entretanto, o cimento de ionômero de vidro de alta viscosidade difundiu-se e tornou-se o material de escolha para a técnica, alcançando resultados clínicos favoráveis em termos de longevidade da restauração (van't Hof et al., 2006). Alguns estudos mostram igual desempenho deste material quando comparado ao amálgama para cavidades oclusais em dentes permanentes (Frankenberger et al., 1997; Frencken et al., 2004 ; Mickenautsch et al., 2010). Com maior proporção entre pó e líquido e menores partículas do pó, a reação de presa no cimento de alta viscosidade ocorre mais rapidamente e a matriz formada torna-se mais resistente mecanicamente (van Duinen et al., 2005; Bonifacio et al., 2009).

No final da década de 80, os cimentos de ionômero de vidro modificados por resina foram desenvolvidos também com o objetivo de melhorar suas propriedades mecânicas e sua susceptibilidade inicial à umidade. Diversos estudos compararam as propriedades mecânicas entre cimentos convencionais e modificados por resina e na grande maioria deles foi demonstrado que a inclusão de componentes resinosos ao ionômero de vidro produz um constante aumento na resistência à tensão e à flexão, no entanto essa melhora não se reflete na dureza do material ou na resistência ao desgaste (Xie et al., 2000; Ellakuria et al., 2003).

O componente resinoso incorporado a este tipo de material é geralmente o monômero fotopolimerizável hidroxietilmetacrilato (HEMA), presente no líquido, além de fotoiniciadores presentes no pó (Wiegand et al., 2007). A reação de presa dos cimentos de ionômero de vidro modificados por resina se dá, além da típica reação de ácido-base existente nos cimentos convencionais, por meio da fotopolimerização dos componentes resinosos, responsável pela imediata formação da matriz polimérica. Alguns estudos sugerem que a presença do HEMA faz com que haja menor

disponibilidade de água para a reação de ácido-base, que pode, conseqüentemente, ser retardada, influenciando não só suas propriedades mecânicas, mas também a capacidade de liberação de flúor (Nicholson, 1998; Verbeeck et al., 1998; Wan et al., 1999). Assim, a classificação deste tipo de material como verdadeiro cimento de ionômero de vidro tem sido questionada. É sugerido que um cimento modificado por resina pode realmente ser considerado um cimento ionomérico quando é capaz de tomar presa mesmo sem a aplicação de luz. Wan et al. (1999) demonstraram que a completa reação ácido-base em cimentos modificados por resina pode levar até 168 horas, enquanto que nos cimentos convencionais leva apenas 24 horas. Por outro lado, alguns autores demonstraram que este fator não impede que proporcional quantidade de flúor seja liberada para o meio quando comparados aos cimentos convencionais (Forss, 1993; Momoi; McCabe, 1993; Forsten, 1995) e é sabido que os cimentos modificados por resina também liberam maior quantidade de flúor nas primeiras 24 horas após a manipulação (Attar; Turgut, 2003). Forsten et al. (1995), ao testar a quantidade de flúor liberada por seis diferentes marcas de cimentos de ionômero de vidro modificados por resina observou que, após 24 horas, 1, 9 ou 11 meses, a maioria dos espécimes testados liberavam igual ou maior quantidade de flúor que o controle convencional e que tanto o tratamento dos espécimes com flúor tópico quanto a diminuição pH da solução em que estavam imersos proporcionaram ainda maior liberação. Donly et al. (1999) compararam a performance de restaurações proximais realizadas com cimento de ionômero de vidro modificado por resina e amálgama. Neste estudo *in vivo*, não houve diferença entre os dois materiais com relação à longevidade das restaurações, porém, após esfoliação dos dentes aqueles que haviam sido restaurados com cimento de ionômero de vidro modificado por resina apresentaram significativamente menor grau de desmineralização ao redor da restauração.

Outro estudo *in situ* demonstrou a capacidade do cimento de ionômero convencional, do modificado por resina e da resina composta modificada por poliácidos de proteger a superfície proximal adjacente quando comparados à resina composta convencional (Kotsanos, 2001), entretanto, pelo fato de este não levar em consideração a utilização do flúor tópico, os resultados não podem ser associados a populações que utilizam dentifrício fluoretado.

Enquanto os cimentos de ionômero de vidro modificados por resina foram basicamente desenvolvidos pela adição do metacrilato ao ácido poliacrílico, as resinas compostas modificadas por poliácidos são constituídos por monômeros também presentes

na resina composta, como HEMA, bisfenol-glicidil-metacrilato (BIS-GMA) ou trietilenoglicol-dimetacrilato (TEG-DMA), e uma pequena quantidade de monômeros ácidos (Mount et al., 2002). As partículas que os constituem são as mesmas do cimento de ionômero de vidro convencional, entretanto em menor tamanho e quantidade. A reação de presa ocorre principalmente por fotopolimerização, seguida pela reação de ácido-base que se dá por meio da sorção de água do meio. Esta reação ocorre lentamente e alcança um ponto de saturação em aproximadamente 4 semanas (Eliades et al., 1998). Ao contrário dos cimentos convencionais e modificados por resina, a resina composta modificada por poliácidos não apresenta um pico inicial de liberação de flúor, há apenas um ligeiro aumento nos primeiros dias, no entanto, o nível parece manter-se constante ao longo do tempo (Yap et al., 2002; Neelakantan et al., 2011), sendo consideravelmente menor quando comparado aos primeiros.

Alguns estudos demonstraram que a resina composta modificada por poliácidos também é capaz de promover um efeito protetor do esmalte dental quando submetido a desafio cariogênico (Hicks et al., 2000; Savarino et al., 2004), embora este efeito ainda seja maior para cimentos de ionômero de vidro, seguidos pelos cimentos de ionômero modificados por resina (Yaman et al., 2004). Pouco se sabe ainda sobre o efeito do flúor liberado por resinas compostas modificadas por poliácidos sobre o esmalte do dente em contato proximal. Em um estudo *in situ*, avaliando o efeito preventivo da resina composta modificadas por poliácidos sobre superfícies proximais adjacentes, Lennon et al., 2007 demonstraram bom desempenho deste material quando comparado apenas às resinas compostas, enquanto que Kielbassa et al. (2003) não encontraram efeito protetor do esmalte adjacente para diferentes materiais que liberam flúor, incluindo resinas compostas modificadas por poliácidos.

O cimento de ionômero de vidro modificado por resina nanoparticulado surgiu recentemente no mercado visando melhor estética e resistência mecânica sem que a capacidade de liberação flúor fosse prejudicada (Mitra et al., 2011). De acordo com o fabricante, a incorporação de nanopartículas, que constituem dois terços do seu conteúdo, oferece melhor polimento final, além da sua apresentação no sistema pasta-pasta facilitar a dosagem e manipulação. Sua composição inclui partículas de vidro fluoraminosilicato e ácido poliacrílico e itacônico, além de uma mistura de monômeros resinosos como BIS-GMA, TEG-DMA, PEG-DMA e HEMA. Morfologicamente, este material é um híbrido entre cimento de ionômero de vidro modificado por resina e a resina composta nanoparticulada (Neelakantan et al., 2011). Foi demonstrado que este cimento

nanoparticulado sofre menor degradação superficial (rugosidade) do que outros materiais ionoméricos, como o cimento de ionômero de vidro convencional ou o modificado por resina (de Fúcio et al., 2012). Entretanto, por fazer parte de uma tecnologia mais recente, pouco se sabe ainda sobre suas propriedades ou seu potencial anticariogênico, apesar de não terem sido obtidos resultados satisfatórios clinicamente com relação à adaptação marginal e manchamento (Perdigão et al., 2012). Esse material restaurador deve ser utilizado posteriormente à aplicação do primer para melhor adesão, embora Korkmaz et al. (2010) tenham demonstrado que a resistência de união à dentina é ainda inferior aos sistemas adesivos utilizados com resinas compostas. No entanto, foi demonstrado também que tais valores são semelhantes àqueles encontrados para os ionômeros convencionais (Coutinho et al., 2009).

Assim como ocorre com outros ionômeros modificados por resina, a liberação de flúor do nanoparticulado para o meio aumenta significativamente com a diminuição do pH (Moreau; Xu, 2010), embora tenha mostrado valores inferiores quando comparado aos primeiros. Este material também se demonstrou superiormente capaz de proteger o esmalte ao redor de restaurações quando sujeito ao desafio cariogênico, quando comparado à resina composta (Salas et al., 2011).

Apesar da importância de conter flúor, as propriedades mecânicas de um material restaurador tornam-se imprescindíveis quando se trata de lesões ocluso-proximais. Foi demonstrado que ionômeros modificados por resina e resinas compostas modificadas por poliácidos têm desempenho semelhante ao amálgama neste tipo de cavidade, enquanto o cimento convencional mostra menor longevidade (Qvist et al., 2010). Recente revisão sistemática, entretanto, confirmou que não há evidências que suportem a escolha de qualquer material restaurador para cavidades ocluso-proximais (Raggio et al., 2012). Esses dois fatores, portanto, devem ser considerados para a escolha do melhor material restaurador em tais situações. Entretanto é também sugerido que materiais que liberam maior quantidade de flúor apresentam, geralmente, pior desempenho mecânico (Moreau; Xu, 2010). Por esse motivo, este estudo visou avaliar diferentes modalidades de materiais que contenham flúor.

Pouco se sabe a influência dos diferentes materiais que liberam o íon na remineralização de lesões presentes na superfície proximal de dentes adjacentes a elementos restaurados com eles. Além disso, é sugerido que os cimentos convencionais (puros) liberam maior quantidade de flúor e é sabido que essa liberação é maior nos

primeiros 7 dias que seguem a manipulação, decaindo após esse período (Hayacibara et al., 2003; Wiegand et al., 2007; Moreau; Xu, 2010).

Um estudo *in situ* demonstrou que a resina composta modificada por poliácidos pode ser eficiente na prevenção da formação de lesão em superfícies de esmalte hígida com a qual esteja em contato proximal (Lennon et al., 2007). O mesmo foi sugerido por Qvist et al. (2010) em três diferentes estudos clínicos utilizando o cimento de ionômero de vidro convencional (Qvist et al., 2004a), cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Qvist et al., 2004b; Qvist et al., 2004c) e resina composta modificadas por poliácidos (Qvist et al., 2004c).

Estes estudos, entretanto, levam apenas em consideração a capacidade dos materiais em proteger a superfície proximal adjacente hígida, mas não seu potencial em remineralizar ou ao menos evitar a progressão de lesões proximais já existentes. Uma vez que o aparecimento da lesão proximal se deve ao fato de acúmulo de biofilme nesta região, é improvável o acometimento de apenas uma das faces interproximais (Nyvad; Fejerskov, 1997).

Alguns estudos demonstraram previamente que o cimento de ionômero de vidro, o cimento de ionômero modificado por resina e o resinas compostas modificadas por poliácidos são capazes de promover a remineralização de lesões incipientes no esmalte de dentes com os quais estão em contato proximal, quando armazenados *in vitro* em saliva artificial (Marinelli et al., 1997; Segura et al., 1997; Bynum; Donly, 1999; Lee et al., 2008). Estes estudos, no entanto, não levaram em consideração a presença do flúor tópico ou a susceptibilidade frente a um novo desafio cariogênico.

Quando se estuda o conteúdo mineral como variável de resposta, alguns métodos são disponíveis para sua mensuração. Após a percepção da relação direta entre as propriedades óticas do esmalte dental e seu grau de mineralização (Buchalla, 2005), algumas ferramentas foram desenvolvidas visando o monitoramento de lesões de cárie bcom base em tais propriedades, entre eles o QLF™ (*Quantitative light-induced fluorescence*). Esse equipamento registra a fluorescência intrínseca emitida pelo tecido dentário, bem como a fluorescência emitida pelos metabólitos bacterianos presentes no biofilme, quando irradiados por fonte de luz com comprimento de onda de aproximadamente 400 nanômetros (nm). As imagens obtidas são avaliadas por meio de um software capaz de medir o grau de perda de fluorescência entre o tecido sadio e o desmineralizado (Gmür et al., 2006), originando um valor de variação de fluorescência (ΔF). Além disso, a área na qual houve perda de fluorescência também é registrada e

associada ao valor ΔF , resultando em um valor referente à alteração volumétrica mineral ($\Delta Q \text{ mm}^2$).

Tanto a propriedade de emissão de fluorescência pelo biofilme bacteriano (Heinrich-weltzien et al., 2003) quanto a efetividade da associação entre a ocorrência do processo de desmineralização e a atividade de cárie em superfícies lisas foram já demonstradas com o uso do QLFTM (Meller et al., 2006). A análise da perda mineral por meio deste aparelho tem como grande vantagem ser um método não destrutivo. Diversos estudos foram publicados mostrando a possibilidade de uso do QLFTM não só para auxiliar o diagnóstico de lesões de cárie (Ferreira-Zandoná et al., 2010), mas também para o monitoramento de qualquer lesão que envolva alterações no conteúdo mineral (Elton et al., 2009; McGrady et al., 2012).

Outro equipamento baseado na propriedade de fluorescência do tecido dentário foi recentemente lançado no mercado com o nome de VistaProofTM (Dürr Dental, Bietigheim-Bissingen, Alemanha). O equipamento consiste em uma câmera intra-oral que emite luz com comprimento de onda por volta de 400 nm por meio de um sistema de LED (*light emitting diode*), capaz também de captar a fluorescência no comprimento de onda vermelho e verde. No software, existe um filtro específico que realça a fluorescência proveniente de lesões de cárie, associando-as a valores de escores (0 a 3), sendo que valores mais altos são atribuídos a lesões mais avançadas. Alguns estudos já demonstraram a efetividade desse método para o diagnóstico de lesões de cárie em superfícies oclusais *in vitro* (Rodrigues et al., 2008; Souza et al., 2013; De Benedetto et al., 2006) e *in vivo* (Matos et al., 2011), tanto em dentes permanentes quanto em decíduos.

Atualmente, a dureza transversal de lesões de cárie tem sido o método mais utilizado para a avaliação do seu conteúdo mineral (Sousa et al., 2009, Guglielmi et al., 2012) mostrando confiabilidade para este fim. Embora não possa medir diretamente o conteúdo mineral, a microdureza representa uma das alternativas à microrradiografia transversal, o padrão ouro, sendo mais indicada do que a dureza longitudinal (Magalhães et al., 2009) para a avaliação de lesões de cárie. Desta forma, o teste de microdureza utilizado simultaneamente a esses novos métodos é interessante para assegurar um parâmetro de confiabilidade.

Embora anteriormente tenha sido demonstrado que não há evidências conclusivas sobre o efeito preventivo dos cimentos de ionômero de vidro sobre a formação de lesões de cárie secundárias (Randall; Wilson, 1999), atualmente este potencial anticariogênico é aceito e comprovado (Mickenautsch et al., 2009). Entretanto, dúvidas permanecem com

relação ao efeito anticariogênico de outros materiais que liberam flúor, uma vez que revisões sistemáticas já demonstraram similar desempenho entre cimentos de ionômero puros e modificados por resina (Mickenausch et al., 2010) e entre cimentos de ionômero modificado por resina e resinas que contenham flúor (Mickenausch; Yengopal, 2010), porém superior desempenho para os modificados por resina quando comparados à resina convencional (Yengopal; Mickenausch, 2011). Devido à ausência de estudos *in vitro* e *in situ* em relação aos tópicos discutidos anteriormente, bem como a comparação entre diferentes materiais ionoméricos, o presente estudo avaliou a possibilidade de materiais que liberam flúor promoverem a remineralização ou, ao menos, impedirem a progressão de lesões proximais presentes no dente adjacente à restauração, durante desafio cariogênico.

3 PROPOSIÇÃO

Este estudo teve como objetivo:

- 1 A investigação *in vitro* e *in situ* das alterações minerais de lesões de cárie em esmalte decíduo induzidas artificialmente, quando em contato com diferentes materiais restauradores capazes de liberar flúor, simulando a restauração em cavidades proximais.
- 2 Avaliar a capacidade dos métodos QLFTM e VistaProofTM no monitoramento de perda e ganho mineral das lesões adjacentes a materiais liberadores de flúor.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo recebeu aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo - FOUSP (protocolo 186/2009 – Anexo A). Um fluxograma (Apêndice A) ilustra as etapas que compõem a metodologia do estudo.

4.1 ESTUDO *IN VITRO*

4.1.1 Preparo dos espécimes

Cento e trinta caninos decíduos hígidos, armazenados em água destilada, foram obtidos do Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da USP (FOUSP). Estes foram previamente avaliados em lupa estereoscópica (Olympus SZTP, Nikon, Japão), com aumento de 30 vezes, sendo selecionados somente dentes hígidos, sem manchas, trincas ou áreas hipoplásicas. Os dentes passaram por profilaxia com pedra pomes e taça de borracha e foram então seccionados com disco diamantado dupla face (KG Sorensen, Cotia, Brasil) em baixa rotação, primeiramente separando as faces vestibular e lingual e posteriormente obtendo-se espécimes com dimensões de 5 mm de largura e altura por 3 mm de espessura, a partir da face vestibular.

A superfície de cada bloco obtido após a secção foi coberta com esmalte de unha incolor (Revlon, Nova Iorque, EUA), deixando-se uma área de 2x3 mm descoberta. Neste momento, uma imagem inicial de cada um dos espécimes foi realizada para mensuração do conteúdo mineral por fluorescência induzida, utilizando-se para isso os equipamentos QLF™ (Inspektor Research Systems, Holanda) e VistaProof™ (Dürr Dental, Alemanha), conforme descrito detalhadamente nos tópicos 4.1.2 e 4.1.3). O apêndice A ilustra o delineamento do estudo, demonstrando as etapas que seguiram o preparo dos espécimes. Os blocos foram então submetidos à indução de lesão de cárie pelo método de ciclagem de pH, sendo alocados em frascos plásticos transparentes e individuais. Este processo foi composto de ciclos de desmineralização – remineralização por um período de 10 dias, em temperatura ambiente. Cada ciclo

consistiu na imersão por 8 horas em solução desmineralizante (2,2 mM CaCl_2 , 2,2 mM de NaH_2PO_4 , 0,05 M de ácido acético, pH 4,6), seguido de imersão por 16 horas em solução remineralizante (1,5 mM de CaCl_2 , 0,9 mM NaH_2PO_4 , e 0,15 M de KCl, pH 7,0) (Ten Cate; Duijsters, 1982; Mendes; Nicolau, 2004). A imersão dos espécimes ocorreu em seus frascos individuais com volume de 2 ml de solução. A cada troca de solução, a mesma era desprezada e tanto o frasco como o espécime eram lavados com água deionizada. Ao final desta etapa, novas imagens foram realizadas com o QLF™ e o VistaProof™ (tópicos 4.1.2 e 4.1.3) e 10 espécimes foram recolhidos e seccionados para a análise de microdureza transversal (tópico 4.1.4).

Blocos cilíndricos (4 mm de altura e 3 mm de diâmetro) foram preparados com seis tipos diferentes de materiais (n=20), como descrito no Quadro 4.1, com auxílio de uma matriz circular. Para inserção dos materiais na matriz, foi utilizada espátula de inserção (número 1), com exceção dos materiais Riva self-cure® e Dyract Extra®, por serem encapsulados. Foram selecionados 2 cimentos de ionômero de vidro (CIV) de alta viscosidade, pois um deles é apresentado na fórmula de cápsulas, e 2 CIVs modificados por resina, por um deles ser nanoparticulado.

Grupo	Material utilizado	Nome comercial	Composição	Método de inserção/ativação
G0	Resina composta nanohíbrida	Z350® (3M ESPE, EUA)	BIS-GMA, BIS-EMA,UDMA, TEGDMA	2 incrementos (2mm)/ 40 s em cada incremento
G1 n=20	CIV de alta viscosidade	Ketac Molar® (3M ESPE, EUA)	Pó: Vidro alumínio-cálcio-fluorsilicato, ácidos acrílico e maléico; Líquido: ácido tartárico	1 incremento; pressão digital com vaselina
G2 n=20	CIV de alta viscosidade encapsulado	Riva Self Cure® (SDI, Austrália)	Pó: ácido poliacrílico, vidro aluminossilicato; Líquido: ácido poliacrílico, ácido	1 incremento; pressão digital com vaselina

			tartárico	
G3 n=20	CIV modificado por resina	Vitremer® (3M ESPE, EUA)	Pó: vidro fluoramino silicato, persulfato de potássio, ácido ascórbico; Líquido: ácido polialquenóico, metacrilato, HEMA	1 incremento/ fotoativação por 40 s em cada face
G4 n=20	CIV modificado por resina com nanopartículas	Ketac Nano® (3M ESPE, EUA)	Vidro, nanopartículas de sílica/zircônia, ácido acrílico e itacônico HEMA, PEGDMA, BISGMA, TEGDMA (blending)	2 incrementos (2 mm)/fotoativação por 20 s em cada incremento
G5 n=20	RC modificada por poliácidos	Dyract Extra® (Dentsply Alemanha)	Bisphenol-A-dimethacrylate, TEGDMA, TMPTMA, vidro fluoreto de estrôncio	2 incrementos (2 mm)/fotoativação por 20 s em cada incremento

Quadro 4.1 - Materiais utilizados no estudo.

Após o preparo, os blocos de material foram armazenados separadamente em vaselina líquida por 24 horas. Cada espécime foi, então, acoplado a um dos blocos de material restaurador com auxílio de elásticos ortodônticos intermaxilares, de modo que a face da lesão e o material restaurador simulassem o ponto de contato existente em restaurações proximais. A face livre do bloco de material foi também coberta com esmalte ácido resistente. Os blocos de esmalte foram alocados em cada grupo de acordo com o valor inicial obtido durante a mensuração com os equipamentos de fluorescência, sendo a distribuição feita de forma homogênea. Para isso, após a distribuição nos grupos, os valores de fluorescência foram comparados estatisticamente, garantindo que não houvesse diferença entre os grupos, tanto na fase inicial (esmalte hígido) quanto após a formação das lesões de mancha branca (Tabela 5.1 e 5.2).

Cada conjunto (bloco+material) passou então novo desafio cariogênico por 7 (n=10) ou 14 (n=10) dias, iniciado logo após o acoplamento. Para isso, foram utilizadas soluções com a mesma composição daquela utilizada para a indução da lesão de cárie, sendo o volume ajustado para 3 ml por frasco e o pH da solução desmineralizante ajustado para 4,5. Novamente, os ciclos consistiram de 8 horas em solução desmineralizante e 16 horas em solução remineralizante. Após o período de desafio cariogênico, os espécimes dentais foram separados do bloco de material restaurador ao qual estavam unidos, lavados em água deionizada, secos em papel absorvente e mantidos em seus frascos individuais. Antes e após os períodos de ciclagem, os espécimes foram mantidos em umidade relativa, sendo secos com gaze previamente às mensurações (Gmür et al., 2006). Um dia após os períodos de ciclagem, novas imagens foram obtidas com os equipamentos QLF™ e VistaProof™ para as análises subsequentes, conforme descrito abaixo.

4.1.2 Quantificação de fluorescência induzida pela luz - QLF™

A alteração do conteúdo mineral (variável de resposta) foi avaliada quantitativamente pela mensuração de fluorescência do substrato dental, além da propriedade de dureza. Para tanto, as imagens foram obtidas com o equipamento QLF™ e analisadas por meio do seu software (Inspektor™ Pró Software, Research Systems, versão 2.0.0.30, Amsterdam, Holanda). Para que houvesse padronização do posicionamento dos espécimes, uma base de silicose de condensação (Clonage, DFL, Brasil) foi confeccionada para cada um deles, de modo que a impressão do espécime (parte dentinária) ficasse registrada no material. Desta forma, todas as bases foram identificadas com o número do espécime, tendo elas o mesmo diâmetro (3,5 mm) e altura (1,5mm).

As imagens foram capturadas em ambiente escuro, com a peça de mão do equipamento posicionada sobre a base de silicone. Para a captura, foi utilizada a ferramenta do software de padronização da obtenção das imagens, ajustada a um nível de 99%. Estas foram então armazenadas no disco rígido do equipamento.

Os tempos experimentais nos quais ocorreram as mensurações foram os seguintes:

T0: inicial (esmalte hígido);

T1: após a formação das lesões de cárie e

T2: após o período em contato com material restaurador, por 7 ou 14 dias de desafio cariogênico.

A delimitação da área de análise ocorreu dentro dos limites da janela de 2x3 mm, livre do esmalte ácido-resistente, onde, portanto houve a formação da lesão. Uma pequena área coberta pelo esmalte de aproximadamente 1 mm foi incluída na área de análise (área ativada), uma vez que a variação de fluorescência é determinada a partir esmalte hígido.

Por meio do software, as imagens obtidas foram estão analisadas com a ferramenta de fluorescência no verde (*white spot*) com relação à perda/ganho de fluorescência observadas nas diferentes etapas do experimento, obtendo-se então os valores ΔF (%), ΔQ (%mm²) e a área da lesão (mm²). Estes valores indicam a diferença de fluorescência verde entre o tecido desmineralizado e o sadio, sendo que ΔQ estima o volume da lesão, levando em conta sua área (produto entre ΔF e área de análise).

4.1.3 Quantificação de fluorescência induzida pela luz - VistaProof™

A câmera intra-oral VistaProof™ (Dürr Dental, Alemanha) foi também utilizada para obtenção da imagem da superfície de cada um dos espécimes, em local protegido da luz ambiente, utilizando-se as mesmas bases confeccionadas em silicone de condensação descritas previamente para padronização do posicionamento da peça de mão do equipamento. Uma única imagem foi obtida para cada um dos espécimes para a mensuração do grau de fluorescência, nas etapas descritas anteriormente no tópico 4.1.2. Neste equipamento, o grau de fluorescência verde é estabelecido por meio de um sistema de escores de 0 a 3, no qual 0 significa “esmalte sadio” e 3 significa “lesão profunda em dentina”. O maior valor de escore indicado pelo software do aparelho, no centro da janela delimitada para indução da lesão, foi registrado nas diferentes etapas do

estudo, sendo os valores comparados com relação à perda/ganho de fluorescência observadas.

4.1.4 Análise de microdureza transversal

Para análise da microdureza transversal foi utilizado um microdurômetro (Shimadzu Micro Hardness tester, Shimadzu Corporation, Tokyo, Japão) e penetrador tipo Knoop, com carga estática de 25 gramas e tempo de 15 segundos. Após a indução das lesões de cárie em esmalte (T1), 10 dos 130 espécimes foram recolhidos para a análise de microdureza transversal, para mensuração dos valores para a lesão de cárie. Conforme as seguintes etapas do estudo, após o período de 7 (n=60) ou 14 (n=60) dias de desafio cariogênico (T2), posteriormente às mensurações com QLF™ e VistaProof™, os espécimes foram recolhidos para a mensuração da microdureza transversal.

Para tanto, os espécimes foram seccionados no sentido transversal com disco diamantado dupla-face (KG Sorensen, Cotia, Brasil) em baixa rotação, no centro da janela delimitada para impermeabilização (centro da lesão), e uma das metades obtidas foi incluída em resina acrílica. Posteriormente, foram polidos em politriz rotativa, com lixas d'água de granulação #400, #600, #1200 e #4000, por 60 segundos, e pasta diamantada (1 e 0,25 μm) com disco de feltro, por 30 segundos.

Três linhas de indentações, no centro da região delimitada pela janela de impermeabilização foram realizadas com distância de 100 μm entre elas e de 10, 30, 50, 70, 90, 110 e 220 μm a partir da superfície de esmalte. A média dos valores obtidos entre as três linhas de indentações, em cada distância, foi considerada para as análises. Para a comparação com o esmalte hígido, 5 indentações foram feitas fora da janela coberta pelo verniz ácido-resistente, ao redor da lesão. A média destes valores foi utilizada para atribuir o valor do esmalte hígido para aquele espécime. Para o cálculo da perda de dureza, utilizou-se o valor obtido sob a área do gráfico formado a partir dos valores de dureza obtidos em cada distância.

4.1.5 Análise estatística

Ao final do estudo, ao conteúdo mineral de cada espécime estava associado um valor inicial (T0), um valor após a formação de lesão (T1) e um valor após o desafio cariogênico *in vitro*, em contato com o material restaurador (T2), tanto para o QLFTM quanto para o VistaProofTM.

Com relação ao teste de dureza transversal, cada espécime obteve um valor inicial (T0), que foi obtido a partir das indentações na área hígida, e um valor após o desafio em contato com o material restaurador (T2). Os valores de referência para a dureza após a formação das lesões (T1) foi obtido após a secção dos 10 espécimes recolhidos nesta etapa do estudo (independentes).

Para a avaliação da normalidade e homogeneidade dos dados obtidos, foram utilizados os testes de Anderson-Darling e de Levene, respectivamente. Para a comparação entre os grupos e tempos de desafio para os valores de ΔQ , ΔF e dureza, foi utilizado ANOVA de 2 fatores, com teste complementar de Tukey. Para os valores de ΔQ , como alguns grupos não apresentaram distribuição normal nem homogênea, foi realizada transformação Box-Cox dos dados para que atingissem a normalidade. A análise de variância foi feita depois da transformação.

Para os dados obtidos com o VistaProofTM, como não houve distribuição normal, foi realizado o teste de Mann-Whitney para comparação entre os tempos e para comparação entre os grupos o teste de Kruskal-Wallis, todos com Correção de Bonferroni.

4.2 ESTUDO *IN SITU*

A parte inicial do estudo *in situ*, que inclui o preparo dos espécimes e a indução de lesão de cárie em esmalte, ocorreu de maneira semelhante ao estudo *in vitro*, por isso será relatada de forma sucinta, assim como as etapas de quantificação do conteúdo mineral. O desafio cariogênico após o contato com os materiais restauradores, entretanto, foi realizado por meio de dispositivos intra-orais contendo os espécimes, utilizado por voluntários de acordo com o protocolo do estudo.

4.2.1 Seleção dos voluntários

Foram selecionados 10 voluntários com faixa etária entre 20 e 40 anos, de ambos os gêneros, residentes na cidade de São Paulo (cidade com 0,7 ppm de flúor na água de abastecimento). Todas as orientações referentes à utilização dos dispositivos intra-orais e procedimentos necessários à pesquisa foram fornecidas por escrito aos participantes (Apêndice B), bem como o material a ser utilizado.

Como critérios de inclusão, os voluntários não poderiam: apresentar lesões de cárie e/ou doença periodontal; fazer uso de medicamentos com efeito de acentuada hipossalivação ou antibióticos; fazer uso de aparelho ortodôntico. Além disso, deveriam entender a razão do estudo, aceitar participar de forma voluntária e cooperar com as instruções propostas, de acordo com termo de consentimento livre e esclarecido assinado por eles (Apêndice B).

4.2.2 Preparo dos espécimes

Cento vinte caninos decíduos hígidos, armazenados em água destilada, foram obtidos no Banco de Dentes Humanos da FOUSP e blocos de esmalte foram preparados conforme descrito no item 4.1.1, incluindo a etapa de indução de lesões artificiais de cárie pelo método de ciclagem de pH. Neste estudo, porém, os blocos de esmalte possuíam 4 mm de largura e altura e 2 mm de espessura. A área delimitada com esmalte ácido-resistente, no entanto, permaneceu com a mesma medida (3x2 mm).

Após o preparo e o procedimento de ciclagem para indução de lesões, os dentes foram esterilizados por radiação Gama (25 kGray), no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN- USP). Blocos cilíndricos com os mesmos materiais restauradores também foram confeccionados conforme explicado previamente no item 4.1.1 e descrito no Quadro 4.1. Neste estudo, a espessura dos blocos foi reduzida para 2 mm para adaptação nos dispositivos intra-orais.

Da mesma forma como no estudo *in vitro*, os blocos de esmalte foram alocados em cada grupo de acordo com o valor inicial obtido durante a mensuração com os

equipamentos de fluorescência, sendo a distribuição feita de forma homogênea (Tabela 5.4 e 5.5).

4.2.3 Dispositivos intra-orais

Dispositivos intra-orais palatinos removíveis foram confeccionados em resina acrílica sobre modelos de gesso obtidos a partir da moldagem com hidrocolóide irreversível (Avagel, Dentisply, Brasil) da arcada superior dos voluntários. Nos dispositivos foram confeccionadas seis cavidades, três de cada lado da linha mediana, com dimensões aproximadas de 6 x 5 x 5mm. Os conjuntos (espécimes+material restaurador, também presos com elástico intermaxilar) foram inseridos nas cavidades, presos com cera para enceramento e recobertos com tela plástica fixada com resina acrílica autopolimerizável (Jet Artigos Odontológicos, Brasil), deixando-se um espaço de aproximadamente 1 mm para propiciar o acúmulo de biofilme e evitar a desestruturação dos espécimes pelos movimentos da língua (Koulourides et al., 1974; Higham et al., 2005, Paes Leme et al., 2004). Os dispositivos foram montados de modo a conter um espécime de cada material restaurador em cada um deles. Houve aleatorização da posição dos conjuntos nas seis cavidades do dispositivo, para não existir o risco de privilegiar algum material em local de menor acúmulo de placa (Sousa et al., 2009). Esta aleatorização foi feita primeiramente por sorteio e, nos demais dispositivos, a ocupação das cavidades pelos espécimes foi feita de maneira rotatória, para que todos os materiais restauradores ocupassem todas as posições.

4.2.4 Protocolo de utilização dos dispositivos intra-orais

Os voluntários foram instruídos a utilizar os dispositivos intra-orais durante todo o dia, em duas fases: uma de 7 dias (n=10) e outra de 14 dias (n=10), com um período de 7 dias (*wash out*) entre elas. Eles foram divididos aleatoriamente em dois grupos para que metade deles começasse pela fase de 14 dias e a outra metade pela fase de 7 dias. O seguinte protocolo foi utilizado:

Simulação de higiene oral (3 vezes ao dia): durante a escovação dental o dispositivo foi mantido em recipiente plástico sobre gaze umedecida. Os voluntários utilizaram dentifrício fluoretado (1.450 ppm) (Colgate total 12, Colgate-Palmolive, Brasil) e fizeram escovação de maneira usual, sem o dispositivo. Os dispositivos puderam ser somente escovados com água e sabão neutro, somente na face voltada para o palato (Sousa et al., 2009).

Simulação das refeições (8 vezes ao dia): era gotejada sobre cada espécime uma gota de solução de sacarose 20%, simulando os períodos de refeições, 8 vezes ao dia. Antes de o aparelho ser novamente inserido na boca, um período de 5 minutos era esperado para que a solução difundisse pelo biofilme.

Após a 1ª fase, os voluntários tiveram os dispositivos intra-orais recolhidos e os espécimes (n=60) foram então removidos dos dispositivos para a análise do conteúdo mineral (QLF™, VistaProof™ e microdureza transversal). Após o período de *wash out* de 7 dias, os mesmos voluntários utilizaram novamente o dispositivo, contendo agora outros espécimes preparados para a 2ª fase (n=60). Ao final desse período, todos os dispositivos foram então novamente recolhidos para as análises das alterações no conteúdo mineral ocorridas na lesão artificial de cárie (QLF™, VistaProof™ e microdureza transversal), como descrito a seguir.

4.2.5 Quantificação de fluorescência induzida pela luz - QLF™

O QLF™ foi utilizado para obtenção da imagem da superfície dos blocos, conforme descrito previamente no estudo *in vitro* (tópico 4.1.2) nos seguintes tempos experimentais:

T0: inicial (esmalte hígido)

T1: após a formação das lesões de cárie;

T2: após o desafio cariogênico *in situ* (7 e 14 dias)

As análises quanto à perda/ganho de fluorescência foi também realizada da mesma forma como anteriormente.

4.2.6 Quantificação de fluorescência pela luz - VistaProof™

O equipamento VistaProof™ foi utilizado conforme descrito no item 4.1.3 também para o estudo *in situ*, nas etapas experimentais descritas acima.

4.2.7 Análise de microdureza transversal

Para análise da microdureza transversal foi utilizado o mesmo protocolo descrito no item 4.1.4. Conforme as etapas do estudo, após o período de 7 (n=60) e 14 (n=60) dias de uso do aparelho intra-oral (T2) e posteriormente às mensurações com QLF™ e VistaProof™, os espécimes foram recolhidos para a mensuração da microdureza transversal. O cálculo de perda de dureza foi realizado conforme explicado anteriormente no item 4.1.4.

4.2.8 Análise estatística

Ao final deste estudo, bem como o estudo anterior, ao conteúdo mineral de cada espécime foi associado um valor inicial (T0), um valor após a formação de lesão (T1) e um valor após o desafio cariogênico *in situ*, após contato com o material restaurador (T2), tanto para o QLF™ quanto para a VistaProof™.

Com relação ao teste de dureza transversal, cada espécime obteve um valor inicial (T0), que foi obtido a partir das indentações na área hígida, e um valor após o desafio em contato com o material restaurador, por 7 ou 14 dias (T2).

Para a avaliação da normalidade e homogeneidade dos dados obtidos, foram utilizados os testes de Anderson-Darling e de Levene, respectivamente. Para a comparação entre os grupos e tempos de desafio para os valores de ΔQ , ΔF e dureza, foi utilizada análise de multinível, sendo os dois níveis avaliados o voluntário e o espécime.

Para os valores de ΔQ , como alguns grupos não apresentaram distribuição normal nem homogênea, utilizou-se uma abordagem de *bootstrap* (1000 replicações) para obter os estimadores.

Para os dados obtidos com o VistaProof™, como não houve distribuição normal, foi realizado para comparação entre os tempos o teste de Wilcoxon, e para comparação entre os grupos o teste Friedman (nos dois casos, os fatores de vinculação foram os voluntários), todos com Correção de Bonferroni. Foi considerado nível de significância de 5 %.

5 RESULTADOS

5.1 ESTUDO *IN VITRO*

Após teste de normalidade de Anderson-Darling e teste de homogeneidade de Levene, ANOVA de 1 fator foi utilizada para comparar os valores iniciais (T0) e posteriores a indução das lesões (T1) obtidos com o QLF™, $\Delta F(\%)$ e $\Delta Q(\%mm^2)$, e Kruskal Wallis foi utilizado para comparar os valores de escores obtidos com o VistaProof™ (Tabela 5.1 e 5.2), nos tempos citados. Não houve diferença estatística entre os valores obtidos, comparando-se os espécimes alocados para os diferentes grupos de materiais.

Tabela 5.1. Valores obtidos pelo método de fluorescência no momento T0 (esmalte hígido) - estudo *in vitro*

Grupos	ΔF Média (DP)	ΔQ Média (DP)	VistaProof™ Mediana (IQ)
7 dias			
Z350	6,448 (0,466)	0,041 (0,028)	1,00 (1,00 – 1,00)
Ketac Molar	6,838 (0,477)	0,092 (0,081)	1,00 (0,97 – 1,00)
Riva	6,867 (0,483)	0,086 (0,131)	0,95 (0,90 – 1,00)
Vitremer	6,461 (0,481)	0,044 (0,033)	1,0 (0,90 – 1,00)
Ketac Nano	5,722 (2,094)	0,123 (0,228)	0,95 (0,87 – 1,00)
Dyract	5,292 (2,836)	0,055 (0,085)	0,95 (0,87 - 1,00)
14 dias			
Z350	6,705 (0,441)	0,109 (0,079)	1,00 (0,90 – 1,00)
Ketac Molar	6,472 (0,363)	0,047 (0,048)	1,00 (0,97 – 1,00)
Riva	6,536 (0,642)	0,094 (0,090)	1,00 (0,97 – 1,00)
Vitremer	6,561 (0,641)	0,107 (0,112)	0,95 (0,90 – 1,00)
Ketac Nano	6,250 (0,332)	0,039 (0,052)	1,00 (0,90 – 1,00)
Dyract	6,666 (0,615)	0,114 (0,174)	1,00 (0,90 – 1,00)
Valor de p	0,141 *	0,994 *	0,098 **
* Calculado pela Análise de variância			
** Calculado pelo teste de Kruskal-Wallis			

Tabela 5.2. Valores obtidos pelo método de fluorescência no momento T1 (indução) - estudo *in vitro*

Grupos	ΔF Média (DP)	ΔQ Média (DP)	VistaProof TM Mediana (IQ)
7 dias			
Z350	8,450 (1,720)	4,243 (4,996)	1,00 (1,00 – 1,10)
Ketac Molar	9,641 (2,171)	6,022 (5,773)	1,00 (0,98 – 1,00)
Riva	9,830 (2,276)	8,239 (8,489)	1,00 (0,90 – 1,00)
Vitremer	9,440 (1,772)	7,216 (9,047)	1,00 (0,98 – 1,00)
Ketac Nano	9,555 (2,380)	5,380 (4,965)	1,00 (0,90 – 1,00)
Dyract	9,179 (2,763)	8,207 (12,069)	1,00 (0,90 – 1,00)
14 dias			
Z350	9,447 (2,123)	7,493 (9,954)	1,00 (1,00 – 1,00)
Ketac Molar	8,777 (1,186)	9,631 (14,088)	1,00 (1,00 – 1,00)
Riva	8,362 (1,030)	8,585 (11,655)	1,00 (1,00 – 1,00)
Vitremer	9,421 (2,132)	8,724 (10,651)	1,00 (0,90 – 1,00)
Ketac Nano	7,633 (0,942)	3,441 (5,030)	1,00 (1,00 – 1,00)
Dyract	9,823 (2,259)	6,227 (6,792)	1,00 (0,90 – 1,00)
Valor de p	0,739 *	0,716 *	0,148 **
* Calculado pela Análise de variância			
** Calculado pelo teste de Kruskal-Wallis			

Os resultados obtidos por meio do método de quantificação de fluorescência usando o QLFTM, ΔF (%) e ΔQ (%mm²), estão demonstrados nos gráficos blox-pot a seguir (Figuras 5.1 e 5.2).

0 = Z350 1 = Ketac Molar 2 = Riva 3 = Vitremer 4 = Ketac Nano 5 = Dyract

Figura 5.1 - Valores de perda de fluorescência verde ($\Delta Q\% \text{ mm}^2$) obtidos com o QLFTM, após o desafio cariogênico em contato com os diferentes grupos de materiais, para os dois períodos de duração – *in vitro*

Análise de variância de dois fatores demonstrou não haver diferença para o grau de fluorescência das lesões em contato com os diferentes materiais, após os dois períodos de desafio cariogênico (7 ou 14 dias), para os valores de $\Delta Q(\% \text{ mm}^2)$ ($p > 0,05$).

0 = Z350 1 = Ketac Molar 2 = Riva 3 = Vitremar 4 = Ketac Nano 5 = Dyract

Figura 5.2 - Valores de perda de fluorescência verde ($\Delta F\%$) obtidos com o QLF™, após o desafio cariogênico em contato com os diferentes grupos de materiais, para os dois períodos de duração – *in vitro*

O mesmo ocorreu para os valores de $\Delta F(\%)$, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos de materiais nos dois períodos de desafio cariogênico ($p > 0,05$).

Os resultados obtidos por meio do método de quantificação do conteúdo mineral por fluorescência usando o VistaProof™ estão demonstrados na tabela a seguir.

Tabela 5.3 - Mediana e intervalo interquartil para os valores de escores obtidos com o VistaProof™ para o período de desafio de 7 e 14 dias de desafio cariogênico – estudo *in vitro*.

Grupos	Mediana	1º quartil	3º quartil
7 dias			
Z350 *	1,10	1,00	1,23
Ketac Molar	1,00	0,95	1,00
Riva	1,00	0,90	1,00
Vitremer	1,00	0,90	1,00
Ketac Nano	1,00	0,90	1,00
Dyract	1,00	0,90	1,00
14 dias			
Z350	1,00	1,00	1,15
Ketac Molar	1,00	1,00	1,00
Riva	1,00	0,98	1,00
Vitremer	1,00	0,98	1,10
Ketac Nano	1,00	1,00	1,00
Dyract	1,00	1,00	1,00
* Diferença estatisticamente significativa comparado aos demais grupos pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$)			

O Teste de Kruskal Wallis demonstrou haver diferença entre a resina e os demais grupos ($p = 0,0026$) no período de 7 dias de desafio e demonstrou não haver diferença entre os grupos ($p = 0,177$), para o período de 14 dias de desafio. O teste de Wilcoxon demonstrou também não há ver diferença entre os tempos.

Para a avaliação dos valores de perda de dureza, um gráfico considerando no eixo y os valores de dureza e no eixo x, a distância das indentações à superfície de esmalte foi construído. Foi realizado então o cálculo da área sob a curva e subtraindo-se os valores (área hígida – área experimental), obteve-se o valor de perda dureza para cada espécime. Os resultados estão demonstrados na figura a seguir (Figura 5.3).

0 = Z350 1 = Ketac Molar 2 = Riva 3 = Vitremer 4 = Ketac Nano 5 = Dyract

Figura 5.3 - Perda de dureza transversal após o desafio cariogênico em contato com os diferentes grupos de materiais, para os dois períodos de duração – estudo *in vitro*. Letras diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa

Análise de variância de dois fatores demonstrou haver diferença entre os grupos, nos diferentes períodos de desafio cariogênico. Nos dois períodos de desafio, as lesões em contato com a resina composta tiveram maior perda de dureza do que aquelas em contato com todos os outros grupos de materiais restauradores. Considerando o tempo

de desafio de 7 dias, as lesões em contato com o Ketac Molar[®] apresentaram menor perda quando comparadas ao Dyract[®] e, considerando o período de 14 dias, esta perda foi também menor quando comparadas ao Dyract[®], ao Ketac Nano[®] e ao Vitremer[®].

5.2 ESTUDO *IN SITU*

Após teste de normalidade de Anderson-Darling e teste de homogeneidade de Levene, ANOVA de 1 fator foi utilizada para comparar os valores $\Delta F(\%)$ iniciais (T0) e posteriores a formação das lesões (T1) e Kruskal Wallis foi utilizado para comparar os valores $\Delta Q(\% \text{mm}^2)$ e os valores de escores obtidos com o VistaProof[™], nestes mesmos tempos. Novamente, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa para os espécimes alocados nos diferentes grupos de materiais, para os dois tempos.

Tabela 5.4 - Valores obtidos pelo método de fluorescência no momento T0 (esmalte hígido) - estudo *in situ*

Grupos	ΔF Média (DP)	ΔQ Média (DP)	VistaProof [™] Mediana (IQ)
7 dias			
Z350	6,39 (0,54)	0,063(0,059)	0,90 (0,90 - 1,00)
Ketac Molar	6,17(0,23)	0,022 (0,027)	1,00 (0,90 - 1,00)
Riva	6,35(0,28)	0,043 (0,041)	1,00(0,90 - 1,00)
Vitremer	6,27(0,30)	0,031 (0,032)	0,90(0,90 - 1,00)
Ketac Nano	6,23(0,20)	0,025 (0,031)	0,90(0,90 - 1,00)
Dyract	6,16(0,28)	0,027 (0,031)	0,95(0,90 - 1,00)
14 dias			
Z350	6,22 (0,46)	0,021 (0,021)	1,00(0,90 - 1,00)
Ketac Molar	6,15(0,35)	0,029 (0,022)	0,95(0,90 - 1,00)
Riva	6,36(0,29)	0,044(0,033)	1,00 (0,90 - 1,00)
Vitremer	6,31(0,33)	0,045 (0,063)	0,90 (0,90 - 1,03)
Ketac Nano	6,33(0,30)	0,051 (0,040)	0,95(0,90 - 1,00)
Dyract	6,28(0,20)	0,661 (1,883)	0,90(0,90 - 1,00)
Valor de p	0,493*	0,423**	0,594**
* Calculado pela Análise de variância			
** Calculado pelo teste de Kruskal-Wallis			

Tabela 5.5 - Valores obtidos pelo método de fluorescência no momento T1 (indução) - estudo *in situ*

Grupos	ΔF Média (DP)	ΔQ Média (DP)	VistaProof™ Mediana (IQ)
7 dias			
Z350	10,6 (2,6)	11,5 (11,8)	1,00 (0,900 - 1,000)
KetacMolar	9,8 (2,2)	8,4 (6,2)	1,00 (0,975 - 1,000)
Riva	11,5 (2,1)	13,1 (8,4)	1,00 (0,900 - 1,025)
Vitremer	11,3 (4,3)	11,6 (7,1)	1,00 (0,900 - 1,000)
Ketac Nano	11,4 (2,2)	11,6 (6,6)	1,00 (0,900 - 1,025)
Dyract	11,3 (3,1)	15,9 (23,5)	1,000 (1,000 - 1,000)
14 dias			
Z350	10,1 (1,8)	7,3 (7,0)	1,00(1,000 - 1,000)
KetacMolar	10,6 (2,4)	9,5 (6,2)	1,00 (0,900 - 1,025)
Riva	9,9 (1,6)	8,8 (8,6)	1,00(0,975 - 1,025)
Vitremer	10,1 (2,3)	11,1 (7,2)	1,00 (0,900 - 1,025)
Ketac Nano	12,5 (2,2)	12,1 (3,2)	1,00 (0,900 - 1,025)
Dyract	13,4 (4,1)	27,6 (24,3)	0,95 (0,900 - 1,000)
Valor de p	0,073*	0,326**	0,985**
* Calculado pela Análise de variância			
** Calculado pelo teste de Kruskal-Wallis			

Os resultados obtidos por meio do método de quantificação do conteúdo mineral por fluorescência usando o QLF™, ΔF (%) e $\Delta Q(\%mm^2)$ para o estudo *in situ*, estão demonstrados nos gráficos *box-pot* a seguir (Figuras 5.4 e 5.5).

0 = Z350 1 = KetacMolar 2 = Riva 3 = Vitremer 4 = Ketac Nano 5 = Dyract

Figura 5.4 - Valores de perda de fluorescência verde ($\Delta Q\% \text{ mm}^2$) obtidos com o QLF™, após o desafio cariogênico em contato com os diferentes grupos de materiais, para os dois períodos de duração – estudo *in situ*

Para o período de 7 dias de desafio, o material Ketac Nano® mostrou-se semelhante aos outros materiais, porém a análise de multinível demonstrou haver diferença estatisticamente significativa para os materiais Ketac Molar®, Riva®, Vitremer® e Dyract® em comparação à resina composta. Para o desafio de 14 dias, resina e Dyract® tiveram comportamento semelhante e inferior aos demais, que não diferiram entre si.

0 = Z350 1 = KetacMolar 2 = Riva 3 = Vitremer 4 = Ketac Nano 5 = Dyract

Figura 5.5 - Valores de perda de fluorescência verde ($\Delta F\%$) obtidos com o QLFTM, após o desafio cariogênico em contato com os diferentes grupos de materiais, para os dois períodos de duração – estudo *in situ*

A análise de multinível demonstrou, para o período de 7 dias de desafio, haver diferença entre a resina composta e os demais materiais, demonstrando esta pior desempenho. Ketac Nano[®] teve desempenho melhor do que resina, no entanto pior do que os materiais Ketac Molar[®] e Riva[®]. Para o período de 14 dias, a resina composta modificada por poliácidos Dyract[®] teve desempenho semelhante à resina e ao Ketac Nano[®] e pior que os demais materiais.

Tabela 5.6 - Mediana e intervalo interquartil para os valores de escores obtidos com o VistaProof™ para o período de desafio de 7 e 14 dias de desafio cariogênico – estudo *in situ*

Grupos	Mediana	1º quartil	3º quartil
7 dias			
Z350	1,000	0,975	1,100
Ketac Molar	1,000	1,000	1,025
Riva	1,000	0,975	1,100
Vitremer	1,000	0,900	1,100
Ketac Nano	1,050	1,000	1,100
Dyract	1,000	1,000	1,000
14 dias			
Z350	1,000	1,000	1,200
Ketac Molar	1,000	1,000	1,025
Riva	1,050	1,000	1,125
Vitremer	1,000	0,900	1,000
Ketac Nano	1,050	0,975	1,125
Dyract	1,000	0,975	1,025

O teste de Friedman demonstrou não haver diferença entre os grupos experimentais ($p = 0,686$), para o período de 7 dias de desafio. O mesmo teste demonstrou não haver diferença entre os grupos também para o período de desafio de 14 dias ($p = 0,256$). O teste de Wilcoxon demonstrou também não haver diferença entre os tempos ($p=0,366$).

0 = Z350 1 = KetacMolar 2 = Riva 3 = Vitremer 4 = Ketac Nano 5 = Dyract

Figura 5.6 - Perda de dureza transversal após o desafio cariogênico em contato com os diferentes grupos de materiais, para os dois períodos de duração – estudo *in situ*. Letras diferentes demonstram diferença estatisticamente significativa

Análise multinível demonstrou haver diferença entre os grupos em ambos os tempos experimentais. No período de desafio de 7 dias, os cimentos de ionômero de vidro de alta viscosidade tiveram o melhor desempenho com relação a proteção das lesões com que estavam em contato frente ao desafio cariogênico. A resina composta teve o pior desempenho e os CIVs modificados por resina e a resina composta modificada por poliácidos tiveram desempenho intermediário. No período de 14 dias, o desempenho dos materiais foi semelhante ao de 7 dias, porém o Material Ketac Nano® comportou-se de forma semelhante à resina.

6 DISCUSSÃO

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diversos materiais que liberam flúor sobre o dente adjacente em contato, visando a auxiliar a escolha quando utilizados em restaurações proximais. Desta forma, apenas materiais que tenham este tipo de indicação foram incluídos no estudo. Com relação ao preparo dos espécimes dentais, obtidos a partir da face vestibular de caninos decíduos, optou-se por manter sua superfície sem preparo, de forma a preservar sua convexidade, simulando de maneira mais propícia o ponto de contato entre superfícies proximais. A ausência de preparo, entretanto, pode ter dificultado a padronização do posicionamento dos espécimes, pela própria diferença encontrada na curvatura de cada um deles. Este fato pode ter favorecido a falta de homogeneidade observada nos resultados obtidos, além do fato de serem dentes humanos e, portanto, submetidos previamente a diferentes regimes de exposição ao flúor. Para o estudo *in situ*, acrescenta-se também a variabilidade inter-voluntários. O método utilizado para a formação das lesões de cárie em ambos os estudos, ciclagem de pH, foi escolhido por ter sido descrito como um método conveniente quando o objetivo é analisar a eficácia de produtos que contenham flúor (Vieira et al., 2005; Magalhães et al., 2009). Tanto a duração dos ciclos como o valor do pH das soluções foram determinados a partir de estudos piloto prévios.

Além do objetivo principal, foram também testados dois métodos de avaliação do conteúdo mineral, baseados no princípio de auto-fluorescência do esmalte, o QLF™ e o VistaProof™. Estes métodos têm como grande vantagem o fato de não serem destrutivos, o que possibilita o monitoramento das alterações minerais numa mesma unidade experimental, bem como seu uso em estudos clínicos longitudinais. A análise de microdureza transversal foi utilizada por ser um método confiável e bastante utilizado para avaliação de perda/ganho mineral em lesões de cárie (Magalhães et al., 2009).

De maneira geral, os resultados obtidos pelo teste de dureza, tanto *in vitro* como *in situ*, mostram que os diferentes materiais que liberam flúor são capazes de prevenir, em maior ou menor extensão, a progressão das lesões incipientes em esmalte com as quais estão em contato proximal. O cimento de ionômero de vidro de alta viscosidade, seja na forma pó e líquido ou encapsulado, apresentou melhor desempenho e os demais materiais demonstraram desempenho intermediário entre os cimentos de ionômero de

vidro puros e a resina composta. Alguns estudos encontraram melhores resultados para cimentos na forma encapsulada, o que foi atribuído a melhor proporção entre pó e líquido e menor influência do operador (Dowling; Fleming, 2009; Sousa et al., 2009; Salas et al., 2011). Neste estudo, Ketac Molar[®] (pó/líquido) e Riva self cure[®] (encapsulado) apresentaram desempenhos semelhantes. O tempo de desafio cariogênico, 7 ou 14 dias, exerceu pouca influência sobre o desempenho de cada material, principalmente para os cimentos ionoméricos puros. Possivelmente, a liberação de flúor para estes materiais diminui apenas moderadamente 7 após dias da manipulação. Apenas para o material Ketac Nano[®], o desempenho igualou-se ao da resina composta, o que ocorreu no estudo *in situ* no período de 14 dias de desafio cariogênico. Este fato pode estar associado a sua relativa baixa capacidade de servir como reservatório de flúor e sua semelhança, tanto com relação à composição quanto ao modo de utilização, com as resina compostas.

Os métodos de fluorescência, de maneira geral, não apresentaram boa performance para avaliação do conteúdo mineral. O aparelho QLFTM mostrou-se satisfatório apenas para a análise *in situ*, sendo que na análise por este método, os diferentes cimentos ionoméricos mostraram-se similares com relação a proteção da superfície adjacente e apenas a resina composta modificada por poliácidos se assemelhou a resina composta.

De acordo com Wiegand et al. (2007), a capacidade de liberação de flúor de cada material está diretamente relacionada à sua composição e à sua quantidade intrínseca de flúor. Tanto os cimentos de ionômero de vidro convencionais quanto os modificados por resina e as resinas compostas modificadas por poliácidos parecem apresentar dois mecanismos de liberação de flúor ao longo do tempo. O primeiro deles envolve a rápida dissolução da camada mais superficial do material, enquanto o outro tende a ser mais gradual e envolve a difusão contínua dos íons através do corpo do material. Os cimentos convencionais contam também com uma alta liberação nas primeiras 24 horas, provenientes das partículas de vidro do material ao reagirem com o ácido poliacrílico durante a reação de presa. Esta maior liberação inicial ocorre também para os cimentos modificados por resina, porém de forma mais lenta, devido a menor quantidade de água pela presença do HEMA. É sugerido, no entanto, que este tipo de material possui potencial para liberação de flúor semelhante à de cimentos convencionais, embora estejam mais sujeitos a variações influenciadas pela sua própria composição, como a quantidade de resina usada para a reação de fotopolimerização (Wiegand et al., 2007).

Uma das possíveis explicações para a menor liberação de flúor das resinas compostas modificadas por poliácidos parece ser o fato de que os íons flúor, após a presa por fotopolimerização, não encontrarem-se livres, mas sim presos à matriz polimérica que constitui o material. Desta forma, as resinas compostas modificadas por poliácidos, pelo menos em um momento inicial, comportam-se de forma muito semelhante às resinas compostas. Com o tempo, este material absorve água do meio, permitindo que a reação ácido-base, responsável pela liberação de flúor, ocorra lentamente entre os grupos carboxílicos e os íons presentes nas partículas de vidro, o que leva aproximadamente quatro semanas atingir o ponto de saturação (Eliades et al., 1998). Em longo prazo, entretanto, as resinas compostas modificadas por poliácidos também parecem liberar menos flúor do que cimentos de ionômeros de vidro (Karantakis et al., 2000; Vermeersch et al., 2001), o que pode ser atribuído à sua matriz mais coesa e/ou menos hidrofílica pela predominância do componente resinoso, quando comparada aos cimentos. No entanto, foi também demonstrado que, embora a liberação inicial de flúor pelas resinas compostas modificadas por poliácidos seja menor, após o período de um ano esta pode se tornar equivalente àquela que ocorre com cimentos de ionômero de vidro (Asmussen; Peutzfeldt, 2002). O presente estudo levou em consideração apenas o potencial de proteção do flúor liberado na fase inicial (7 dias) e em curto prazo (14 dias) dos materiais restauradores, uma vez que objetivou-se testar sua capacidade terapêutica e não somente preventiva com relação às lesões em esmalte próximas a eles. Foi demonstrado que a remineralização de lesões em esmalte na presença do flúor ocorre provavelmente em curto prazo, período em que a lesão está mais disponível para receber minerais (Lynch et al., 2006).

Embora na maioria dos estudos o potencial de liberação de flúor seja testado em meios como a saliva artificial ou água deionizada, o objetivo deste estudo foi testar o desempenho dos materiais em condições próximas às existentes na cavidade bucal. É sabido que condições ácidas potencializam tanto a liberação de flúor de materiais restauradores (Nicholson; Czarnecka, 2004; Moreau; Xu, 2010) quanto a incorporação de fluorapatita pelo esmalte dental (Cury; Tenuta, 2009), o que pode ter favorecido o desempenho dos materiais neste estudo. Esta relação é reconhecidamente importante, pois a queda do pH devido à atividade cariogênica é justamente o momento em que há maior necessidade da proteção promovida pelo flúor. A maior liberação de flúor em condições ácidas é conferida à maior da dissolução do material, o que pode favorecer ainda mais os cimentos de ionômero de vidro, uma vez que resinas compostas

modificadas por poliácidos são mais resistentes ao desgaste (Moreau; Xu, 2010). Moreau e Xu (2010) compararam alguns cimentos de ionômero de vidro modificado por resina, entre eles o Vitremer[®] e o Ketac Nano[®], e resinas compostas modificadas por poliácidos e compósitos quanto às propriedades mecânicas e a liberação de flúor em meio ácido. Após imersão, o pH exerceu pouca influência sobre propriedades mecânicas como módulo de elasticidade e resistência à flexão, no entanto a liberação de flúor aumentou drasticamente para todos os materiais conforme o pH da solução diminuía. Isto ocorre especialmente nos primeiros 14 dias, voltando a níveis semelhantes de liberação em meios com diferentes valores de pH, após este período. Vitremer[®] demonstrou maior potencial de liberação inicial quando comparado ao Ketac Nano[®], o que foi explicado por ser sua matriz ligeiramente mais hidrofílica (Moreau; Xu, 2010). Provavelmente, o mesmo ocorreu no presente estudo, uma vez que este material demonstrou potencial de proteção das lesões ligeiramente superior em relação ao Ketac Nano[®]. Tanto no estudo *in vitro* quanto no estudo *in situ*, houve exposição ao meio ácido, no entanto, as diferenças com relação à natureza de cada desafio cariogênico podem ter determinado algumas das diferenças observadas para o desempenho de cada material nos dois diferentes estudos. Para o estudo *in vitro*, a solução desmineralizante na qual os espécimes eram imersos por 8 horas diárias apresentava pH igual a 4,5, sendo posteriormente colocados em solução remineralizante com pH igual a 7. No estudo *in situ*, uma vez que o desafio se dá por meio do contato com a solução de sacarose no ambiente bucal, sendo também voluntário-dependente, tais valores são dificilmente detectados, havendo a possibilidade de valores de pH menores do que 4,5 terem sido atingidos, o que auxiliaria na melhor performance dos cimentos de ionômero de vidro puros, como realmente ocorreu (Figura 5.6). Ambas as formas de desafio cariogênico já foram amplamente relatadas na literatura para simular o ambiente bucal (Koulourides et al., 1974; Itthagarunet al., 2000; Higham et al., 2005; Ab-Ghani et al., 2007), sendo a escolha de cada uma atribuída aos objetivos de cada estudo.

O cimento de ionômero modificado por resina nanoparticulado (Ketac Nano[®]) apresentou desempenho semelhante ao cimento modificado por resina convencional (Vitremer[®]), pelo menos no menor período de desafio cariogênico (Figuras 5.3 e 5.6). Estudos demonstram que este material apresenta menor rugosidade superficial quando comparado aos cimentos de ionômero convencionais (de Fúcio et al., 2012), porém maior quando comparado à resinas nanoparticuladas (de Paula et al., 2011). A maior rugosidade deve ser um fator considerado na escolha do material clinicamente quando

objetiva-se a remineralização de lesões incipientes, uma vez que proporciona menor acúmulo de biofilme. Clinicamente, entretanto, o cimento nanoparticulado parece estar mais sujeito a desadaptação marginal e manchamento do que cimentos modificados por resina convencionais ou resina composta convencional (Perdigão et al., 2012).

A capacidade de materiais ionoméricos de servirem como reservatório de flúor é também uma propriedade que pode influenciar seu potencial de inibir a progressão de lesões de cárie. Esta propriedade está diretamente relacionada à composição e permeabilidade do material, sendo que aplicações tópicas de componentes fluoretados podem favorecê-la (Wiegand et al., 2007). Os cimentos de ionômero de vidro podem agir significativamente melhor como reservatórios de flúor do que resinas compostas modificadas por poliácidos ou compósitos fluoretados (Attar; Onen, 2002; Preston et al., 2003). Este fato é atribuído a maior porosidade do material, que permite a difusão passiva de água e íons com o meio externo. Desta forma, quanto mais permeável o material, maior a capacidade de absorção de íons em sua matriz para serem liberados posteriormente ao longo do tempo. Por este motivo, a moderada liberação de flúor por compósitos e resinas compostas modificadas por poliácidos após a exposição tópica é explicada pela retenção apenas superficial de fluoretos (Attar; Onen, 2002). É sugerido que materiais com maior capacidade de liberação inicial tenham também maior capacidade de armazenamento de flúor, ainda que os valores iniciais não sejam novamente alcançados (Gao; Smales, 2001; Attar; Turgut, 2003). É provável que a presença do flúor tópico na forma de dentifrício fluoretado utilizado pelos voluntários no estudo *in situ* tenha interferido no desempenho dos materiais restauradores. Isto pode ser estimado uma vez que no estudo *in vitro*, os materiais não demonstraram diferenças quanto ao seu desempenho pelos métodos de fluorescência, mas somente pelo método de dureza. Neste último, os diferentes materiais que liberam flúor apresentaram desempenho relativamente semelhante (Figura 5.3). No estudo *in situ*, o teste de microdureza transversal pôde revelar diferença estatisticamente significativa entre os cimentos de ionômero puros e os modificados por resina ou resinas compostas modificadas por poliácidos (Figura 5.6). Esta diferença no desempenho dos grupos de materiais entre os dois estudos pode ter sido influenciada pela presença do flúor tópico no estudo *in situ*, uma vez que os cimentos puros apresentam melhor capacidade de armazenamento e posterior liberação. Attin et al. (1999) demonstraram que o contato com dentifrício fluoretado (1.250 ppm) diluído em água por cinco minutos foi capaz de aumentar a liberação de flúor por cimentos de ionômero de vidro puros mas não de

resinas compostas modificadas por poliácidos, o que corrobora com o presente estudo. Embora no ambiente bucal a presença de saliva, biofilme e película adquirida possam influenciar negativamente a liberação de flúor, não foi observada diferença para esta propriedade em espécimes de ionômero de vidro mantidos sob envelhecimento intra ou extra-bucal (Damen et al., 1999) e o mesmo parece não ter ocorrido no nosso estudo.

Embora alguns estudos demonstrem que o uso de materiais restauradores que contenham flúor seja capaz de elevar o nível de flúor salivar por algum tempo, o efeito anticariogênico destes materiais parece estar mais relacionado à presença deste no biofilme próximo à lesão do que sua presença na saliva (Wiegand et al., 2007; Cenci et al., 2008). Embora os estudos demonstrem níveis variados de flúor no biofilme próximo de cimentos de ionômero de vidro (Forss et al., 1991; Forss et al., 1995), Cury et al. (2009), afirmam que pequenas concentrações são suficientes no biofilme ou na saliva para que o processo de des-remineralização seja favorecido por ele.

O efeito carioestático do flúor liberado de materiais restauradores está associado a dois principais fatores, sendo um deles a incorporação de flúor na estrutura do esmalte formando a fluorapatita ou fluor-hidroxiapatita, menos solúvel que a hidroxiapatita, e outro a formação de compostos de fluoreto de cálcio no fluído da placa sobre o esmalte, que torna-se então um reservatório de flúor importante durante a queda de pH, quando facilita a reprecipitação de minerais e previne maiores perdas (Ahiropoulos et al., 2008; Cury; Tenuta, 2009; Chatzistavrou et al., 2010). Apesar de já ter sido demonstrado que o flúor pode inibir o metabolismo de bactérias, seu efeito antimicrobiano para a prevenção da cárie pode ser considerado insignificante perto de sua direta relação com os eventos ligados às trocas com tecidos duros (Sousa et al., 2009). Com relação ao esmalte restaurado por materiais que liberam flúor, sabe-se que, para cimentos convencionais e modificados por resina, a incorporação de flúor é significativamente maior do que com resinas compostas (Eronat et al., 1999; Sousa et al. 2009; Chatzistavrou et al., 2010) e a incorporação promovida pela resina composta modificadas por poliácidos parece ser menor do que a por cimentos modificados por resina (Ahiropoulos et al., 2008). Sob desafio cariogênico *in situ*, a incorporação de flúor pelo esmalte ao redor de cimentos de ionômero de vidro chegou a ser duas vezes maior e a ocorrência de desmineralização duas vezes menor, após vinte e oito dias, quando comparada ao esmalte restaurado com compósitos não fluoretados (Benelli et al., 1993). A presença de fenda entre o material restaurador e o esmalte pode interferir com o seu potencial preventivo (Papagiannoulis et al., 2002), entretanto, dependendo de

sua espessura, ela parece não prejudica-lo (Cenci et al., 2008). Teoricamente, a existência de espaço entre material restaurador e esmalte proporciona o transporte de íons através do fluido que o preenche, elevando sua concentração próxima ao esmalte e criando um grande potencial de difusão (Wiegand et al., 2007). No caso deste estudo, os materiais restauradores não estavam diretamente ligados ao esmalte dental, mas sim justapostos a ele. Essa proximidade foi suficiente para que houvesse proteção da estrutura dental em contato pelo flúor liberado, o que demonstra que o material restaurador não precisa estar quimicamente ligado a estrutura dental para protegê-la. De fato, talvez a o flúor incorporado à estrutura do esmalte seja menos importante na formação ou progressão da lesão do que aquele que permanece no fluido do biofilme sobre a lesão. De acordo com Wiegand et al. (2007), a concentração de flúor sob o esmalte dental necessária para prevenir o desenvolvimento de lesões é de 5 a 80 ppm e cimentos de ionômero de vidro convencionais e modificados por resina podem liberar até 100 ppm entre 24 e 48 horas após a manipulação. De acordo com estudos anteriores, a inibição da desmineralização do esmalte pode ocorrer até uma distância de 7 mm de materiais restauradores que liberam flúor, sendo que a perda mineral pode ser inibida no esmalte em até 80% quando esta distância é de 0,22 mm e em 37% quando dista 7 mm do material (Tantbirojn et al., 1997). Glasspoole et al. (2001) estudaram por microscopia de luz polarizada a capacidade de proteger o esmalte contra desmineralização de acordo com distâncias que iam de 100 a 800 µm a partir da margem cimentos de ionômero de vidro. Embora o efeito protetor tenha sido significativo em todas as distâncias, maior proteção foi observada na vizinhança do material e a formação das lesões era menor quanto maior a quantidade de flúor liberada pelos materiais.

Baseando-se nestes estudos anteriores, porém diferentemente deles, o presente estudo teve como objetivo avaliar a influência do flúor liberado de materiais restauradores sobre a lesão de cárie em esmalte de dentes em contato proximal com estes materiais. Alguns estudos já haviam comprovado, individualmente, o potencial de diferentes materiais restauradores que liberam flúor em proteger o esmalte em contato direto por meio de restaurações interproximais. Segura et al. (1997) avaliaram a remineralização *in vitro* de lesões em esmalte em contato com restaurações confeccionadas com cimento de ionômero de vidro sob resina composta (“sanduiche”), ionômero de viro reforçado por metais e amálgama. O grupo das lesões em contato com as restaurações em ionômero/resina demonstrou significativamente menor porosidade

do que os outros dois grupos após 14 dias em saliva artificial, sob análise de microscopia de luz polarizada. Jang et al. (2001) testaram o efeito do cimento de ionômero de vidro puro e do modificado por resina sobre lesões com as quais estavam em contato proximal, não observando diferença no potencial anticariogênico destes dois materiais, diferentemente deste estudo. As análises, entretanto, foram feitas após os espécimes terem permanecido em saliva artificial e não sob desafio cariogênico. Dois estudos avaliaram o efeito do cimento de ionômero de vidro e da resina composta contendo flúor na remineralização de lesões em esmalte em contato proximal, sendo os espécimes submetidos posteriormente a desafio cariogênico *in vitro* (Bynum; Donly; 1999) ou *in situ* (Donly et al., 1999). Nestes estudos, ambos os materiais fluoretados foram capazes de evitar a progressão das lesões. Entretanto, foi também avaliado o efeito do uso de dentifrício fluoretado, constatando-se que seu uso foi suficiente para aumentar a remineralização e diminuir a desmineralização das lesões, independente do material com os quais estavam em contato proximal, incluindo os grupos controle (amálgama ou resina composta convencional). Nosso estudo *in situ* também considerou o uso de dentifrício fluoretado, no entanto, comparando-se os demais grupos com o grupo controle (resina composta convencional), houve diferença quanto ao conteúdo mineral, tendo todos eles desempenho superior (Figuras 5.4, 5.5 e 5.6). Desta forma, a associação entre a presença do material restaurador e dentifrício fluoretado mostraram-se superiores do que apenas o uso do dentifrício. Contrastando com nosso estudo, foi demonstrado também que o contato do cimento de ionômero de vidro modificado por resina tem praticamente o mesmo efeito remineralizador sobre lesões de cárie proximais em esmalte do que o uso de dentifrício fluoretado duas vezes por dia (Marinelli et al., 1997).

Semelhante ao presente estudo, o estudo *in situ* de Lennon et al. (2007) demonstrou que a resina composta modificada por poliácidos tem efeito preventivo sobre a superfície de esmalte em contato proximal quando comparado à resina composta. Este, entretanto, testou apenas a resina composta modificada por poliácidos e não avaliou o uso de dentifrício fluoretado ou o efeito sobre lesões incipientes, apenas sobre a superfície hígida.

Embora poucos estudos clínicos tenham avaliado o efeito de materiais que liberam flúor sobre a superfície proximal do dente adjacente, todos eles obtiveram resultados favoráveis. Trairatvorakul et al. (2011) obtiveram bom desempenho ao avaliarem a progressão de lesões em esmalte em superfícies proximais sobre as quais o cimento de

ionômero de vidro foi utilizado como selante, comparando com superfícies não seladas, utilizando a metodologia *splith-mouth*. Nestas superfícies, as lesões estacionaram ou até regrediram, quando comparadas com as superfícies não tratadas, de acordo com avaliação radiográfica após seis e doze meses. Este estudo, entretanto, avaliou apenas o efeito do ionômero de vidro sobre a lesão incipiente selada, mas não a superfície do dente adjacente.

Três outros estudos clínicos com sete e oito anos de acompanhamento avaliaram a longevidade e o efeito carioestático sobre as superfícies restauradas e dentes adjacentes ao cimento de ionômero de vidro convencional, cimento modificado por resina e da resina composta modificada por poliácidos quando utilizado em restaurações proximais em dentes decíduos (Qvist et al., 2004a; Qvist et al., 2004b; Qvist et al., 2004c). Tanto o ionômero convencional quanto os modificados por resina e as resinas compostas modificadas por poliácidos obtiveram bom desempenho em proteger o dente adjacente, no entanto, somente o ionômero modificado por resina e o resinas compostas modificadas por poliácidos apresentaram longevidade satisfatória, se comparados ao amálgama (Qvist et al., 2004a, Qvist et al., 2004b; Qvist et al., 2004c). De acordo com os autores, embora o cimento de ionômero convencional reduza a progressão de lesões tanto em superfícies adjacentes quanto em aquelas em contato proximal, ele não pode servir como um substituto para o amálgama nesta conformação de cavidade, devido ao grande número de falhas (Qvist et al., 2004a). De acordo com recente revisão sistemática, no entanto, há evidências que suportam uso do cimento de ionômero de vidro de alta viscosidade, por meio da técnica do ART, para cavidades ocluso-proximais em dentes decíduos, demonstrando que com relação à longevidade, formação de lesões secundárias e alterações pulpares, sua utilização é tão indicada quanto a resina composta ou o amálgama (Raggio et al., 2012).

Embora o objetivo deste estudo tenha sido a investigação de diferentes materiais quanto ao seu potencial de proteção sobre o dente adjacente quando utilizados em restaurações proximais, clinicamente a escolha deve também ser baseada em suas propriedades mecânicas. Qvist et al. (2010) afirmam que a conformação de cavidade nas quais os materiais restauradores apresentam maior longevidade em dentes decíduos são as oclusais, enquanto que as que apresentam pior desempenho são as restaurações ocluso-proximais. Além disso, ressalta que o tipo de material pode influenciar este desempenho mecânico, sendo que resinas compostas modificadas por poliácidos e cimentos de ionômero modificados por resina são semelhantes ao amálgama e todos

eles são superiores ao cimento de ionômero de vidro. Entretanto, esta avaliação não leva em conta os cimentos de ionômero de vidro de alta viscosidade, desenvolvido para suportar maiores esforços mecânicos e indicado para o ART (van't Hof et al., 2006). Este tipo de material vem demonstrando bons resultados se comparados ao cimento de ionômero tradicional, embora o desempenho continue sendo notadamente maior em superfícies oclusais (Frencken et al., 2004; van't Hof et al., 2006). Para restaurações proximais, a taxa de sobrevivência é de aproximadamente 60% após 72 meses (Scholtanus; Huysmans, 2007). De acordo com nosso estudo, outros materiais que liberam flúor, como resinas compostas modificadas por poliácidos e cimentos de ionômero modificados por resina, podem ser indicados por também demonstrarem tal efeito protetor, embora inferior aos cimentos puros. Devemos notar, entretanto, que não há evidência para a superioridade de qualquer material restaurador para restaurações ocluso-proximais em dentes decíduos (Yengopal et al., 2009, Raggio et al., 2012).

Os métodos de fluorescência, de maneira geral, não apresentaram bom desempenho para avaliação das variações no conteúdo mineral neste estudo, comparando-se com a análise de microdureza transversal. A câmera de fluorescência VistaProof™, só foi capaz de detectar diferenças entre o controle e os demais grupos após o desafio de 7 dias, no estudo *in vitro*, contrastando com outros estudos nos quais apresentou bom desempenho (Rodrigues et al., 2008; De Benedetto et al. 2011; Matos et al. 2011; Souza et al., 2013). O QLF™ não foi capaz de detectar diferença entre os grupos no estudo *in vitro*, diferentemente de outros estudos (Pretty et al., 2002; Pretty et al., 2003, Lipert et al., 2011), embora tenha sido no estudo *in situ*. Este fato sugere que condições associadas à presença do biofilme possam ter exercido algum tipo de influência nos resultados, mesmo não estando a fluorescência verde associada diretamente à metabólitos bacterianos. A correlação entre os resultados obtidos por meio do QLF™ e de microrradiografia transversal já foi demonstrada quando a desmineralização do esmalte é promovida na presença de biofilme, *in vitro* ou *in situ* (Gmür et al., 2006). Entretanto, nenhuma revisão sistemática evidenciou ainda a confiabilidade dos métodos de fluorescência para avaliação de alterações minerais em lesões de cárie.

De qualquer forma, embora sigam uma mesma tendência daqueles obtidos por meio do teste de dureza, os resultados obtidos no nosso estudo *in situ* não confirmam as diferenças entre todos os materiais ionoméricos quanto ao seu potencial de proteção. Provavelmente, as alterações minerais tenham sido sutis para serem detectadas por tais

métodos. Sendo assim, grande parte dos estudos sugere que os métodos de fluorescência como meio de diagnóstico devem ser associados a outros métodos (Diniz et al., 2012) e que estão sujeitos à vários fatores de confundimento (Heinrich-Weltzien et al., 2005). Embora os métodos de fluorescência visem tornar o diagnóstico mais objetivo e quantitativo, um dos fatores envolvidos na análise pelo programa do QLF™, a delimitação da área de análise, é feita pelo examinador e pode estar sujeita a variações intra e inter-examinadores, o que acaba por limitar a avaliação.

Baseando-se em estudos anteriores, o presente estudo teve como objetivo avaliar a influência do flúor liberado de materiais restauradores sobre lesões em esmalte de dentes decíduos em contato proximal com tais materiais. Alguns estudos já haviam avaliado o potencial de materiais restauradores com flúor de proteger o esmalte em contato direto por meio de restaurações interproximais, no entanto, nem todos levam em consideração sua ação terapêutica sobre lesões incipientes, mas sim preventiva. Quando existe uma lesão envolvendo a face proximal, é bastante improvável que a face adjacente esteja totalmente hígida. Por esse motivo, entendemos que o estudo do efeito do flúor sobre lesões em esmalte, e não sobre o esmalte sadio, é mais interessante do ponto de vista de sua aplicabilidade clínica. Outro fator não avaliado na maioria dos estudos é o desempenho dos materiais sob desafio cariogênico, circunstância mais provável clinicamente. A grande maioria deles utiliza também dentes permanentes ou bovinos, apenas um estudo considera avalia o efeito sobre dentes decíduos (Donly et al., 1999).

7 CONCLUSÕES

Materiais que liberam flúor são capazes de evitar a progressão de lesões de cárie em esmalte quando em contato proximal com as mesmas, no entanto cimentos de ionômero de vidro de alta viscosidade demonstram-se mais eficientes para este fim. O tempo de desafio cariogênico (7 ou 14 dias) exerce pouca influência no potencial de proteção destes materiais. Os métodos baseados na fluorescência do esmalte (QLF™ e VistaProof™), não se demonstraram suficientemente confiáveis para a detecção de tais alterações minerais nos presentes estudos *in vitro* e *in situ*.

REFERÊNCIAS¹

Ab-Ghani Z, Ngo H, McIntyre J. Effect of remineralization/demineralization cycles on mineral profiles of Fuji IX Fast *in vitro* using electron probe microanalysis. Aust Dent J. 2007 Dec;52(4):276-81.

Ahiropoulos V, Helvatjoglu-Antoniades M, Papadogiannis Y. *In vitro* fluoride uptake by bovine enamel from aesthetic restorative materials. Int J Paediatr Dent. 2008 Jul;18(4):291-9.

Asmussen E, Peutzfeldt A. Long-term fluoride release from a glass ionomer cement, a compomer, and from experimental resin composites. Acta Odontol Scand. 2002 Mar;60(2):93-7.

Attar N, Onen A. Fluoride release and uptake characteristics of aesthetic restorative materials. J Oral Rehabil. 2002 Aug;29(8):791-8.

Attar N, Turgut MD. Fluoride release and uptake capacities of fluoride-releasing restorative materials. Oper Dent. 2003 Jul-Aug;28(4):395-402.

Attin T, Buchalla W, Siewert C, Hellwig E. Fluoride release/uptake of polyacid-modified resin composites (compomers) in neutral and acidic buffer solutions. J Oral Rehabil. 1999 May;26(5):388-93.

Benelli EM, Serra MC, Rodrigues AL Jr, Cury JA. *In situ* anticariogenic potential of glass ionomer cement. Caries Res. 1993;27(4):280-4.

Bonifácio CC, Kleverlaan CJ, Raggio DP, Werner A, de Carvalho RC, van Amerongen WE. Physical-mechanical properties of glass ionomer cements indicated for atraumatic restorative treatment. Aust Dent J. 2009 Sep;54(3):233-7.

Braga MM, Mendes FM, Ekstrand KR. Detection activity assessment and diagnosis of dental caries lesions. Dent Clin North Am. 2010 Jul;54(3):479-93.

Buchalla W. Comparative fluorescence spectroscopy shows differences in non cavitated enamel lesions. Caries Res. 2005 Mar-Apr;39(2):150-6.

¹ De acordo com estilo Vancouver

- Bynum AM, Donly KJ. Enamel de/remineralization on teeth adjacent to fluoride releasing materials without dentifrice exposure. *ASDC J Dent Child*. 1999 Mar-Apr;66(2):89-92, 84.
- Carvalho AS, Cury JA. Fluoride release from some dental materials in different solutions. *Oper Dent*. 1999 Jan-Feb;24(1):14-9.
- Cenci MS, Tenuta LM, Pereira-Cenci T, Del Bel Cury AA, ten Cate JM, Cury JA. Effect of microleakage and fluoride on enamel-dentine demineralization around restorations. *Caries Res*. 2008;42(5):369-79.
- Chatzistavrou E, Eliades T, Zinelis S, Athanasiou AE, Eliades G. Fluoride release from an orthodontic glass ionomer adhesive *in vitro* and enamel fluoride uptake *in vivo*. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2010 Apr;137(4):458.e1-8.
- Coutinho E, Cardoso MV, De Munck J, Neves AA, Van Landuyt KL, Poitevin A. et al. Bonding effectiveness and interfacial characterization of a nano-filled resin-modified glass-ionomer. *Dent Mater*. 2009 Nov;25(11):1347-57.
- Cury JA, Tenuta LM. Enamel remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions? *Braz Oral Res*. 2009;23 Suppl 1:23-30.
- Damen JJ, Buijs MJ, van Strijp AJ, ten Cate JM. *In vitro* fluoride uptake by intra-orally aged and contaminated glass ionomer cement. *Caries Res*. 1999;33(1):88-90.
- De Benedetto MS, Morais CC, Novaes TF, de Almeida Rodrigues J, Braga MM, Mendes FM. Comparing the reliability of a new fluorescence camera with conventional laser fluorescence devices in detecting caries lesions in occlusal and smooth surfaces of primary teeth. *Lasers Med Sci*. 2011 Mar;26(2):157-62.
- de Fúcio SB, de Paula AB, de Carvalho FG, Feitosa VP, Ambrosano GM, Puppini-Rontani RM. Biomechanical degradation of the nano-filled resin-modified glass-ionomer surface. *Am J Dent*. 2012 Dec;25(6):315-20.
- de Paula AB, Fucio SB, Ambrosano GM, Alonso RC, Sardi JC, Puppini-Rontani RM. Biodegradation and abrasive wear of nano restorative materials. *Oper Dent*. 2011 Nov-Dec;36(6):670-7.
- Diniz MB, Boldieri T, Rodrigues JA, Santos-Pinto L, Lussi A, Cordeiro RC. The performance of conventional and fluorescence-based methods for occlusal caries

detection: an *in vivo* study with histologic validation. J Am Dent Assoc. 2012 Apr;143(4):339-50.

Donly KJ, Segura A, Wefel JS, Hogan MM. Evaluating the effects of fluoride-releasing dental materials on adjacent interproximal caries. J Am Dent Assoc 1999;130(6):817-25.

Dowling AH, Fleming GJ. Are encapsulated anterior glass-ionomer restoratives better than their hand-mixed equivalents? J Dent. 2009 Feb;37(2):133-40.

Eliades G, Kakaboura A, Palaghias G. Acid-base reaction and fluoride release profiles in visible light-cured polyacid-modified composite restoratives (compomers). Dent Mater. 1998 Jan;14(1):57-63.

Ellakuria J, Triana R, Mínguez N, Soler I, Ibaseta G, Maza J, García-Godoy F. Effect of one-year water storage on the surface microhardness of resin-modified versus conventional glass-ionomer cements. Dent Mater. 2003 Jun;19(4):286-90.

Elton V, Cooper L, Higham SM, Pender N. Validation of enamel erosion *in vitro*. J Dent. 2009 May;37(5):336-41.

Eronat N, Kocatas N, Alpöz AR. A comparative study of fluoride uptake from dentin bonding agents and glass-ionomer cements in permanent and primary tooth enamel. Quintessence Int. 1999 Jul;30(7):496-500.

Ferreira-Zandoná A, Santiago E, Eckert G, Fontana M, Ando M, Zero DT. Use of ICDAS combined with quantitative light-induced fluorescence as a caries detection method. Caries Res. 2010;44(3):317-22.

Forsten L. Resin-modified glass ionomer cements: fluoride release and uptake. Acta Odontol Scand. 1995 Aug;53(4):222-5.

Forss H, Jokinen J, Spets-Happonen S, Seppä L, Luoma H. Fluoride and mutans streptococci in plaque grown on glass ionomer and composite. Caries Res. 1991;25(6):454-8.

Forss H. Release of fluoride and other elements from light-cured glass ionomers in neutral and acidic conditions. J Dent Res. 1993 Aug;72(8):1257-62.

Forss H, Näse L, Seppä L. Fluoride concentration, mutans streptococci and lactobacilli in plaque from old glass ionomer fillings. Caries Res. 1995;29(1):50-3.

Frankenberger R, Sindel J, Kramer N. Viscous glass-ionomer cements: a new alternative to amalgam in the primary dentition? Quintessence Int. 1997;25:667-76.

Frencken JE, Van 't Hof MA, Van Amerongen WE, Holmgren CJ. Effectiveness of single-surface ART restorations in the permanent dentition: a meta-analysis. J Dent Res. 2004;83:120-3.

Gao W, Smales RJ. Fluoride release/uptake of conventional and resin-modified glass ionomers, and compomers. J Dent. 2001 May;29(4):301-6.

Glasspoole EA, Erickson RL, Davidson CL. Demineralization of enamel in relation to the fluoride release of materials. Am J Dent. 2001 Feb;14(1):8-12.

Gmür R, Giertsen E, van der Veen MH, de Josselin de Jong E, ten Cate JM, Guggenheim B. In vitro quantitative light-induced fluorescence to measure changes in enamel mineralization. Clin Oral Investig. 2006 Sep;10(3):187-95.

Guglielmi CA, Mohana A, Hesse D, Lenzi TL, Bonini GC, Raggio DP. Influence of ultrasound or halogen light on microleakage and hardness of enamel adjacent to glass ionomer cement. Int J Paediatr Dent. 2012 Mar;22(2):110-5.

Guglielmi CAB, Raggio DP, Takeut ML, Camargo LB, Imparato JCP. Liberação e reincorporação de fluoretos de cimento de ionômero de vidro utilizados no tratamento restaurador atraumático. Pesq Bras Odontoped Clin Integr. 2011;11:561-5.

Hayacibara MF, Rosa OP, Koo H, Torres SA, Costa B, Cury JA. Effects of fluoride and aluminum from ionomeric materials on *S. mutans* biofilm. J Dent Res. 2003 Apr;82(4):267-71.

Heinrich-Weltzien R, Kühnisch J, van der Veen M, de Joselin de Jong E, Stösser L. Quantitative light-induced fluorescence (QLF): a potential method for the practitioner. Quintessence Int. 2003;34(3):181-8.

Heinrich-Weltzien R, Kühnisch J, Ifland S, Tranaeus S, Angmar-Månsson B, Stösser L. Detection of initial caries lesions on smooth surfaces by quantitative light-induced fluorescence and visual examination: an *in vivo* comparison. Eur J Oral Sci. 2005 Dec;113(6):494-8.

Hicks J, García-Godoy F, Milano M, Flaitz C. Compomer materials and secondary caries formation. Am J Dent. 2000 Oct;13(5):231-4.

Higham SM, Pretty IA, Edgar WM, Smith PW. The use of *in situ* models and QLF for the study of coronal caries. J Dent. 2005; 33: 235-41.

Itthagarun A, Wey SHY, Wefel JS. The effect of different commercial dentifrices on enamel lesion progression: an *in vitro* pH-cycling study. Int Dent. J 2000; 50(1):21-8.

Jang K, Garcia-Godoy F, Donly K, Segura A. Remineralizing effects of glass ionomer restorations on adjacent interproximal caries. ASDC J Dent Child. 2001; 68(2): 125–8.

Kielbassa AM, Schulte-Monting J, Garcia-Godoy F, Meyer-Lueckel H. Initial *in situ* secondary caries formation: effect of various fluoride-containing restorative materials. Oper Dent. 2003 Nov-Dec;28(6):765-72.

Karantakis P, Helvatjoglou-Antoniades M, Theodoridou-Pahini S, Papadogiannis Y. Fluoride release from three glass ionomers, a compomer, and a composite resin in water, artificial saliva, and lactic acid. Oper Dent. 2000 Jan-Feb;25(1):20-5.

Kidd EA, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. J Dent Res. 2004;83 Spec No C:C35-8.

Korkmaz Y, Gurgan S, Firat E, Nathanson D. Shear bond strength of three different nano-restorative materials to dentin. Oper Dent. 2010 Jan-Feb;35(1):50-7.

Kotsanos N. An intraoral study of caries induced on enamel in contact with fluoride-releasing restorative materials. Caries Res. 2001; 35(3): 200–4.

Koulourides T, Phantumvanit P, Munksgaard EC, Housch T. An intraoral model used for studies of fluoride incorporation in enamel. J Oral Pathol. 1974; 3:185-96.

Lee HS, Berg JH, García-Godoy F, Jang KT. Long-term evaluation of the remineralization of interproximal caries-like lesions adjacent to glass-ionomer restorations: a micro-CT study. Am J Dent. 2008 Apr;21(2):129-32.

Lennon AM, Wiegand A, Buchalla W, Attin T. Approximal caries development in surfaces in contact with fluoride-releasing and non-fluoride-releasing restorative materials: an *in situ* study. Eur J Sci. 2007;115 (6):497-501.

Lynch RJ, Mony U, Ten Cate JM. The effect of fluoride at plaque fluid concentrations on enamel de- and remineralisation at low pH. Caries Res. 2006;40(6):522-9.

Lippert F, Butler A, Lynch RJ. Enamel demineralization and remineralization under plaque fluid-like conditions: a quantitative light-induced fluorescence study. *Caries Res.* 2011;45(2):155-61.

Magalhães AC, Moron BM, Comar LP, Wiegand A, Buchalla W, Buzalaf MA. Comparison of cross-sectional hardness and transverse microradiography of artificial carious enamel lesions induced by different demineralising solutions and gels. *Caries Res.* 2009;43(6):474-83.

Marinelli CB, Donly KJ, Wefel JS, Jakobsen JR, Denehy GE. An *in vitro* comparison of three fluoride regimens on enamel remineralization. *Caries Res.* 1997;31(6):418-22.

Matos R, Novaes TF, Braga MM, Siqueira WL, Duarte DA, Mendes FM. Clinical performance of two fluorescence-based methods in detecting occlusal caries lesions in primary teeth. *Caries Res.* 2011;45(3):294-302.

Mazzaoui SA, Burrow MF, Tyas MJ. Fluoride release from glass ionomer cements and resin composites coated with a dentin adhesive. *Dent Mater.* 2000 May;16(3):166-71.

McGrady MG, Ellwood RP, Taylor A, Maguire A, Goodwin M, Boothman N, Pretty IA. Evaluating the use of fluorescent imaging for the quantification of dental fluorosis. *BMC Oral Health.* 2012 Nov 1;12:47.

Meller C, Heyduck C, Tranaeus S, Splieth C. A new *in vivo* method for measuring caries activity using quantitative light-induced fluorescence. *Caries Res.* 2006;40(2):90-6.

Mendes FM, Nicolau J. Utilization of laser fluorescence to monitor caries lesions development in primary teeth. *J Dent Child (Chic).* 2004;71(2):139-42.

Mickenautsch S, Tyas MJ, Yengopal V, Oliveira LB, Bönecker M. Absence of carious lesions at margins of glass-ionomer cement (GIC) and resin-modified GIC restorations: a systematic review. *Eur J Prosthodont Restor Dent.* 2010 Sep;18(3):139-45.

Mickenautsch S, Yengopal V. Demineralization of hard tooth tissue adjacent to resin-modified glass-ionomers and composite resins: a quantitative systematic review. *J Oral Sci.* 2010 Sep;52(3):347-57.

Mickenausch S, Yengopal V, Leal SC, Oliveira LB, Bezerra AC, Bönecker M. Absence of carious lesions at margins of glass-ionomer and amalgam restorations: a meta-analysis. *Eur J Paediatr Dent* 2009;10(1):41-6.

Mickenausch S, Yengopal V, Banerjee A. Atraumatic restorative treatment versus amalgam restoration longevity: a systematic review. *Clin Oral Investig*. 2010; 14: 233-40.

Mitra SB, Oxman JD, Falsafi A, Ton TT. Fluoride release and recharge behavior of a nano-filled resin-modified glass ionomer compared with that of other fluoride releasing materials. *Am J Dent*. 2011 Dec;24(6):372-8.

Momoi Y, McCabe JF. Fluoride release from light-activated glass ionomer restorative cements. *Dent Mater*. 1993 May;9(3):151-4.

Moreau JL, Xu HH. Fluoride releasing restorative materials: Effects of pH on mechanical properties and ion release. *Dent Mater*. 2010;26(11):e227-35.

Mount GJ. Glass ionomers: a review of their current status. *Oper Dent* 1999; 24(2): 115-24.

Mount GJ, Patel C, Makinson OF.. Resin modified glass-ionomers: strength, cure depth and translucency. *Aust Dent J*. 2002 Dec;47(4):339-43.

Neelakantan P, John S, Anand S, Sureshababu N, Subbarao C. Fluoride release from a new glass-ionomer cement. *Oper Dent*. 2011 Jan-Feb;36(1):80-5.

Nicholson JW. Chemistry of glass-ionomer cements: a review. *Biomaterials*. 1998 Mar;19(6):485-94.

Nicholson JW, Czarnecka B. The release of ions by compomers under neutral and acidic conditions. *J Oral Rehabil*. 2004 Jul;31(7):665-70.

Nyvad B, Fejerskov O. Assessing the stage of caries lesion activity on the basis of clinical and microbiological examination. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1997 Feb;25(1):69-75.

Papagiannoulis L, Kakaboura A, Eliades G. *In vivo* vs *in vitro* anticariogenic behavior of glass-ionomer and resin composite restorative materials. *Dent Mater*. 2002 Dec;18(8):561-9.

Paes Leme AF, Dalcico R, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Rosalen PL, Cury JA. *In situ* effect of frequent sucrose exposure on enamel demineralization and on plaque composition after APF application and F dentifrice use. J Dent Res. 2004;83:71–5.

Perdigão J, Dutra-Corrêa M, Saraceni S, Ciaramicoli M, Kiyan V. Randomized Clinical Trial of Two Resin-Modified Glass Ionomer Materials: 1-year Results. Oper Dent. 2012 Nov-Dec;37(6):591-601.

Preston AJ, Agalamanyi EA, Higham SM, Mair LH. The recharge of esthetic dental restorative materials with fluoride *in vitro*-two years' results. Dent Mater. 2003 Jan;19(1):32-7.

Pretty IA, Edgar WM, Higham SM. Detection of *in vitro* demineralization of primary teeth using quantitative light-induced fluorescence (QLF). Int J Paediatr Dent. 2002 May;12(3):158-67.

Pretty IA, Smith PW, Edgar WM, Higham SM. Detection of *in vitro* demineralization adjacent to restorations using quantitative light induced fluorescence (QLF). Dent Mater. 2003 Jul;19(5):368-74.

Qvist V, Laurberg L, Poulsen A, Teglers PT. Eight-year study on conventional glass ionomer and amalgam restorations in primary teeth. Acta Odontol Scand. 2004a Feb;62(1):37-45.

Qvist V, Manscher E, Teglers PT. Resin-modified and conventional glass ionomer restorations in primary teeth: 8-year results. J Dent. 2004b May;32(4):285-94.

Qvist V, Laurberg L, Poulsen A, Teglers PT. Class II restorations in primary teeth: 7-year study on three resin-modified glass ionomer cements and a compomer. Eur J Oral Sci. 2004c Apr;112(2):188-96.

Qvist V, Poulsen A, Teglers PT, Mjör IA. The longevity of different restorations in primary teeth. Int J Paediatr Dent. 2010;20(1):1-7.

Raggio DP, Hesse D, Lenzi TL, A B Guglielmi C, Braga MM. Is Atraumatic restorative treatment an option for restoring occlusoproximal caries lesions in primary teeth? A systematic review and meta-analysis. Int J Paediatr Dent. 2012 Nov 28. doi: 10.1111/ipd.12013. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

Randall RC, Wilson NH. Glass-ionomer restoratives: a systematic review of a secondary caries treatment effect. J Dent Res. 1999 Feb;78(2):628-37.

- Rodrigues JA, Hug I, Diniz MB, Lussi A. Performance of fluorescence methods, radiographic examination and ICDAS II on occlusal surfaces *in vitro*. Caries Res. 2008;42(4):297-304.
- Salas CF, Guglielmi CA, Raggio DP, Mendes FM. Mineral loss on adjacent enamel glass ionomer cements restorations after cariogenic and erosive challenges. Arch Oral Biol. 2011;56(10):1014-9.
- Savarino L, Breschi L, Tedaldi M, Ciapetti G, Tarabusi C, Greco M, Giunti A, Prati C. Ability of restorative and fluoride releasing materials to prevent marginal dentine demineralization. Biomaterials. 2004 Mar;25(6):1011-7.
- Scholtanus JD, Huysmans MC. Clinical failure of class-II restorations of a highly viscous glass-ionomer material over a 6-year period: a retrospective study. J Dent. 2007 Feb;35(2):156-62.
- Segura A, Donly KJ, Stratmann RG. Enamel remineralization on teeth adjacent to Class II glass ionomer restorations. Am J Dent. 1997;10(5):247-50.
- Sousa RP, Zanin IC, Lima JP, Vasconcelos SM, Melo MA, Beltrão HC, Rodrigues LK. *In situ* effects of restorative materials on dental biofilm and enamel demineralisation. J Dent. 2009;37(1):44-51.
- Souza JF, Boldieri T, Diniz MB, Rodrigues JA, Lussi A, Cordeiro RC. Traditional and novel methods for occlusal caries detection: performance on primary teeth. Lasers Med Sci. 2013 Jan;28(1):287-95.
- Souza JF, Boldieri T, Diniz MB, Rodrigues JA, Lussi A, Cordeiro RC. Traditional and novel methods for occlusal caries detection: performance on primary teeth. Lasers Med Sci. 2013 Jan;28(1):287-95.
- Tantbirojn D, Douglas WH, Versluis A. Inhibitive effect of a resin-modified glass ionomer cement on remote enamel artificial caries. Caries Res. 1997; 31(4): 275–80.
- Trairatvorakul C, Itsaraviriyakul S, Wiboonchan W. Effect of glass-ionomer cement on the progression of proximal caries. J Dent Res. 2011 Jan;90(1):99-103.
- Ten Cate JM, Duijsters PPE. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. Caries Res. 1982;16(3):201-10.

Van Dijken JW. 3-year clinical evaluation of a compomer, resin-modified glass ionomer and a resin composite in Class III restorations. *Am J Dent*. 1996; 9(5): 195–8.

Van Duinen RN, Kleverlaan CJ, De Gee AJ, Werner A, Feilzer AJ. Early and long-term wear of 'fast-set' conventional glass-ionomer cements. *Dent Mater*. 2005;21(8):716-20.

van 't Hof MA, Frencken JE, van Palenstein Helderman WH, Holmgren CJ. The atraumatic restorative treatment (ART) approach for managing dental caries: a meta-analysis. *Int Dent J*. 2006 Dec;56(6):345-51.

Verbeeck RMH, De Maeyer EAP, Marks LAM, De Moor RJG, De Witte AMJC, Trimpeneers LM. Fluoride release process of (resin-modified) glass ionomer cements versus (polyacid-mod-ified) composite resins. *Biomaterials*. 1998 Mar;199(6):509 –19.

Vermeersch G, Leloup G, Vreven J. Fluoride release from glass-ionomer cements, compomers and resin composites. *J Oral Rehabil*. 2001;28:26–32.

Vieira AE, Delbem AC, Sasaki KT, Rodrigues E, Cury JA, Cunha RF. Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. *Caries Res*. 2005 Nov-Dec;39(6):514-20.

Xie D, Brantley WA, Culbertson BM, Wang G. Mechanical properties and microstructures of glass-ionomer cements. *Dent Mater*. 2000 Mar;16(2):129-38.

Yaman SD, Er O, Yetmez M, Karabay GA. *In vitro* inhibition of caries-like lesions with fluoride-releasing materials. *Eur J Oral Sci*. 2004; 46(1): 45–50.

Yap AU, Tham SY, Zhu LY, Lee HK. Short-term fluoride release from various aesthetic restorative materials. *Oper Dent*. 2002 May-Jun;27(3):259-65.

Yengopal V, Mickenautsch S. Caries-preventive effect of resin-modified glass-ionomer cement (RM-GIC) versus composite resin: a quantitative systematic review. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2011 Feb;12(1):5-14.

Yengopal V, Harneker SY, Patel N, Siegfried N. Dental fillings for the treatment of caries in the primary dentition. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009 Apr 15;(2):CD004483.

Wan AC, Adrian U. J. Yap, Garth W. Hastings. Acid–Base Complex Reactions in resin-modified and conventional glass ionomer cements. *J Biomed Mater Res.*1999;48(5):700-4.

Wasson EA, Nicholson JW. New aspects of the setting of glass-ionomer cements. *J Dent Res.* 1993;72:481-3.

Wiegand A, Buchalla W, Attin T. Review on fluoride releasing restorative materials – fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation. *Dent Mater.* 2007; 23(3): 343–62.

Wilson AD, Kent BE. A new translucent cement for dentistry. The glass ionomer cement. *Br Dent J.* 1972 Feb 15;132(4):133-5.

APÊNDICE A - Fluxograma da metodologia para os estudos I e II

APÊNDICE B - Termo de consentimento livre e esclarecido

Avaliação da remineralização *in vitro* e *in situ* de lesões de cárie proximais adjacentes a restaurações com diferentes materiais dentários em dentes decíduos

Prezado Sr.(a) _____,

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa que estudará o a capacidade de remineralização de lesões de cárie proporcionada por materiais restauradores, tentando realizá-la da maneira mais próxima à realidade (*in situ*). Por este motivo, os voluntários utilizarão por período de 21 dias um aparelho de acrílico com pequenos blocos de dente natural esterilizados. Os voluntários terão que gotejar uma solução de sacarose 20%, 8 vezes ao dia, sobre os blocos de dente, simulando o período de refeições. Neste período, os voluntários higienizarão a cavidade bucal com dentifrício fluoretado cedido pela pesquisadora, removendo, para isso, o aparelho. Após as 2 fases de 7 e 14 dias de utilização, os aparelhos serão entregues para a pesquisadora para que sejam realizadas as análises.

Você foi selecionado de forma voluntária e sua participação não é obrigatória. Para participar deste estudo, solicito a sua especial colaboração em utilizar corretamente o aparelho durante todo o período especificado, pois a utilização inadequada poderá implicar em falha da pesquisa. Todos os materiais que serão utilizados (solução de sacarose 20%, dentifrício fluoretado, aparelho e caixa para armazená-lo) não terão custo para o voluntário e serão cedidos pela pesquisadora. Você não terá gasto com a sua participação no estudo e também não receberá pagamento pelo mesmo. Esta pesquisa trará maior conhecimento sobre o tema abordado, sem benefício direto para o voluntário, porém não representando qualquer risco de ordem física ou psicológica.

Para confecção do aparelho será realizada moldagem do arco dentário superior dos voluntários, e o dispositivo intra-oral será utilizado por um período de dois dias para verificar sua adaptação.

Sua participação voluntária neste estudo é muito importante. Você tem o direito de não participar ou de desistir deste estudo a qualquer momento. Você também pode ser desligado do estudo a qualquer momento, sem o seu consentimento, nas seguintes situações: (a) caso não use ou siga adequadamente as orientações do estudo; (b) caso sofra efeitos indesejáveis não esperados; (c) caso o estudo seja interrompido. Se optar

por retirar-se do estudo, a pesquisadora responsável esclarecerá qualquer dúvida, bastando entrar em contato pelo seguinte endereço e/ou telefone e/ou e-mail:

Nome da Pesquisadora: Camila Guglielmi

Endereço: Av. Prof Lineu Prestes , 2227

Telefone: 11 98351143

e-mail: camigugli@usp.br

A sua identidade será mantida em sigilo. Os resultados serão sempre apresentados como o retrato de um grupo e não de uma pessoa. Dessa forma, você não será identificado quando o material de seu registro for utilizado, seja para propósitos de publicação científica ou educativa.

Consentimento

Após ler estas informações e ter minhas dúvidas suficientemente esclarecidas pela pesquisadora, concordo em participar de forma voluntária deste estudo.

Nome: _____

Assinatura: _____

R.G. _____

São Paulo, ____ de _____ de 200__

Dra. Camila Guglielmi
Pesquisadora

APÊNDICE C - Orientações aos participantes da pesquisa

- 1) Todos os participantes deverão concordar em participar voluntariamente da pesquisa;
- 2) A pesquisa será realizada num total de 28 dias (1ª fase – 7 dias e 2ª fase -14 dias, com uma semana entre elas);
- 3) O participante receberá o dispositivo intraoral para uso diário, que somente será removido quando a solução de sacarose 20% deverá ser gotejada sobre os espécimes fixados no dispositivo (8 vezes ao dia);
- 4) Durante a escovação dental, o dispositivo deverá ser colocado um frasco contendo água da torneira.
- 5) O dispositivo intraoral será confeccionado em resina acrílica autopolimerizável e conterá 6 espécimes devidamente esterilizados;
- 6) O voluntário deverá utilizar somente o dentifrício fornecido e não deverá higienizar o dispositivo intrabucal na região dos espécimes;
- 7) Não será solicitada nenhuma alteração adicional dos hábitos de higiene bucal ou hábitos alimentares;
- 8) O comparecimento às consultas é fundamental e essas serão agendadas com antecedência em horários convenientes aos participantes;
- 9) Qualquer dano ou problema com o dispositivo intra-oral deverá ser comunicado imediatamente;
- 10) O material fornecido ao participante será constituído de solução de sacarose 20%, escova dental, dentifrício fluoretado e caixa plástica para armazenar o dispositivo.

ANEXO - Aprovação do comitê de ética em pesquisa da FOUSP

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA****Comitê de Ética em Pesquisa****PARECER DE APROVAÇÃO
FR – 310401
Protocolo 186/2009**

Com base em parecer de relator, o Comitê de Ética em Pesquisa **APROVOU** o protocolo de pesquisa "**Avaliação da remineralização in vitro e in situ de lesões de cárie proximais adjacentes a restaurações com diferentes materiais dentários em dentes deciduos**", de responsabilidade do(a) Pesquisador(a) Camila Almeida Brandão Guglielmi, sob orientação do(a) Prof.(a) Dr.(a) Daniela Procida Raggio.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 11 de março de 2010.

Profa. Dra. Marcia Turolla Wanderley
Coordenadora do CEP-FOUSP