USP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Odontologia de Bauru

JANAÍNAMANIEZO DE SOUSA

**"AVALIAÇÃO DA MATURAÇÃO PÓS-ERUPTIVA DO ESMALTE DE DENTES
HUMANOS HÍGIDOS E SUA RESPOSTA FRENTE A UM DESAFIO CARIOGÊNICO
IN VITRO POR MEIO DA MICRODUREZA LONGITUDINAL"**

**Bauru
2010**

JANAÍNA MANIEZO DE SOUSA

**“AVALIAÇÃO DA MATURAÇÃO PÓS-ERUPTIVA DO ESMALTE DE
DENTES HUMANOS HÍGIDOS E SUA RESPOSTA FRENTE A UM
DESAFIO CARIOGÊNICO *IN VITRO* POR MEIO DA MICRODUREZA
LONGITUDINAL”**

Dissertação apresentada a Faculdade de
Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de mestre em Odontologia.
Área de concentração: Odontopediatria
Orientador: Prof. Dr. José Eduardo de Oliveira Lima

BAURU
2010

So85a

Sousa, Janaína Maniezo

Avaliação da maturação pós-eruptiva do esmalte de dentes humanos hígidos e sua resposta frente a um desafio cariogênico *in vitro* por meio da microdureza longitudinal / Janaína Maniezo de Sousa. – Bauru, 2010.

96 p. : il. ; 31cm.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo de Oliveira Lima

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação/tese, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura:

Data:

Comitê de Ética da FOB-USP
Protocolo nº: 127/2009
Data:01/08/2009

DADOS CURRICULARES

Nascimento	18 de Maio de 1986
Naturalidade	Maringá-PR
Filiação	Antonio Marcos de Sousa Maria Helena Maniezo de Sousa
2004-2009	Curso de graduação pela Universidade Estadual de Maringá (UEM)
2007-2008	Monitoria em Odontopediatria
2009-2010	Curso de pós-graduação em Odontopediatria, nível mestrado, pela Faculdade de odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo
Associações	CRO-PR- Conselho Regional de odontologia do Estado do Paraná SBPqO- Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Marcos e Helena que me deram condições para a realização de todas as minhas conquistas. Por acreditarem em mim e me apoiarem em todos os momentos.

À Deus, por estar sempre me iluminando e por ter me dado saúde e determinação para realização desta conquista.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus avós, a minha avó Jesuína por estar sempre me confortando e me ajudando, com as palavras sabias que a vida a ensinou.

Agradeço aos meus pais, Marcos e Helena pelo apoio que sempre me deram.

Agradeço à minha irmã Juliana pelo incentivo, mesmo de longe.

Agradeço ao meu namorado Rafael, pelos momentos de companheirismo e por me apoiar nas situações difíceis.

Agradeço ao meu orientador, José Eduardo de Oliveira Lima, pela tranquilidade e sabedoria transmitidas e por ter me acolhido e compreendido. Pelos ensinamentos concedidos, pela orientação dada e pela confiança depositada.

Agradeço aos meus colegas de mestrado Annelyze, Flávia, Maisa, Vanessa e Ana Paula, pela amizade, companheirismo, por compartilhar e superar todos os momentos difíceis, desde o início. Obrigada por tornar o dia-a-dia mais divertido.

Às minhas amigas Anne, Fa e Ma que foram minha família em Bauru. Que me acolheram e me apoiaram em todos os momentos. Obrigada pelos conselhos, risadas, amizade e momentos de descontração. Sem vocês esta conquista não seria possível.

Aos meus amigos Priscila, Ana Regina, Elen, Heliton, pela convivência, apoio desabafos, viagens, caronas e pelas histórias engraçadas que vivenciamos durante as viagens que ficarão guardadas para sempre.

À Cristiane, por ter compartilhado suas experiências e transmitidos seus conhecimentos, que foram necessários para a realização deste trabalho.

Aos amigos, Carla, Tati, Ju e Dri pelo companheirismo, amizade, ajuda nos momentos difíceis, que são exemplos a serem seguidos.

Aos amigos do Doutorado, Carla, Tati, Ju, Dri, Ana Lidia, Akio, Natalino, pela convivência e pelo exemplo profissional.

Aos professores do departamento de Odontopediatria Profa. Dra Daniela Rios, Prof. Dr. José Eduardo de Oliveira, Profa. Dra. Maria Aparecida Moreira Machado, Prof. Dr. Ruy César Camargo Abdo, Profa. Dra. Salete Moura Bonifácio da Silva, Profa. Dra. Thais Marchini de Oliveira pelos valiosos conhecimentos e experiências transmitidas, que serviu para minha formação profissional. Pela dedicação e paciência em clínica e nos seminários desenvolvidos.

Agradeço à Profa. Dra. Salete Moura Bonifácio da Silva por sempre se dispor a ajudar nas clínicas e nas reuniões realizadas. Mesmo sem tempo disponível, me acolheu e me orientou.

Agradeço à Profa. Dra. Daniela Rios que se dispôs a me ajudar desde o primeiro dia que estive em Bauru, obrigada pelo acolhimento, pela disposição sempre que necessário, pelas palavras de conforto e pela ajuda.

Agradeço à Profa. Dra. Thais Marchini de Oliveira pelo apoio sempre que necessário.

Agradeço à Profa. Dra. Ana Carolina Magalhães pela disposição e animo na realização de minha pesquisa, pela dedicação na etapa laboratorial realizada no laboratório de bioquímica da FOB-USP e na correção dos trabalhos realizados.

À Profa. Dra. Marília Afonso Rabelo Buzalaf (Bioquímica FOB-USP) pela disponibilidade do laboratório.

Aos funcionários do laboratório de bioquímica, Larissa, Ovideo e Telma, pelo auxílio durante a realização deste trabalho.

Aos funcionários do departamento de Odontopediatria, Alexandre, Dona Lia, Lilian, Estela, pelo auxílio dado nos momentos necessários.

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

À Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, na pessoa de seu Diretor Prof. Dr. José Carlos Pereira e da Coordenadora da Pós-Graduação Prof. Dr. Paulo Cesar Rodrigues Conti.

À instituição CAPES, pelo apoio financeiro.

***"Um pessimista vê uma dificuldade em cada oportunidade; um
otimista vê uma oportunidade em cada dificuldade."***

Sir Winston Churchill

RESUMO

Sabe-se que dentes recém-irrompidos são mais susceptíveis a lesões cárias comparados aos dentes mais velhos. O risco elevado à desmineralização tem sido também comprovado por experimentos *in vitro*. No entanto, a maioria dos trabalhos é realizada com amostras polidas provenientes de diferentes tipos de dentes. Adicionalmente, não há dados comparativos entre a mesma amostra hígida e desmineralizada. Portanto, este estudo teve como objetivo avaliar o impacto da maturação pós-eruptiva do esmalte humano hígido sobre a desmineralização *in vitro* por meio da microdureza longitudinal. Cada grupo de dentes foi composto por 12 espécimes de esmalte de terceiros molares: não irrompidos, com 1 a 6 meses de erupção e com 2 a 3 anos de erupção. As amostras foram protegidas em 2/3 da superfície e submetidas à formação de lesão cária artificial (gel de metilcelulose com ácido láctico, pH 4,6, 14 dias). A microdureza longitudinal foi realizada na superfície hígida e desmineralizada nas distâncias de 10 a 220µm. Os dados foram analisados por ANOVA/Tukey ou Kruskal-Wallis/Dunn ($p < 0,05$). As médias de dureza da superfície hígida (KHN), o Δ KHN (superfície cariada) e a profundidade da lesão (µm) para os grupos submetidos ao desafio cariogênico foram, respectivamente: incluso (333,2/13.567/81,67), 1-6m (355,9/13.332/78,33) e 2-3a (382,9/14.019/73,33). Concluiu-se que dentes com diferentes idades pós-eruptivas apresentam diferenças em relação à microdureza longitudinal do esmalte hígido que podem não refletir em maior susceptibilidade à desmineralização quando um gel acidificado é utilizado para provocar lesão de cárie artificial.

Palavras-chave: Erupção Dentária, Dureza, Cárie Dentária, Esmalte Dentário

ABSTRACT

"Assessment of maturity post-eruptive enamel of healthy enamel human teeth and its response against a *in vitro* cariogenic challenge through longitudinal microhardness "

It is known that newly erupted teeth are more susceptible to carious lesions compared to older teeth. The high risk of demineralization has also been proven by *in vitro* experiments. However, most work is performed with polished samples from different types of teeth. Additionally, there is no comparative data between sound and demineralized enamel from the same tooth. Therefore, this *in vitro* study evaluated enamel maturation at different depths in sound and demineralized human teeth at different posteruptive ages by cross-sectional hardness (CSH). Each group was composed by 12 enamel samples from 3rd molars: unerupted, with 1-6 months and 2-3 years. The samples had two thirds of the surface protected and were subjected to demineralization (methylcellulose gel/lactic acid, pH 4.6, 14 days). Cross-sectional hardness was performed on sound and demineralized enamel on distances from 10 to 220µm. Data were analyzed by ANOVA/Tukey or Kruskal-Wallis/Dunn ($p < 0.05$). Means of sound enamel hardness (KHN), ΔKHN (demineralized surface) and lesion depth (µm) for the groups submitted to acid gel were: unerupted (333.2/13,567/81.67), 1-6 m (355.9/13,332/78.33) and 2-3y (382.9/14,019/73.33). It was concluded that teeth with different post-eruptive ages differ regarding to the cross-sectional hardness of sound enamel, which in turn may not reflect a higher susceptibility to demineralization when an acidified gel is used to provoke artificial carious lesion.

Key words: Tooth Eruption, Hardness, Dental Caries, Dental Enamel

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURAS

Figura 1	Dentes com diferentes idades eruptivas: Terceiros molares não irrompido, com 1 a 6 meses de erupção e com 2 a 3 anos de erupção.....	49
Figura 2	Dente na máquina de corte.....	50
Figura 3	Fatia do dente cortado.....	51
Figura 4	Espécime de esmalte (vestibular e lingual, 4x4 mm).....	51
Figura 5	Amostras pintadas.....	52
Figura 6	Espécimes imersos no gel metilcelulose com ácido láctico, pH 4,6, 37°C, 14dias (37° C).....	53
Figura 7	Estufa para armazenamento das amostras.....	54
Figura 8	Preparo das amostras para corte ao meio.....	55
Figura 9	Corte das amostras ao meio.....	56
Figura 10	Inclusão dos espécimes em discos de resina acrílica utilizando a embutidora.....	56
Figura 11	Amostras embutidas.....	57
Figura 12	Polimento das superfícies internas das amostras.....	57
Figura 13	Amostras preparadas com uma parte hígida e outra desmineralizada.....	58
Figura 14	Microdurômetro.....	59

Figura 15	Leitura no microdurômetro.....	60
Figura 16	Endentações (10-220 μm de profundidade).....	60
Figura 17	Medida da diagonal.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Média e desvio padrão da profundidade de lesão cariiosa (μm), da dureza da parte hígida (KHN) e da perda mineral integrada do esmalte (Delta KHN) dos grupos submetidos à desmineralização com o gel acidulado.....	65
Tabela 2	Valores de médias da microdureza longitudinal, em KHN dos grupos, nas diferentes profundidades do esmalte hígido	66
Tabela 3	Valores de médias da microdureza longitudinal, em KHN, dos grupos, nas diferentes profundidades do esmalte desmineralizado..	67

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

Ca	cálcio
Mg	magnésio
P	fósforo
Na	sódio
F	flúor
CO ₃	carbonato
Fm	micrômetros
mm	milímetro
cm	centímetro
in situ (latim)	em sítio, no local
in vivo (latim)	no ser humano
in vitro (latim)	em laboratório
dp	desvio padrão
pH	potencial de hidrogenização
KHz	kilohertz
ppm	partes por milhão
rpm	rotações por minuto
Kgf	kilograma força
KHN	valor de dureza Knoop
C	constante aplicada para o cálculo da dureza Knoop
c	carga
g	grama
d	comprimento da maior diagonal da impressão

FOB	Faculdade de Odontologia de Bauru
USP	Universidade de São Paulo
EDX	Energy-dispersive X-ray analysis
ANOVA	Análise de Variância

LISTA DE SÍMBOLOS

<	menor
>	maior
%	por cento
°C	grau centígrado
±	mais ou menos
p	nível de significância

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	REVISÃO DE LITERATURA	27
3	PROPOSIÇÃO	45
4	MATERIAL E MÉTODOS	49
4.1	OBTENÇÃO DOS DENTES	49
4.2	PREPARO DOS ESPÉCIMES DE ESMALTE	50
4.3	DESAFIO CARIOGÊNICO <i>IN VITRO</i>	53
4.4	ANÁLISE DA MICRODUREZA LONGITUDINAL DO ESMALTE	54
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS	55
5	RESULTADOS	65
6	DISCUSSÃO	71
6.1	RESULTADOS DO GEL ACIDULADO NO ESMALTE HUMANO	71
6.2	RESULTADOS DA MATURAÇÃO DO ESMALTE HUMANO HÍGIDO	72
6.3	SUSCEPTIBILIDADE DO DENTE HUMANO COM DIFERENTES IDADES ERUPTIVAS À DESMINERALIZAÇÃO <i>IN VIVO</i> , <i>IN SITU</i> E <i>IN VITRO</i>	74
7	CONCLUSÕES	79
	REFERÊNCIAS	83
	APÊNDICES	89
	ANEXOS	95

1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

Dentre os problemas de saúde bucal, a cárie dentária ainda constitui um dos maiores desafios da odontologia e o seu entendimento como um processo multifatorial levou os pesquisadores ao desenvolvimento de inúmeros métodos para a sua prevenção, os quais objetivavam essencialmente o controle de possíveis fatores envolvidos no processo, assim como a tentativa de aumentar a resistência do hospedeiro (LIMA, 2009).

A suscetibilidade do dente à cárie é determinada pelo grau de mineralização do esmalte, proporcionando maior ou menor resistência à dissolução ácida. A mineralização pode ser determinada por fatores intrínsecos que estão relacionados ao período de formação do dente e por fatores extrínsecos, os ambientais (LIMA, 2007).

Durante a erupção dos dentes há uma mudança abrupta do meio em que se encontram, saindo do interior dos tecidos para a cavidade bucal e entrando assim em contato com a saliva, bactérias e alimentos. Logo após a erupção, mudanças tomam conta do esmalte dos dentes para que se adaptem ao novo meio (maturação pós-eruptiva) (BACKER, 1966).

Uma vez que o esmalte tenha erupcionado na cavidade bucal, sua superfície constantemente sofre alterações e, por esta razão, deve-se considerá-lo como participando de transformações dinâmicas o tempo todo. Devido à sua porosidade superficial, tem sido sugerido que o esmalte sofre um período de maturação subsequente à erupção. A natureza dessa maturação ainda não é bem compreendida, mas acredita-se que durante esse período os íons minerais e de flúor do ambiente bucal difundem-se para o interior do esmalte. Uma das evidências que sugerem a ocorrência desse processo é o fato de que a concentração de flúor no esmalte aumenta após a erupção do dente (FEJERSKOV et al., 2005).

O esmalte do dente recém irrompido possui algumas características que indicam uma maior susceptibilidade à desmineralização (BACKER, 1966; BRUDEVOLD et al., 1982; CRABB, 1976; KATAOKA et al., 2007; KOTSANOS & DARLING, 1991; SCHULTE et al., 1999; WOLTGENS et al., 1981a) como maior porosidade (CRABB, 1976; FEJERSKOV et al., 1984; TEN BOSCH et al., 2000, THYLSTRUP et al., 1984), grande quantidade de apatita carbonatada em sua composição (CURY, 2001; GÄNGLER et al., 1993) e de impurezas (Na, Mg, CO₃)

(DRIESSENS et al., 1985) quando comparados aos dentes mais velhos. Assim, ao irromper, as estruturas minerais do esmalte ficam sujeitas às variações do meio bucal (FANNING et al., 1954). É fato que os cristais do esmalte diferem da hidroxiapatita pura, pois eles contêm vários íons inorgânicos contaminantes. A treliça da apatita é particularmente “flexível” e permitirá a inclusão de tais íons contaminantes, em lugares normalmente reservados aos íons cálcio, fosfato ou hidroxila. Por exemplo, nos cristais do esmalte, alguns íons fosfato são substituídos por íons carbonato, freqüentemente pela substituição simultânea do cálcio por sódio. A apatita do esmalte e a maioria das outras apatitas biológicas são, conseqüentemente, uma fluorhidroxiapatita carbonatada. Outros íons normalmente incorporados nas apatitas biológicas, porém em grau menor, são cloreto e magnésio (TEN CATE et al., 1996).

Sabe-se que a película adquirida, a qual se adere à superfície do esmalte, têm efeito tanto benéfico, no que diz respeito à sua capacidade tampão e de reservatório de minerais, quanto maléfico, por proporcionar o acúmulo de alimentos e bactérias produtoras de ácidos (BACKER, 1966). A saliva, por conter quantidades consideráveis de cálcio e fosfato e por ser quase sempre supersaturada em relação ao mineral do esmalte, protege naturalmente o esmalte, favorecendo a maturação e deixando-o menos solúvel (TEN CATE et al., 1996).

Nos primeiros anos após a erupção, os dentes estão mais susceptíveis à dissolução ácida devido às características do esmalte, como visto anteriormente e, além disso, neste período o desafio cariogênico é grande, somado à escovação deficiente por parte das crianças e o fato de os dentes se encontrarem em infraoclusão, não participando assim da mastigação e facilitando o acúmulo de biofilme. Esta situação pode perdurar por vários meses, antes da oclusão funcional ser obtida. No caso dos primeiros e segundos molares permanentes, o tempo de erupção é de 5 a 32 meses e de 9 a 45, respectivamente (EKSTRAND et al., 2003). Este período é muito longo, no qual o dente se encontra exposto a inúmeros processos microscópicos de dissolução e reposição de minerais que ocorrem na interface esmalte-biofilme. Deve-se entender que, provavelmente, o período mais importante para qualquer dente vai desde sua erupção, através da membrana mucosa, até atingir sua oclusão funcional com o dente antagonista (FEJERSKOV et al., 2005).

Na literatura, diversos trabalhos (BRUDEVOLD et al., 1982; CRABB, 1976; CURY, 2001; FEJERSKOV et al., 1984; GÄNGLER et al., 1993; SCHULTE et al., 1999; TEN BOSCH et al., 2000; THYLSTRUP et al., 1984; KATAOKA et al., 2007) ressaltam a importância do conhecimento das características do esmalte durante e após o processo de erupção, assim como dos mecanismos envolvidos na desmineralização dentária, para o estabelecimento de medidas preventivas eficazes (DRIESSENS et al., 1985; GÄNGLER et al., 1993; KOTSANOS & DARLING, 1991; WOLTGENS et al., 1981b; WOLTGENS et al., 1990).

Com o tempo de exposição à cavidade bucal, a maturação ocorre pela incorporação de fosfato de cálcio e flúor pelo esmalte, através do contato do dente com a saliva e/ou placa dentária (BRUDEVOLD et al., 1982; IMANISHI & NISHINO, 1983; STIEFEL & BINUS, 1991).

Como a maturação nos primeiros anos após a erupção tem um papel importante na resistência do esmalte frente aos desafios cariogênicos, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da maturação pós-eruptiva em profundidade do esmalte de dentes humanos na susceptibilidade ao desafio cariogênico *in vitro*.

2 Revisão de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

Vários pesquisadores realizaram estudos para verificar a maturação pós-eruptiva do dente demonstrando que dentes jovens são mais susceptíveis à desmineralização que dentes mais velhos. Fanning et al. (1954) realizaram um estudo em animais para avaliar se a exposição normal dos molares de ratos à saliva, por diferentes períodos de tempo após a erupção, afetaria a subsequente resistência dos dentes à desmineralização. Para isto, eles realizaram dois experimentos. No primeiro experimento foram utilizados 72 ratos divididos em 6 grupos, todos desmamados aos 21 dias de idade e alimentados com ração livre de carboidrato. Os 12 ratos que pertenciam ao grupo 1 foram submetidos a remoção das glândulas salivares aos 21 dias de idade. Os grupos 2, 3, 4 e 5 correspondiam aos 10, 20, 30 e 40 dias depois do desmame, quando sofreram a cirurgia de remoção das glândulas salivares. O grupo 6 foi mantido como controle. No 61º dia, dois ratos de cada grupo foram sacrificados. Para o resto dos animais de cada grupo, foi trocada a ração por uma que fosse altamente cariogênica. Depois de 114 dias de dieta cariogênica, todos os ratos foram sacrificados e a incidência de lesões cariosas determinada. O segundo experimento foi dividido em duas partes, com um total de 90 ratos. A primeira parte foi uma repetição do primeiro experimento. A segunda parte só apresentava uma diferença com relação à primeira parte, na qual os ratos eram expostos a uma dieta altamente cariogênica no momento do desmame. Os resultados obtidos no primeiro experimento, em que ratos foram sacrificados aos 61 dias de idade, depois de permanecer 40 dias em uma dieta não cariogênica, mostraram que todos os ratos permaneceram completamente livres de lesões cariosas. Os resultados obtidos pelo restante dos ratos que permaneceram 114 dias sob uma dieta altamente cariogênica mostraram que nenhum dos ratos do grupo controle desenvolveu lesões cariosas durante este período. No entanto, nos outros 5 grupos restantes, a combinação da remoção das glândulas salivares juntamente com uma dieta altamente cariogênica resultou em um desenvolvimento apreciável de lesões cariosas, sendo que se observou uma relação da média e inversamente proporcional entre o número de lesões cariosas e a idade em que foram removidas as glândulas salivares. Os resultados obtidos no segundo experimento mostram que quanto mais precoce foi a remoção das glândulas salivares, níveis mais altos de dentes cariados foram encontrados. Os autores concluíram, a partir dos resultados

dos dois experimentos, que a exposição dos dentes à saliva durante o processo eruptivo teve uma importante influência na futura susceptibilidade à formação de lesões cariosas.

Backer (1966) realizou um estudo clínico longitudinal, no qual examinou as mudanças nas superfícies do esmalte dos dentes permanentes de 90 crianças (45 meninos e 45 meninas), acompanhando-as dos 7 aos 15 anos de idade. Foram avaliadas, separadamente, as superfícies: fossas e fissuras, faces interproximais e as faces livres. As fossas e fissuras e as faces livres, foram avaliadas visualmente com ajuda de luz, logo após de serem limpas e secas. As superfícies interproximais foram avaliadas radiograficamente. O autor encontrou que a formação de lesões cariosas em fossas e fissuras iniciou-se precocemente com uma progressão rápida. Nas superfícies interproximais, ele encontrou que as lesões de cárie começaram mais tardiamente e a progressão não foi tão rápida quando comparada às fossas e fissuras. O autor verificou que, das lesões encontradas nas superfícies proximais, 60% acometiam somente o esmalte. A progressão da lesão cariosa do esmalte para a dentina foi esperada, porém 50% das lesões não progrediam em 4 anos, 33% não progrediam em 6 anos e 26% não tiveram progressão em 8 anos. Apesar disso, muitas lesões aparentemente confinadas ao esmalte, já se encontravam em dentina. Para as crianças de 11 anos de idade, 624 lesões cariosas em esmalte foram encontradas. Já aos 15 anos de idade, 267 destas lesões ainda estavam confinadas ao esmalte. Com base neste dado, existe 57% de chance das lesões cariosas em esmalte encontradas aos 11 anos de idade progredirem para a dentina aos 15 anos de idade. Em vários estudos com animais, foi demonstrado que a suscetibilidade à formação de lesões cariosas decresce com o aumento da idade do dente. As faces livres foram examinadas clinicamente e foi verificado um alto número de lesões cariosas em 2^{os} molares logo após a erupção. No entanto, aos 13 anos de idade, estes valores decresceram. Para os primeiros molares pôde-se observar o mesmo comportamento. As lesões cariosas em todas as superfícies lisas foram detectadas logo após a erupção, sendo que apenas 16% das lesões foram vistas um ano e meio após a erupção. Nas faces livres (cervical), os sinais de lesões de cárie apareceram muito mais cedo, logo após a erupção, em comparação às outras faces. No entanto, se a mancha branca permanecia por um ano e meio após a erupção sem formar cavidade em superfície lisa, a probabilidade de se converter em cavidade foi mínima

antes dos 15 anos de idade. O autor sugeriu que o processo de maturação pós-eruptiva parece ser um fator importante para a resistência às lesões cariosas.

Aasenden (1975) comparou, mediante um estudo *in vivo*, as mudanças normais ocorridas nas concentrações de flúor da superfície vestibular do esmalte, durante os primeiros anos após a erupção. Para isto, utilizou dois tipos de amostra: (1) 94 crianças, com uma média de idade de 8,5 anos, apresentando dentes recém irrompidos e 115 adolescentes, com uma média de idade de 17,1 anos. Estas crianças moravam em uma comunidade com água de abastecimento não fluoretada (Hyannis); (2) crianças de outras 6 comunidades com uma média de 13,5 anos de idade, com diferentes concentrações de flúor na água de abastecimento, sendo entre 291 a 305 crianças por cada comunidade. Não foram considerados fatores como a freqüência de profilaxia profissional e nem a exposição das crianças ao flúor devido ao uso de dentifrícios fluoretados. As comparações foram feitas por meio de biópsia do esmalte, realizadas na superfície vestibular do incisivo central superior direito. Os resultados para a comunidade sem flúor (Hyannis) mostraram que a concentração média de flúor do grupo dos adolescentes foi estatisticamente menor que das crianças mais novas, onde os dentes eram recém irrompidos. Neste estudo foi demonstrado que esta diferença foi maior nas áreas mais superficiais que nas áreas mais profundas do esmalte. Nos resultados obtidos da biópsia do esmalte realizada na comunidade não fluoretada de Boston, uma das outras 6 comunidades, a concentração média de flúor foi menor para os mais velhos, não havendo diferença estatisticamente significativa entre eles, nem entre as profundidades. Os resultados das biópsias das 5 comunidades fluoretadas, mostraram que menores concentrações de flúor foram observadas nos dentes mais velhos. O autor encontrou que o flúor é usualmente perdido em taxas apreciáveis da superfície vestibular durante os primeiros anos logo após da erupção. Diminuições significativas na concentração de flúor no esmalte com a idade foram observadas tanto em locais com água fluoretada como não fluoretada. O decréscimo da concentração de flúor na superfície do esmalte pode ser explicado pela perda do mesmo através da abrasão dentária sofrida com o passar do tempo e/ou pela baixa incorporação de material inorgânico rico em flúor ao mesmo ao longo dos anos.

Em 1976, Crabb estudou a superfície externa de dentes permanentes não irrompidos. O autor avaliou 100 pré-molares inclusos e recém-irrompidos, dos quais foram feitos ao redor de 400 cortes longitudinais bucolinguais, de aproximadamente

100 μm de largura. Estes corpos foram examinados através de luz refletida quando colocados em água e em luz polarizada quando colocados no ar, água e em quinolina. Posteriormente, os corpos foram fotografados e projetados em transparências para análise do delineamento do esmalte em sua área mais branca (cor de giz). Além disso, réplicas tridimensionais de metacrilato de dois pré-molares foram confeccionadas e observadas por microscopia eletrônica de varredura. Por meio da luz refletida, observou-se que todos os pré-molares apresentavam uma definida camada superficial esbranquiçada que se estendia até a porção cervical, ocupando a totalidade desta região. Esta camada foi maior na superfície lingual que na vestibular, aumentando em tamanho de oclusal para cervical. Estes resultados foram confirmados pelos dados obtidos com a microscopia de luz polarizada. Nas réplicas de metacrilato, observou-se através de microscopia eletrônica de varredura, que a camada superficial do esmalte tinha um padrão fino, com aspecto de favo de mel, correspondendo dimensionalmente a uma estrutura prismática. Foi verificado que a largura média da área porosa superficial do esmalte dos dentes totalmente inclusos decresceu de 180-300 μm , para 100-180 μm logo após a erupção dos mesmos. Este trabalho demonstrou que a camada superficial do esmalte dos pré-molares é mais porosa naqueles totalmente inclusos e logo após a erupção, mostrando uma maior susceptibilidade à desmineralização.

Woltgens et al. (1981a) compararam, através das medições de cálcio, fósforo e a relação Ca:P, as mudanças na composição do esmalte produzidas logo após a erupção. Foram utilizados 10 pré-molares humanos extraídos aos 6 meses e 4 anos após a erupção. Estes dentes foram cortados em fatias longitudinais de $10 \pm 0,5$ μm de espessura. Cada fatia foi dissolvida quimicamente. Os valores de cálcio e o fósforo foram determinados. Também foram estudadas as mudanças nos conteúdos de magnésio. Os resultados obtidos mostraram que os conteúdos de Ca e P decrescem significativamente com o aumento da idade somente até a profundidade de 25 e 35 μm . A concentração de ambos foi maior nas camadas superficiais. Nos dentes mais velhos, a relação Ca:P na profundidade 35 μm foi significativamente menor que toda a média da superfície total do esmalte. Nos dentes novos o menor valor foi na profundidade de 25-45 μm , sendo menor que nas profundidades de 15 e 100 μm , porém esta diferença não foi estatisticamente significativa. Os valores de Mg aumentaram continuamente desde a superfície até 300 μm de profundidade. A partir desta profundidade o valor permaneceu constante.

Os autores concluíram que no geral, todas as medidas da relação de Ca:P foram maiores nos dentes velhos, mas esta diferença não foi estatisticamente significativa.

Woltgens et al. (1981b) estudaram a relação entre a idade pós-eruptiva e a susceptibilidade à cárie de esmalte humano *in vitro*. O estudo avaliou os níveis de cálcio e fósforo do esmalte em diferentes profundidades e no gel desmineralizador durante períodos consecutivos de desmineralização, separado em duas partes experimentais: a primeira, na qual os espécimes ficavam na solução desmineralizadora por um período de 24 horas e a segunda na qual os espécimes foram retirados da solução às 2, 4, 6, 8 e 25 horas. As idades pós-eruptivas avaliadas foram de 6 meses e de 4 anos. No primeiro experimento, não houve diferença em relação ao Ca e P liberado da camada superficial, entre as amostras com diferentes idades pós-eruptivas. Entretanto, a uma profundidade de 25-45 µm a liberação dos dois elementos foi significativamente menor nos dentes com maior idade pós-eruptiva. No segundo experimento, com relação à liberação de Ca, foi verificado que a mesma foi significativamente menor para os dentes com maior idade pós-eruptiva, sendo constante para os dois grupos nas primeiras 8 horas de desmineralização. Já a liberação de P foi maior para os dentes com mais idade pós-eruptiva nas primeiras 8 horas, mas a partir das 8 horas a liberação foi maior para os dentes recém irrompidos. A relação Ca:P liberada foi inicialmente muito alta nos dentes recém irrompidos, enquanto os níveis de Ca:P se mantiveram constantes nos dentes com maior idade pós-eruptiva. No geral, a desmineralização dos diferentes grupos ocorreu nas profundidades de 25 a 60µm, sendo os 40 µm a distância onde ocorreu a máxima liberação tanto de Ca quanto de P, dos dentes com menor idade pós-eruptiva, apresentando uma maior velocidade de desmineralização. Presume-se que a maior quantidade de hidroxiapatita defeituosa e solúvel presente nos dentes mais jovens seja a causa da maior solubilidade inicial da relação Ca:P em comparação aos dentes mais velhos.

Brudevold et al. (1982) estudaram, *in vivo*, a diferença na permeabilidade de dentes com diferentes idades pós-eruptivas. 27 crianças com uma média de 8 anos de idade e 32 crianças mais velhas com uma média de idade de 13,8 anos participaram do estudo. Eles mediram as diferenças entre a permeabilidade ao iodo das superfícies de esmalte de dentes novos e velhos. Eles encontraram que os dentes mais novos apresentavam uma maior permeabilidade em relação aos mais velhos, sendo esta diferença estatisticamente significativa. Eles concluíram que a

susceptibilidade à cárie assim como a resposta do esmalte à ação tópica do flúor é maior em dentes mais jovens que nos mais velhos. Portanto, a maturação pós-eruptiva do esmalte envolve uma diminuição na permeabilidade do mesmo.

Wotgens et al. (1983) analisaram a remineralização *in vitro* de dentes humanos com diferentes idades pós-eruptivas previamente desmineralizados. Foram utilizados 5 pré-molares humanos com idades pós-eruptivas de 6 meses e de 3 a 4 anos, previamente desmineralizados, os quais foram submetidos à remineralização por 3 dias a 37 ° C em uma solução remineralizadora contendo Ca^{2+} 2 mM, fosfato 1,2 mM, F 0,05 M e NaCl 150 mM (pH = 7). Os valores de Ca, P e a relação Ca:P foram medidos em diferentes profundidades no esmalte. Os resultados obtidos apontaram que houve uma diminuição do ganho geral da Ca com o aumento da idade eruptiva. O ganho de Ca ocorreu ao longo de toda a lesão com maior incorporação nos dentes com idade eruptiva de 6 meses e 3 anos a 30µm . Nos dentes com idade eruptiva de 4 anos houve incorporação de Ca apenas na superfície do esmalte. O mesmo ocorreu para o ganho de P. Nenhuma diferença pode ser encontrada na relação Ca / P molar, sugerindo que houve a precipitação de um mineral de apatita em ambos os esmaltes desmineralizados, jovens e velhos. Os autores concluíram que a natureza provável do precipitado é de uma hidroxiapatita fluoretada, a qual se deposita de maneira diferente de acordo com a idade do dente e sugerem que a maturação coincide com um aumento na resistência a cárie dentária.

Fejerskov et al. (1984) realizaram um estudo para avaliar a ultraestrutura da superfície madura de esmalte de dentes inclusos. Foram utilizados terceiros molares não irrompidos de pacientes em torno dos 20 anos de idade. O esmalte foi avaliado por microscopia eletrônica de varredura. Eles encontraram que a superfície do esmalte apresentava uma grande variedade de irregularidades no momento da erupção, como microporos, pequenas fissuras com bordas arredondadas, processos de Tomes altamente irregulares e porosos, pequenas elevações e protruções, que podem deixar o esmalte mais suscetível a danos. Os microporos apresentavam em média um diâmetro de 10-15 µm com uma profundidade de 7-10 µm, sendo alguns com formato de crateras. As superfícies das elevações ou protruções variavam de lisas a altamente porosas. Estas irregularidades se encontravam em maior proporção nas áreas supracervicais e centrais da coroa do dente. Eles observaram que a superfície madura do esmalte da porção central da coroa foi muito mais

porosa no momento da erupção que a porção cervical do mesmo. Estas irregularidades deixam o dente mais susceptível a agressões. Eles concluíram que a superfície do esmalte humano na hora da erupção é altamente porosa com uma variedade de vias de difusão para a sua subsuperfície.

Thylstrup et al. (1984) estudaram a superfície morfológica do esmalte incluso e recém irrompido, através da microscopia eletrônica de varredura. Eles encontraram que o dente incluso apresentava uma grande variabilidade de clássicas irregularidades do desenvolvimento na sua superfície como as periquimáceas, processo de Tomes, poros e microfissuras. Este esmalte também apresentava grandes espaços intercristalinos, dando a impressão de que a superfície do esmalte comportar-se como um sólido poroso. Os dentes recém-irrompidos apresentaram estas mesmas irregularidades, mas os espaços intercristalinos eram menores e a configuração e posição dos prismas de esmalte era muito menos uniforme do que a dos dentes não irrompidos. Eles concluíram esmalte incluso e o recém erupcionado apresentam pequenas diferenças de morfologia.

Kidd et al. (1984) realizaram um estudo *in vitro* para comparar a susceptibilidade à cárie de dentes novos e velhos expostos ao mesmo protocolo para produção de cárie artificial. Para isto, dois grupos de 10 dentes hígidos foram utilizados. Grupo 1 foi composto por pré-molares recém irrompidos extraídos por motivos ortodônticos de pacientes jovens e Grupo 2 por pré molares velhos extraídos por motivos periodontais, de pacientes com mais de 65 anos. Os espécimes de esmalte foram pintados com um verniz resistente ao ácido, deixando uma janela exposta na face vestibular. Os dentes foram submersos em gel de ácido láctico (pH 4,0), contendo 0,45ppm F por 10 semanas. Logo após este período, os espécimes foram cortados longitudinalmente e analisados através de microscopia de luz polarizada. Os resultados mostraram que a desmineralização do esmalte de dentes mais velhos foi maior que a dos dentes novos. Os dentes velhos apresentavam ausência de definição dos limites das lesões cariosas. Além disso, o esmalte dos dentes velhos apresentou-se mais fino, sendo esta diferença estatisticamente significativa. A análise do flúor da superfície do esmalte mostrou que o esmalte novo apresenta maior concentração deste elemento que o esmalte velho. Estes resultados mostraram que os dentes mais velhos não necessariamente devem ser considerados como mais resistentes aos ataques ácidos.

Driessens et al. (1985) estudaram os conteúdos de Na e Mg da superfície do esmalte de dentes humanos inclusos, durante o processo de erupção e um tempo após a erupção. Para isto, foram avaliados dois terceiros molares parcialmente irrompidos, dois pré-molares com um ano e meio de erupção, dois pré-molares com 3,5 anos de erupção e um pré-molar não irrompido. Os dentes foram cortados verticalmente no sentido buco-lingual e foram analisados os conteúdos de Ca, P, Na e Mg através de uma microsonda elétrica. Entre os dentes analisados, não foi detectado sinal de mineralização incompleta da superfície do esmalte. Eles encontraram que o conteúdo de Na na superfície do esmalte de terceiros molares semi-irrompidos variou de 60 a 80% até 100 µm de profundidade e o de Mg variou de 50 a 70% do seu conteúdo até 100 µm de profundidade. No entanto, para os pré-molares com um ano e meio de erupção, os conteúdos de Na e Mg encontrados nos 100 µm de profundidade foram bem menores, principalmente nas profundidades de 15 e 30 µm. Para os pré-molares extraídos com 3,5 anos após a erupção, os resultados foram similares ao grupo anterior. Os conteúdos de Ca e P permaneceram constantes nos 100 µm de todos os grupos estudados. Os resultados sugerem que a permeabilidade do esmalte após a erupção se torna bem menor, especialmente pela maturação do mesmo e a formação de fosfato de cálcio, reduzindo-se as quantidades de Na e Mg, tornando a hidroxiapatita menos solúvel.

Woltgens et al. (1990) analisaram se a paralisação ou regressão da lesão de cárie em dentes permanentes humanos dependeriam significativamente da idade de maturação pós-eruptiva do esmalte e se poderiam estar associadas a porosidades e condições minerais da superfície do mesmo, logo após a erupção. Para isso foram analisadas 492 crianças com idades entre 4-16 anos. Com auxílio de um espelho e uma sonda, todas as superfícies vestibulares e linguais e as fissuras dos molares permanentes foram examinadas. Este exame foi repedido a cada 6 meses, o primeiro exame foi realizado no momento da erupção do dente, a cada exame foi verificado se (1) o esmalte permaneceu hígido, (2) o esmalte apresentou início de mancha branca, (3) o esmalte apresentou cavidade, (4) o esmalte apresentou mancha branca com remineralização, (5) mancha branca estabilizada, (6) mancha branca com desenvolvimento de cavidade. Os dentes com hipocalcificações do esmalte, lesões não cariosas e más formações do esmalte decorrente de alteração sistêmica foram excluídos da pesquisa. A progressão de uma mancha branca para cavidade, que pôde ser observada no estudo quase que

exclusivamente nas fissuras. Uma possível explicação para tal fenômeno é que a remineralização de tais manchas brancas poderia ser dificultada pela retenção de alimentos e ácidos na região das fissuras. Por outro lado, eles observaram que a porcentagem de mancha branca no esmalte decresceu durante a erupção, ou seja, durante a maturação pós-eruptiva do esmalte.

Kotsanos & Darling (1991) realizaram um estudo *in vitro*, para avaliar se o esmalte dentário, de fato, torna-se menos susceptível à cárie com o passar dos anos, por influência da maturação pós-eruptiva. Foram avaliados 10 terceiros molares inclusos, 19 pré-molares com 0-3 anos de erupção, 18 pré-molares com 4-10 anos de erupção, 5 pré-molares com 11-30 anos de erupção e 14 pré-molares com mais de 30 anos de erupção. Os dentes foram submetidos à formação de lesões cariosas artificiais *in vitro* através da imersão de cada espécime a 100ml de gel com ácido láctico, pH 4,5, por 130 dias. Na sequência, os dentes foram cortados e avaliados com luz polarizada, pela qual foram feitos mapas com o contorno da porosidade das lesões. Além disso, foram mensurados os conteúdos de flúor em aproximadamente 20 µm de profundidade. Os resultados mostraram que conforme a idade pós-eruptiva aumentava, diminuía-se a profundidade das lesões e a porosidade das camadas mais superficiais. Os dentes inclusos mostraram uma maior expansão em lateralidade da área da lesão, além dos limites que definiam a área experimental, em comparação às outras idades. Em relação ao conteúdo de flúor, os autores encontraram que os dentes recém irrompidos (0-3 anos de erupção) apresentaram um conteúdo de flúor quase duas vezes maior que os dentes inclusos. Concluiu-se que existe uma diminuição na susceptibilidade do esmalte à formação de lesões de cárie artificiais com o passar dos anos de erupção, e que as lesões de cárie presentes nos dentes mais jovens apresentaram-se mais profundas, e as lesões de cárie em dentes mais velhos apresentaram-se mais superficiais.

Gängler et al. (1993) realizaram um estudo *in vitro*, com o objetivo de determinar a susceptibilidade de dentes permanentes jovens recém-irrompidos e de dentes permanentes mais velhos, à formação de cárie artificial. Dois grupos de dentes hígidos foram utilizados, sendo o grupo 1 formado por 38 pré-molares extraídos por motivos ortodônticos, de crianças de 9 a 12 anos; grupo 2 formado por 40 pré-molares e incisivos extraídos por motivos periodontais de pacientes de 45-65 anos. Estes dentes foram submetidos à desmineralização *in vitro* no gel de ácido láctico, pH 4,9, por 8 dias e foram analisados por microscopia de luz polarizada e

espectroscopia de massa com íons secundários. Os resultados mostraram que todos os dentes, independentemente da idade, mostraram macroscopicamente manchas brancas. Nos dentes mais novos, as lesões de cáries pareciam ter um desenvolvimento uniforme. Entretanto, os dentes mais velhos apresentavam uma zona superficial mais fina. Por meio da espectroscopia de massa com íons secundários, observaram que os níveis de carbono nos dentes mais velhos foram menores quando comparados aos dentes mais novos. Adicionalmente, os dentes mais velhos apresentaram níveis maiores de potássio e flúor na superfície, sendo o flúor encontrado em uma profundidade de até 40 µm, enquanto que o potássio mostrou níveis significantes até a profundidade de 15 µm. Os autores concluíram que fatores como variações de desenvolvimento do esmalte dentário e malformações são os principais fatores de alta variabilidade individual de formação de lesão cariiosa.

Schulte et al. (1999) realizaram um estudo clínico para avaliar se os valores da resistência elétrica das fossas e fissuras de pré-molares variavam depois da erupção. Para isto, foram utilizados 66 pré-molares de 18 crianças entre 8 e 14 anos de idade. A primeira medição foi feita quando o pré-molar tinha menos de um ano de erupção. Três tipos de medidas foram feitas: com o dente umedecido pela saliva, com o dente umedecido com água destilada e com o dente umedecido com soro fisiológico. Esta medida foi repetida a cada 3-6 meses até completar 24 meses de idade pós-eruptiva. Foram feitas em média 3,2 medidas para cada dente. A média do valor da resistência dos pré-molares, independentemente do tratamento da superfície, aumentou continuamente desde a erupção até o décimo quinto mês após a erupção, sendo este o valor máximo obtido. Encontrou-se que a diferença deste valor máximo, quando comparado com o valor obtido nos primeiros 3 meses de idade pós-eruptiva, foi estatisticamente significativa. Eles concluíram que o aumento da resistência elétrica aconteceu devido à maturação pós-eruptiva do esmalte. Além disso, este método possibilitou o estudo da maturação pós-eruptiva do esmalte *in vivo* de forma controlada e não invasiva.

Margolis et. al. (1999) realizaram um estudo para descrever a cinética de desmineralização do esmalte. Para isso cortes finos (160-180µm) de molares e pré-molares humanos foram realizados. Os cortes foram expostos a solução de ácido láctico a 0,1mol/L com valores de pH entre 4,3 e 6,0 e com diferentes graus de saturação de ácido láctico, cálcio e fostafo. A desmineralização foi avaliada por

microradiografia. Lesões bem definidas foram encontradas para os grupos com as soluções com pH entre 4,3 e 5,0; não encontrou-se lesão aparente com a solução de pH 6,0. A perda mineral foi maior nos cortes que foram submetidos ao desafio cariogênico em solução menos saturada em relação ao esmalte dentário. Os resultados deste estudo *in vitro* podem sugerir que diferenças relativamente pequenas no grau de saturação do fluido da placa bacteriana podem resultar em diferenças muito significativas na desmineralização do esmalte *in vivo*.

Em 2000, Ten Bosch et al. avaliaram, *in vivo*, a porosidade do esmalte, das superfícies oclusais de molares recém irrompidos, através da condutância elétrica, em um período de 18 meses. Participaram do estudo 50 crianças entre 5 a 15 anos de idade, nas quais o primeiro molar permanente (entre 5 e 6 anos de idade) ou o segundo molar permanente (entre 11 e 15 anos de idade) não se encontravam presentes na cavidade bucal em um período de 6 meses antes do estudo. A primeira medição da condutância elétrica das fissuras, depois da erupção, foi utilizada como valor referencial. As análises foram repetidas a cada 6 meses, durante 3 anos. Depois dos 36 meses do estudo, os valores da condutância elétrica mostraram uma significativa diminuição em comparação à primeira medição. Este estudo mostrou quantitativamente a diminuição da porosidade pós-eruptiva da superfície oclusal do esmalte de molares hígidos, sendo o fator de diminuição 2,2 em um período de 36 meses, e a metade deste valor em um período de 20 a 30 meses.

Cury (2001) relatou que a concentração de carbonato nos dentes recém irrompidos é mais alta, comparando-se aos dentes já expostos ao meio ambiente bucal por um período de tempo. Concentrações altas de carbonato permitem uma progressão mais rápida da desmineralização. Por outro lado, isto não quer dizer que a formação e progressão da cárie nos dentes recém irrompidos não possa ser controlada. Quando um dente irrompe, as estruturas minerais do esmalte ficam sujeitas às variações de pH e saturação do meio ambiente bucal. A saliva por apresentar cálcio e fosfato, os principais minerais componentes da estrutura cristalina dos dentes, protege naturalmente o esmalte. Existe um dinamismo entre a composição dos dentes, suas propriedades físico-químicas e o meio ambiente bucal. Assim, variações do pH determinam o limite da capacidade da saliva em proteger os dentes.

Kataoka et. al. (2007) investigaram o processo de maturação pós-eruptiva, através da resistência elétrica, durante 66 meses após a erupção de primeiros molares permanentes hígidos, para uma estimativa da duração deste processo. Foram selecionadas 68 crianças na faixa dos 6 anos de idade, examinadas a cada 6 meses, totalizando 10 avaliações após 4,5 anos do início do estudo. A análise foi realizada por três examinadores, sob iluminação apropriada e utilizando cadeiras escolares em ambiente aberto. Foram examinados ainda, 53 molares hígidos de adultos na faixa dos 24 anos de idade, utilizando-se o mesmo método, para comparação com os resultados obtidos das crianças. A análise foi realizada por exame visual e condutância elétrica (ECM), utilizando-se dois ou três pontos predeterminados nas fissuras dos molares estudados. Os resultados mostraram que à medida que a maturação pós-eruptiva progrediu, os dentes adquiriram maior resistência elétrica. No entanto, baseando-se nos valores da resistência elétrica em molares com 61-66 meses de erupção, comparados aos valores dos molares de indivíduos adultos, pôde-se observar que os valores da resistência elétrica foram inferiores. Os autores consideraram a maturação do esmalte é incompleta, mesmo aos 66 meses após a erupção.

Ainda em 2007, Arnold & Gaengler investigaram a distribuição do Ca, P e C na pré-dentina, dentina e esmalte de germes dentários e dentes permanentes humanos já formados. Para isto utilizaram-se da mandíbula de um feto de 16 semanas, contendo oito germes dentários e três dentes permanentes humanos formados, a qual foi cortada fronto-dorsalmente e analisada através de luz polarizada. Os dentes permanentes foram cortados mesio-distalmente. Os cortes foram analisados através de microscopia eletrônica de varredura e do método EDX. Os valores relativos de Ca e P aumentaram da pré-dentina em direção à dentina e da superfície do esmalte em processo de mineralização ao esmalte maduro presente na junção amelo-dentinária, enquanto que o conteúdo de C decresceu significativamente. A mineralização do esmalte difere da presente na dentina, onde os prismas de esmalte uma vez formados, não podem mais ser remodelados. Após a formação dos prismas de esmalte, apenas a quantidade de hidroxiapatita entre os mesmos pode aumentar. A quantidade total de Ca e P presente na dentina e esmalte dos dentes permanentes formados foi significativamente maior do que a encontrada nos germes dentários em desenvolvimento. Pelos resultados obtidos os autores puderam concluir que existe uma possível maturação do esmalte após a

formação dos prismas de esmalte, apesar de os mecanismos de transporte de íons não esteja ainda bem definido.

No estudo realizado por Palti et al. (2008) avaliou-se *in situ* a desmineralização do esmalte de dentes com diferentes idades eruptivas, submetidos a alto desafio cariogênico, com e sem remoção do biofilme dentário, por análise da microdureza superficial e longitudinal. Foram avaliados 134 espécimes de esmalte humano de pré molares com 2-3 anos, 4-10 anos e mais de 10 anos de erupção e molares inclusos. Após a análise da microdureza superficial, os espécimes foram submetidos a desafio cariogênico *in situ* por 14 dias. Para esta fase foram selecionados doze voluntários, os quais utilizaram um dispositivo intrabucal palatino com espécimes. Os voluntários aplicaram, 8 vezes ao dia, uma gota solução de sacarose a 20% sobre cada bloco de esmalte a cada 2 horas. No 7º dia, o dispositivo palatino era recolhido, no início da manhã, para a realização da profilaxia profissional, em apenas um lado do dispositivo com jato de bicarbonato de sódio. Foram analisadas a microdureza superficial e longitudinal do esmalte. Neste estudo o esmalte incluso se mostrou mais desmineralizado em toda sua extensão e foi observada uma maior diferença de dureza em relação aos demais grupos de idades nas camadas mais profundas (até 330µm), principalmente em relação aos dentes com mais de 10 anos de erupção. Diante destes resultados duas hipóteses poderiam ser sugeridas. A primeira hipótese seria de que o esmalte do dente incluso encontra-se menos mineralizado em toda a sua extensão, sendo esta uma situação de normalidade para o estágio em que o dente se encontra. A segunda de que a superfície do esmalte no período da erupção encontra-se mais porosa e composta por cristais mais solúveis, permitindo uma maior desmineralização superficial e conseqüente penetração dos ácidos em profundidade. Os autores sugeriram a importância de se analisar a dureza longitudinal da mesma amostra, mas hígida.

Na seqüência, Cardoso et al. (2009) avaliaram *in vitro* a maturação do esmalte em profundidade, de dentes hígidos com diferentes idades eruptivas (antes da erupção na cavidade bucal; 2 a 3 anos após a erupção; 4 a 10 anos após a erupção; e com mais de 10 anos após a erupção) por meio da microdureza longitudinal. Para isso, foram utilizados 12 espécimes de esmalte de dentes hígidos humanos para cada idade eruptiva. Foi realizada a comparação entre a microdureza longitudinal das diferentes idades e entre as diferentes profundidades e pôde-se constatar diferença estatisticamente significativa entre os diferentes grupos de

idades, em todas as distâncias estudadas, com exceção das distâncias de 110 e 220 μm , quando foram comparados pré-molares de 2-3 anos com pré-molares de 4-10 anos de erupção. Com relação às diferentes profundidades, houve diferença estatisticamente significativa entre a profundidade de 10 μm e o restante das profundidades para o grupo dos molares inclusos. Concluiu-se que houve diferença entre a microdureza longitudinal dos espécimes de esmalte com diferentes idades pós-eruptivas em todas as profundidades estudadas, evidenciando-se um comportamento crescente da mineralização quanto maior a idade eruptiva. Pôde-se observar ainda uma tendência crescente dos valores da microdureza quanto maior a profundidade do esmalte, em todos os grupos de idade estudados.

Sabel et al. (2009) analisaram as concentrações de alguns elementos, C, F, Na, Mg, Cl, K e Sr, em incisivos decíduos humanos em diferentes estágios de mineralização através da espectrometria de massas de íons secundários. Os dentes foram provenientes de um material de autópsia de 6 crianças que tiveram morte súbita infantil. Imediatamente após a extração, os dentes foram colocados na solução de formaldeído a 4%, incluídos em resina epóxi, em seguida, armazenados por 24 horas em etanol. Os dentes foram cortados em duas metades no sentido vestibular-lingual. Todos os dentes foram previamente examinados histologicamente, foram descartados os que apresentaram defeitos de desenvolvimento. Seis incisivos centrais foram analisados de crianças com 1, 2, 3, 4, 6 e 19 meses de idade. O único dente considerado erupcionado foi o que pertencia a crianças com 19 meses de idade. Os espécimes foram polidos e foram revestidos com uma fina camada de ouro por deposição através de vapor, a fim de evitar o acúmulo de carga de superfície durante a análise. A análise de espectrometria de massa iônica secundária foi realizada com uma sonda iônica. A área analisada foi de 50 μm e 16 μm , correspondente ao diâmetro do feixe de íons primário. A análise foi realizada a partir da superfície de esmalte até 5 μm acima da junção dentina-esmalte. Os resultados apontaram que uma menor concentração de carbono na superfície em todos os espécimes. Porém, as amostras de crianças com 19 meses de idade apresentaram menor conteúdo de carbono em profundidade em comparação com sua própria superfície do esmalte. A concentração de flúor variou através do esmalte em todos os espécimes. No esmalte superficial, os espécimes de 19 meses de idade apresentaram um aumento acentuado na concentração de flúor. A concentração de sódio foi a mais elevada em todos os elementos estudados, apresentando valores

maiores nos espécimes imaturos. A concentração de magnésio foi menor nos espécimes imaturos comparados aos espécimes maduros. O cloro foi o único elemento que se apresentou semelhante em todas as profundidades de esmalte imaturo e maduro. O Potássio foi encontrado com menor concentração nos espécimes imaturos. Na superfície, todos os espécimes imaturos apresentaram menor concentração de todos os elementos mensurados comparados com a superfície dos espécimes com 19 meses de idade. Os efeitos da maturação pós-eruptiva são especialmente importantes na superfície do esmalte.

3 Proposição

3 PROPOSIÇÃO

Este estudo teve dois objetivos:

- Avaliar a maturação pós-eruptiva do esmalte de dentes humanos com diferentes idades (não irrompido, de 1 a 6 meses de erupção e de 2-3 anos de erupção), por meio da análise da microdureza longitudinal.
- Avaliar o efeito da maturação pós-eruptiva do esmalte na susceptibilidade à desmineralização do esmalte *in vitro*, utilizando gel acidificado.

4 Material e Métodos

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DOS DENTES

O dente é um órgão do corpo humano e, como tal, está submetido à Lei de Transplantes Brasileira (lei 9434 de 04/02/1997), a qual prevê pena de 3 a 8 anos de reclusão e multa para quem remover, *post-mortem*, órgãos, tecidos e partes do corpo humano de pessoas não identificadas. O Código Penal também prevê pena de 1 a 3 anos de reclusão para aqueles que violarem sepultura (Artigo 210) e o Conselho Nacional de Saúde exige os termos de consentimento livre e esclarecido dos sujeitos como forma de "respeito à dignidade humana" (Resolução 196 de 10/10/1996).

No presente estudo, os dentes foram coletados no HRAC/USP e clínica de Cirurgia da FOB/USP, após o esclarecimento e livre-consentimento dos doadores, segundo resolução do Comitê de Ética em Pesquisa da FOB-USP (Anexo 1). Logo após a extração, os dentes foram limpos com curetas e colocados em solução fisiológica com timol a 0,1% neutra (Departamento de Bioquímica da FOB-USP). Para o presente estudo foram necessários 6 dentes hígidos humanos de cada idade eruptiva: 3^{os} molares permanentes não irrompidos, 3^{os} molares permanentes com 1 a 6 meses de erupção e 3^{os} molares permanentes com 2 a 3 anos de erupção, (Figura 1). Os dentes com esmalte trincado ou manchado foram desprezados.

Figura 1. Dentes com diferentes idades eruptivas. Terceiros molares não irrompido, com 1 a 6 meses de erupção e com 2 a 3 anos de erupção

4.2 PREPARO DOS ESPÉCIMES DE ESMALTE

Os dentes foram fixados com godiva termoativada (Kerr Corporation, USA) em uma pequena placa de acrílico cristal (40mm X 40mm X 5mm) para facilitar a adaptação na máquina de corte. A placa de acrílico foi acoplada em um aparelho de corte de precisão ISOMET Low Speed Saw (Bulher Ltda., Lake Bluff, IL, USA). O corte foi realizado com o auxílio de dois discos diamantados de dupla face – XLI 2205, “high concentration”, 102mm X 0,3mm X 12,7 mm (Extec Corp., Enfield, CT, USA / Ref: 12.205) e um espaçador de aço inoxidável (7cm de diâmetro, 4mm de espessura e orifício central de 1,3cm) colocado entre os discos. As coroas foram separadas dos remanescentes radiculares. Na sequência, seccionou-se a porção cervical da coroa do dente humano transversalmente para obtenção de fatias de 4 mm de altura. O corte dos dentes foi realizado com velocidade de 300 rpm, sob refrigeração com água deionizada. Os espécimes de esmalte 4x4 mm foram obtidos a partir de cortes destas fatias das coroas, englobando as superfícies lisas dos dentes (vestibular e lingual). Portanto, de cada dente foram obtidos 2 espécimes (Figuras 2 a 4).

Figura 2. Dente na máquina de corte

Figura 3. Fatia do dente cortado

Figura 4. Espécime de esmalte (vestibular e lingual, 4x4 mm)

Na seqüência, a dentina foi submetida a uma planificação, possibilitando a fixação dos espécimes de esmalte paralelamente aos discos de acrílicos. Para tal, os espécimes foram fixados com cera pegajosa em discos de acrílico de 30 mm de diâmetro por 8 mm de espessura, com a superfície da dentina exposta. A dentina foi planificada em uma Politriz Metalográfica com um sistema múltiplo capaz de realizar o polimento automático de 6 corpos de prova (APL 4, Arotec, Cotia, SP) com o uso de uma lixa de carbeto de silício de granulação 320 (Extec. Corp.), em baixa velocidade, durante período de 5-10 segundos. Em seguida, os blocos foram retirados da placa e esta limpa com xilol (Pharmácia Específica manipulação de fórmulas, Bauru - SP), para remover resíduos de cera. A superfície do esmalte não foi planificada.

Os espécimes foram armazenados sob refrigeração a 4°C em recipientes de plástico fechados, separados por gaze umedecida em água deionizada. Cada espécime teve 2/3 da superfície do esmalte protegida com esmalte cosmético de unha vermelho para possibilitar a obtenção de uma superfície controle (hígida que não foi exposta aos desafios cariogênicos) (Figura 5).

Figura 5. Amostras pintadas

4.3 DESAFIO CARIOGÊNICO *IN VITRO*

Cada grupo de dentes apresentou 12 espécimes de esmalte (terceiros molares não irrompidos; com 1 a 6 meses de erupção e com 2 a 3 anos de erupção), os quais foram submetidos ao desafio cariogênico *in vitro* através do gel acidificado.

O gel de metilcelulose 8% foi manipulado em farmácia. O bloco foi colado em um pote de J10 utilizando esmalte cosmético de unha vermelho, sendo coberto com uma camada de gel (0,5 cm), o qual permaneceu sobre o bloco por 12h, na câmara fria, a 4°C. Na seqüência, foi adicionado o mesmo volume de ácido láctico a 0,1M (Sigma), pH 4,6 ajustado com KOH 10 M (0,5 cm=1,5ml), permanecendo sobre o bloco por 14 dias, na estufa, a 37°C (TEN CATE et al., 1996; LYNCH & TEN CATE, 2006) (Figura 6 e 7).

Figura 6. Espécimes imersos no gel de metilcelulose com ácido láctico, pH 4,6, 37°C, 14dias (37° C)

Figura 7. Estufa para armazenamento das amostras

4.4 ANÁLISE DA MICRODUREZA LONGITUDINAL DO ESMALTE

Os espécimes foram fixados com godiva termoativada (Kerr Corporation, made in USA) em uma placa de acrílico cristal (40mm X 40mm X 5mm), para facilitar a adaptação na máquina de corte de precisão ISOMET Low Speed Saw (Bulher Ltda., Lake Bluff, IL, USA). Foi realizada uma secção longitudinal perpendicular à linha que divide superfície hígida da protegida, no centro dos espécimes, utilizando-se um disco diamantado dupla face – XLI 2205, “hight concentration”, 102mm X 0,3mm X 12, 7mm (Extec Corp., Enfield, CT, USA / Ref: 12.205), sob refrigeração com água deionizada (Figuras 8 e 9). Em seguida, uma metade de cada espécime foi incluída em 5g de resina acrílica (Buehler Transoptic Powder, Lake Bluff, Illinois, USA), utilizando-se uma embutidora metalográfica (AROTEC PRE 30S), sob pressão de 150Kgf/cm², com um tempo de aquecimento de 7 minutos e de esfriamento, de 7 minutos. Os espécimes foram fixados com o plano longitudinal de corte voltado para a superfície de resina acrílica com cola adesiva (super bonder – Loctite) sendo 1/3 da superfície cariada e 2/3 hígida (Figuras 10 e 11).

Todos os corpos de prova foram submetidos a um processo de polimento das superfícies de esmalte e dentina internas, objetivando-se planificá-las e

regularizá-las. Para este procedimento foi utilizada lixa de silicone carbide de granulação 320, em baixa velocidade, sob refrigeração com água deionizada, com 2 pesos, por 1 a 4 minutos; seguida pela lixa de silicone carbide de granulação 600, nas mesmas condições, porém em velocidade alta, pelo tempo de 2 a 4 minutos. Por fim, o polimento foi realizado com lixa de silicone carbide de granulação 1200, em velocidade alta, sob refrigeração em água deionizada, com 2 pesos, por 2 a 5 minutos; seguida pelo feltro umedecido com uma suspensão de diamante de 1 μ m, durante 5 minutos, com dois pesos, a alta velocidade, utilizando a mesma politriz metalográfica citada anteriormente (Figuras 12 e 13).

Para impedir que os grãos das primeiras lixas interferissem na qualidade do polimento das seguintes, entre cada etapa de polimento, o conjunto dente/disco foi levado a um aparelho de ultra-som T7 Thornton, com frequência de 40 KHz, durante 2 minutos, com água deionizada. Ao final do polimento dos blocos, este procedimento foi repetido.

Figura 8. Preparo das amostras para corte ao meio

Figura 9. Corte das amostras ao meio

Figura 10. Inclusão dos espécimes em discos de resina acrílica utilizando a embutidora

Figura 11. Amostras embutidas

Figura 12. Polimento das superfícies internas das amostras

Figura 13. Amostras preparadas com uma parte hígida e outra desmineralizada

A Microdureza longitudinal do esmalte foi avaliada utilizando-se um microdurômetro (HMV- 2000/ Shimadzu Corporation, Japan) acoplado a um microcomputador e um software específico para a análise das imagens (Cams-Win-New Age Industries/ USA) (Figuras 14 e 15). Foi utilizado um penetrador diamantado piramidal, tipo Knoop, com carga estática de 25 g, aplicada por 10 segundos. Três impressões foram feitas, em uma distância de 100 μm entre estas no sentido horizontal, nas profundidades de 10, 30, 50, 70, 90, 110 e 220 μm em relação à superfície na porção desmineralizada e duas impressões foram feitas, em uma distância de 500 μm no sentido horizontal a partir do final da parte desmineralizada, nas mesmas profundidades uma de cada lado da porção hígida (Figura 16). As impressões foram realizadas na porção central das áreas hígidas e cariadas. Os tamanhos das endentações foram marcados com duas linhas pontilhadas que aparecem na tela do computador que deveriam sobrepor os vértices agudos do losango correspondente à impressão, determinando o comprimento da maior diagonal (Figura 17). Os resultados da dureza Knoop (D) foram obtidos automaticamente pelo software através do cálculo da seguinte equação:

$$\text{KHN} = C.c/d^2$$

Sendo: KHN = valor de dureza Knoop

C (constante) = 14,230

c = carga de 25 gramas

d = comprimento da maior diagonal da impressão

Foram obtidas as médias de dureza de cada profundidade para as áreas híginas e desmineralizadas. Na sequência, calcularam-se a média da dureza da área hígina considerando todas as medidas; a área integrada da lesão [(D10 + D30)*10/ (D30 + D50)*10/ (D50 + D70)*10/ (D70 + D90)*10/ (D90 + D110)*10/ (D110 + D220)*55]; o delta KNOOP [soma do cálculo da área integrada da porção hígina – a área integrada de todas as profundidades inferiores cariadas] e a profundidade da lesão [profundidade em que a dureza se aproxima da superfície hígina da amostra (µm)], utilizando fórmulas para comparação dos valores de dureza hígina e desmineralizada na mesma profundidade.

Figura 14. Microdurômetro

Figura 15. Leitura no microdurômetro

Figura 16. Endentações (10-220 μm de profundidade)

Figura 17. Medida da diagonal

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Os dados referentes à média da dureza da área hígida, ao delta KNOOP e à profundidade da lesão foram tabulados em planilhas de Excel para cada grupo de dentes. Programas do Graph Pad Software (San Diego, USA) foram utilizados para a análise estatística. Verificou-se se os dados apresentaram distribuição normal e homogeneidade (teste de Bartlett/ teste de Kolmogorov e Smirnov). Após esta verificação, foram aplicados os testes Kruskal-Wallis e Dunn para dureza da área hígida e profundidade das lesões provocadas pelo gel; já para o delta KNH das lesões provocadas pelo gel foram aplicados ANOVA e teste de Tukey. ANOVA a **dois critérios** e o **teste de Bonferroni** foram aplicados para análise da dureza da parte hígida e desmineralizada por profundidade. O número amostral foi de 12 e o nível de significância adotado em todos os testes de 5%.

5 Resultados

5 RESULTADOS

A tabela 1 mostra os valores das médias e desvio-padrão da profundidade de lesão cariiosa, da microdureza da parte hígida e da perda mineral integrada do esmalte dos grupos submetidos à desmineralização com o gel acidulado.

Tabela 1 - Média e desvio padrão da profundidade de lesão cariiosa (μm), da microdureza da parte hígida (KHN) e da perda mineral integrada do esmalte (Delta KHN) dos grupos submetidos à desmineralização com o gel acidulado

	Incluso	1-6 meses	2-3 anos
Profundidade (μm)	82 $\pm$ 10 ^a	78 $\pm$ 10 ^a	73 $\pm$ 8 ^a
Dureza (KHN)	333 $\pm$ 38 ^a	356 $\pm$ 28 ^{ab}	383 $\pm$ 36 ^b
Delta KHN	13.567 $\pm$ 2.422 ^a	13.332 $\pm$ 2.434 ^a	14.019 $\pm$ 2.030 ^a

*Valores dentro da mesma fileira que apresentam letras distintas mostram diferenças entre os grupos de dente

Por meio da análise do teste Kruskal-Wallis e Dunn, pôde-se constatar com relação à microdureza interna hígida que o grupo de dentes incluso apresentou média da microdureza estatisticamente menor que a do grupo de dentes com 2-3 anos de erupção ($p < 0,05$).

Em relação à formação da lesão cariiosa, nenhum grupo diferiu entre si, mostrando que o gel acidulado provocou perdas similares de microdureza por profundidade entre os grupos (Profundidade de lesão e Delta KHN) ($p > 0,05$).

A tabela 2 apresenta os valores da microdureza longitudinal entre os diferentes grupos de dente e profundidade da porção hígida do esmalte dos dentes submetidos ao desafio cariogênico com o gel acidulado.

Tabela 2. Valores de médias da microdureza longitudinal, em KHN dos grupos, nas diferentes profundidades do esmalte hígido

Distância (µm)	Incluso	1-6 meses	2-3 anos
10	208,4±69,9 ^{Aa}	210,9±64,8 ^{Aa}	237,2±78,0 ^{Aa}
30	328,4±57,8 ^{Ab}	339,7±43,5 ^{Ab}	386,8±45,9 ^{Ab}
50	353,3±35,5 ^{Ab}	377,7±38,4 ^{Abc}	410,7±48,3 ^{Ab}
70	351,9±51,3 ^{Bb}	380,4±50,5 ^{ABc}	405,2±47,3 ^{ABb}
90	368,4±45,0 ^{Ab}	384,2±35,9 ^{Ac}	403,8±47,9 ^{Ab}
110	364,8±46,1 ^{Bb}	392,3±37,9 ^{ABc}	421,6±30,7 ^{ABb}
220	357,7±45,2 ^{Bb}	406,1±39,6 ^{ABc}	415,3±42,8 ^{ABb}

* Letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatística entre os grupos de dentes (linha).

* Letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatística entre as profundidades (coluna).

ANOVA a 2 critérios seguida pelo teste Bonferroni mostrou que houve diferença entre os dentes ($p=0,002$, $F=5,80$) e entre as profundidades ($p<0,0001$, $F=126,3$).

Com relação a comparação entre as profundidades, de uma forma geral, todos os dentes apresentaram valores de microdureza significativamente menores aos 10µm comparados as outras distâncias.

Com relação a comparação entre os dentes, estes, independentemente da idade, não apresentaram diferenças entre si.

A tabela 3 apresenta os valores da microdureza longitudinal entre os diferentes grupos e profundidade do esmalte desmineralizado dos dentes submetidos ao desafio cariogênico com o gel acidulado.

Tabela 3. Valores de médias da microdureza longitudinal, em KHN, dos grupos, nas diferentes profundidades do esmalte desmineralizado

Distância (µm)	Incluso	1-6 meses	2-3 anos
10	36,11±6,9 ^{Aa}	41,07±9,6 ^{Aa}	48,37±10,4 ^{Aa}
30	56,8±22,8 ^{Ab}	71,51±39,8 ^{Ab}	78,06±26,0 ^{Ab}
50	145,6±76,9 ^{ABc}	175,3±72,7 ^{ABc}	179,4±66,9 ^{Bc}
70	273,2±76,5 ^{Ad}	334,6±23,1 ^{Bd}	359,5±48,9 ^{Bd}
90	338,7±41,6 ^{Ae}	366±25,5 ^{ABde}	386,7±37,3 ^{Bde}
110	342,8±27,9 ^{Ae}	375,6±12,6 ^{ABe}	408,9±24,4 ^{Be}
220	353±29,1 ^{Ae}	377,5±35,6 ^{ABe}	403,3±27,0 ^{Bae}

* Letras maiúsculas diferentes demonstram diferença estatística entre os grupos de dentes (linha).

* Letras minúsculas diferentes demonstram diferença estatística entre as profundidades (coluna).

ANOVA a 2 critérios seguida pelo teste Bonferroni mostrou que houve diferença entre os dentes ($p < 0,0001$, $F = 16,38$), entre as profundidades ($p < 0,0001$, $F = 289,2$), interação e variação entre as amostras. Com relação à parte desmineralizada em geral todos os dentes apresentaram valores de dureza que diferiram nas distâncias 10 a 90µm, mostrando que a lesão se desenvolveu até a profundidade aproximada entre 70-90 µm ($p < 0,0001$).

Com relação aos dentes, as diferenças mais relevantes foram encontradas entre o grupo de dentes humanos inclusos e os de 2-3 anos, nas distâncias 70 a 220µm ($p < 0,0001$).

Os resultados desta etapa *in vitro* mostraram que a microdureza interna do esmalte hígido proveniente dos dentes inclusos é menor que a dos dentes humanos com 2 a 3 anos de erupção. No entanto, este achado não proporcionou uma maior resistência do esmalte, ao desafio cariogênico realizado com o gel acidulado.

Em concordância com dados anteriores, os dentes humanos com 2-3 anos de idade apresentam dureza interna hígida maior que os dentes humanos mais jovens, apontando para uma possível maturação pós-eruptiva. No entanto, não

houve diferença entre os dentes humanos na susceptibilidade à desmineralização provocada pela desmineralização *in vitro*.

6 Discussão

6 DISCUSSÃO

Neste estudo, os dentes humanos coletados foram provenientes do mesmo grupo (molares) apresentando idades pós-eruptivas próximas, sendo divididas em três grupos (inclusos: aqueles que nunca foram expostos à cavidade bucal, recém-irrompidos: presentes de 1 a 6 meses na cavidade bucal e irrompidos totalmente: presentes de 2 a 3 anos na cavidade bucal). O intervalo de 1 a 6 meses representa os dentes no estágio de erupção incompleta, isto é, em infra-oclusão, os quais já foram expostos ao meio bucal, sendo este um período crítico para o desenvolvimento de lesões cariosas, pelo maior risco ao acúmulo de biofilme dentário. O grupo com idades entre 2 a 3 anos de erupção representa os dentes que provavelmente já estão em contato oclusal e encontram-se expostos ao meio bucal por um período maior.

6.1 RESULTADOS DO GEL ACIDULADO NO ESMALTE HUMANO

De acordo com dados na Literatura, existem vários trabalhos que testaram o efeito do gel acidulado em esmalte humano. Kotsanos & Darling (1991) expuseram amostras de esmalte humano não polidas com diferentes idades a 100ml de gel com ácido láctico, pH 4,5, por 130 dias. Os resultados mostraram que conforme a idade pós-eruptiva aumentava, diminuía-se a profundidade das lesões e a porosidade das camadas mais superficiais. No presente estudo, não houve diferença entre as profundidades para os dentes com diferentes idades pós-eruptivas, o que pode ser justificado pelo tempo de exposição (14 x 130 dias) e grau de desmineralização. Kidd et al. (1984), em um estudo longo, também mostraram diferenças no grau de desmineralização entre dentes humanos com diferentes idades, porém estes não diferiram em relação à profundidade.

Por outro lado, Gängler et al. (1993) avaliaram dentes humanos não polidos que foram submetidos à desmineralização *in vitro* pelo gel de ácido láctico, pH 4,9, por 8 dias e não mostraram diferenças entre as idades, sendo que a profundidade da lesão ficou em torno de 60 µm, um pouco inferior ao presente estudo provavelmente devido às diferenças de pH (4,5 x 4,9) e tempo de exposição (14 x 8 dias).

6.2 RESULTADOS DA MATURAÇÃO DO ESMALTE HUMANO HÍGIDO

Dentre os fatores envolvidos na etiologia da cárie dentária, a resistência do esmalte à dissolução ácida, é um fator muito importante a ser considerado em estratégias preventivas. O fenômeno da maturação pós-eruptiva, o qual aumenta a resistência do esmalte, é comprovado através de diversos trabalhos que demonstram que o aparecimento e a progressão da lesão de cárie estão diretamente relacionados com o período de maturação pós-eruptiva (BACKER, 1966; CURY, 2001; DRIESSENS et al., 1985; KOTSANOS & DARLING, 1991). A diminuição da porosidade do esmalte, também devido à maturação pós-eruptiva, foi demonstrada através de trabalhos in vivo utilizando permeabilidade ao iodo (BRUDEVOLD et al., 1982) e teste de resistência elétrica (KATAOKA et al., 2007; SCHULTE et al., 1999; TEN BOSCH et al., 2000).

Arnold & Gaengler (2007) mostraram que a quantidade total de Ca e P presente na dentina e esmalte dos dentes permanentes formados foi significativamente maior do que a encontrada nos germes dentários em desenvolvimento, existindo uma possível maturação do esmalte após a formação dos prismas de esmalte, apesar de os mecanismos de transporte de íons através do órgão do esmalte não esteja ainda bem definido. No entanto, a maioria dos estudos citados, considera principalmente a maturação em superfície do esmalte.

Linden (1968) e Schulte et al. (1999) sugerem que a maturação do esmalte ocorre apenas em superfície, não ocorrendo maturação do esmalte em profundidade. Os achados de Driessens et al. (1985) sugerem que a maturação pós-eruptiva acontece até uma profundidade de 10-30 µm no esmalte, ocorrendo um decréscimo na permeabilidade do mesmo, com a formação de fosfato de cálcio contendo pequena quantidade de minerais solúveis Na e Mg e, conseqüentemente, exibindo maior resistência à solubilidade da hidroxiapatita.

Fejerskov et al. (1984), através da microscopia eletrônica de varredura, observaram que a superfície do esmalte no momento da erupção apresentou grandes variedades de irregularidades, assim como grandes espaços inter cristalinos, os quais deixam o dente mais susceptível a agressões. Ainda em 1984, Thylstrup et al. compararam os dentes inclusos com dentes recém-irrompidos, demonstrando que pequenas diferenças são encontradas entre eles, sobretudo no tamanho dos espaços inter cristalinos, os quais são menores nos dentes que foram expostos ao meio bucal. No presente estudo houve uma diferença numérica entre os

valores de dureza dos diferentes grupos de dente, a qual nem sempre venceu a estatística. No entanto, esta diferença não foi vista somente nos primeiros micrometros, mas em toda a profundidade avaliada.

Em oposição aos estudos mais antigos, Cardoso et al. (2009), analisando a microdureza longitudinal de dentes com diferentes idades eruptivas (incluso, 2-3 anos, 4-10 anos e com mais de 10 anos), observaram que o esmalte possui uma mineralização com tendência crescente dos seus valores com o passar dos anos, estatisticamente significativa entre todos os grupos de idade estudados e em todas as profundidades analisadas. Além disso, pôde-se observar que a maturação ocorreu em todas as profundidades de forma homogênea, tendo comportamento crescente de acordo com a idade pós-eruptiva, em todas as profundidades estudadas.

No presente estudo, houve uma diferença na média da microdureza longitudinal da superfície hígida especialmente entre o esmalte incluso e com 2-3 anos de erupção, o que pode ser justificado pela incorporação de minerais da saliva e a conseqüente maturação do esmalte. Diferentemente do estudo de Cardoso, a similaridade entre o esmalte com 1-6 meses de erupção e os demais grupos pode ser justificada pela proximidade de idade entre os dentes, na qual a diferença de maturação pode não ser tão acentuada. É importante ressaltar que comparações entre estudos devem ser feitas com cautela, pois diferentes resultados podem ser devido ao tipo de dente avaliado, faixas de idade pós-eruptivas inclusas, se os dentes irrompidos foram expostos ao flúor e polidos e também da variável de resposta avaliada. Outro ponto importante é que dados laboratoriais nem sempre podem ser extrapolados diretamente para a situação clínica. Portanto, é importante a realização de estudos clínicos avaliando a maturação do esmalte.

O estudo de Cardoso et al. (2009) e o presente estudo mostram que além da superfície do esmalte do dente incluso ser mais porosa no período da erupção, como demonstrado também por Palti et al. (2008), este encontra-se menos duro em toda sua extensão, com diferença estatisticamente significativa entre os grupos de idade estudados em algumas profundidades avaliadas. Adicionalmente, percebeu-se uma tendência para maiores valores de dureza conforme a profundidade aumentou em todos os grupos.

Estes achados auxiliam o clínico, sobretudo o odontopediatra, na definição do período de maior suscetibilidade à cárie, estabelecendo assim

programas e medidas preventivas eficazes. Além disso, auxilia na definição de medidas adotadas pela área da saúde coletiva para implementação de estratégias preventivas em um período crítico e de maior susceptibilidade para o desenvolvimento de lesões de cárie em pacientes jovens, logo após a erupção dos dentes, possivelmente com uma melhor relação custo benefício.

6.3 SUSCEPTIBILIDADE DO DENTE HUMANO COM DIFERENTES IDADES ERUPTIVAS À DESMINERALIZAÇÃO *IN VIVO*, *IN SITU* E *IN VITRO*.

Kotsanos & Darling (1991), em seu estudo *in vitro* já comentado anteriormente, avaliaram se o esmalte dentário, de fato, torna-se menos susceptível à cárie com o passar dos anos, por influência da maturação pós-eruptiva. Os dentes avaliados foram compostos de terceiros molares inclusos, pré-molares com 0-3 anos de erupção, com 4-10 anos de erupção, com 11-30 anos de erupção e com mais de 30 anos de erupção os quais foram expostos ao gel ácido *in vitro*. Os resultados mostraram que conforme a idade pós-eruptiva aumentava, diminuía-se a profundidade das lesões e a porosidade das camadas mais superficiais. Os dentes inclusos mostraram uma maior expansão em lateralidade da área da lesão, em comparação às outras idades. Concluiu-se que existe uma diminuição na susceptibilidade do esmalte à formação de lesões de cárie artificiais com o passar dos anos de erupção, e que as lesões de cárie presentes nos dentes mais jovens apresentaram-se mais profundas, e as lesões de cárie em dentes mais velhos apresentaram-se mais superficiais.

De acordo com Woltgens et al. (1981a), no geral, a desmineralização ocorre nas profundidades de 25 a 60 μm , sendo os 40 μm onde ocorre a máxima liberação, tanto de Ca quanto de P, dos dentes com menor idade pós-eruptiva, apresentando uma maior velocidade de desmineralização. Neste estudo, presumiu-se que a maior quantidade de hidroxiapatita defeituosa e solúvel presente nos dentes mais jovens, seja a causa do efeito de maior solubilidade inicial da relação Ca:P nos mesmos. Os resultados do presente estudo mostraram que houve diferença entre os grupos em profundidades acima de 70 μm .

No estudo *in situ* realizado por Palti et al. (2008) o esmalte incluso se mostrou mais desmineralizado em toda sua extensão e foi observada uma maior diferença na dureza em relação aos demais grupos de idades nas camadas mais profundas (até 330 μm), principalmente em relação aos dentes com mais de 10 anos

de erupção. Diante destes resultados duas hipóteses foram sugeridas. A primeira hipótese seria de que o esmalte incluso encontra-se menos mineralizado em toda a sua extensão, sendo esta uma situação de normalidade para o estágio em que o dente se encontra. A segunda de que a superfície do esmalte no período da erupção encontra-se mais porosa e composta por cristais mais solúveis, permitindo uma maior desmineralização superficial e conseqüente penetração dos ácidos em profundidade. Com base no presente trabalho, as duas hipóteses podem ser consideradas possíveis.

Ainda a este respeito, Crabb (1976) observou, através de luz refletida, luz polarizada e microscopia eletrônica de varredura, uma camada superficial esbranquiçada bem definida em toda a extensão do esmalte, com aspecto de favo de abelha. Ele demonstrou que a camada superficial do esmalte incluso ou recém irrompido é mais porosa, mostrando uma maior susceptibilidade a desmineralização. Brudevold et al. (1982), embora tenham seguido uma metodologia diferente, encontraram resultados semelhantes. No entanto, no presente estudo não foi vista diferença na susceptibilidade dos dentes com diferentes idades pós-eruptivas em relação à desmineralização pelo gel ácido. Essa falta de diferença estatística pode ser justificada porque os dentes analisados são de idades eruptivas muito próximas. Os trabalhos relatados anteriormente utilizaram grupos que variaram de inclusos a mais de 10 anos (PALTÍ et al., 2008) e 30 anos de erupção (KOTSANOS & DARLING, 1991), de pacientes de 9 a 12 anos e de 45-65 anos de idade (GÄNGLER et al., 1993), de pacientes jovens e de pacientes com mais de 65 anos de idade (KIDD et al., 1984). Ao comparar o presente estudo e de Palti et al. (2008), deve ser ainda considerado que a desmineralização provocada *in vitro* pode ser diferente da realizada *in situ*, sendo a última mais próxima da situação *in vivo*.

Deve-se considerar que dados deste estudo *in vitro* não podem ser extrapolados diretamente para as condições *in vivo*. Este trabalho tem uma contribuição importante para o delineamento de estudos laboratoriais, sugerindo não ser relevante a exclusão de dentes humanos não inclusos de estudos em Cariologia, uma vez que dentes com idade de até 3 anos de erupção não teve influência no processo de desmineralização pelo gel ácido. No entanto, não há dados sobre dentes com mais de 3 anos de erupção.

7 Conclusões

7 CONCLUSÕES

Com base nos objetivos propostos e resultados obtidos:

- Os dentes inclusos apresentaram valores de microdureza interna do esmalte hígido menores que os dentes mais velhos, em especial que os dentes de 2 a 3 anos de erupção ($p < 0,05$).

- Não houve diferença entre os dentes humanos com diferentes idades à desmineralização pelo sistema utilizado, isto é, a possível maturação pós-eruptiva não teve influência na desmineralização do esmalte provocada *in vitro* ($p > 0,05$).

Referências

REFERÊNCIAS

- Aasenden R. Post-eruptive changes in the fluoride concentrations of human tooth surface enamel. *Arch Oral Biol.* 1975;20:359-63.
- Arnold WH, Gaengler P. Quantitative analysis of the calcium and phosphorus content of developing and permanent human teeth. *Ann Anat.* 2007;189(2):183-90.
- Backer OD. Posteruptive changes in dental enamel. *J Dent Res.* 1966;45:503-11.
- Brudevold F, Aasenden R, Bakhos Y. A preliminary study of posteruptive maturation of teeth in situ. *Caries Res.* 1982;16:243-8.
- Cardoso CAB, Magalhães AC, Rios D, Lima JEO. Cross-Sectional Hardness of Enamel from Human Teeth at Different Posteruptive Ages. *Caries Res.* 2009;43:491-4.
- Crabb HS. The porous outer enamel of unerupted human premolars. *Caries Res.* 1976;10:1-7.
- Cury JA. Uso do flúor e controle da cárie como doença. In: Baratieri LN. *Odontologia restauradora: fundamentos e possibilidades.* São Paulo: Editora Santos; 2001, p. 31-68.
- Driessens FC, Heijligers HJ, Borggreven JM, Woltgens JH. Posteruptive maturation of tooth enamel studied with the electron microprobe. *Caries Res.* 1985;19:390-5.
- Ekstrand KR, Christiansen J, Christiansen ME. Time and duration of eruption of first and second permanent molars: a longitudinal investigation. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2003;31:344-50.
- Fanning RJ, Shaw JH, Sognnaes RF. Salivary contribution to enamel maturation and caries resistance. *J Am Dent Assoc.* 1954;49:668-71.
- Fejerskov O, Josephsen K, Nyvad B. Surface ultrastructure of unerupted mature human enamel. *Caries Res.* 1984;18:302-14.
- Fejerskov O, Nyvad B, Kidd EAM. Características clínicas e histológicas da cárie dentária. In: Fejerskov O, Kidd EAM. *Cárie Dentária: a doença e seu tratamento clínico.* São Paulo: Editora Santos; 2005.
- Gängler P, Noren JG, Hoyer I, Bjarnason S, Kraft U, Odelius H, Wucherpfennig G. Reactivity of young and old human enamel to demineralization. *Scand J Dent Res.* 1993;101:345-9.
- Imanishi H, Nishino M. Post eruptive maturation of immature young permanent enamel. *J Int Assoc Dent Child.* 1983;14:49-54.

-
- Kataoka S, Sakuma S, Wang J, Yoshihara A, Miyazaki H. Changes in electrical resistance of sound fissure enamel in first molars for 66 months from eruption. *Caries Res.* 2007;41:161-4.
- Kidd EA, Richards A, Thylstrup A, Fejerskov O. The susceptibility of 'young' and 'old' human enamel to artificial caries in vitro. *Caries Res.* 1984;18:226-30.
- Kotsanos N, Darling AI. Influence of posteruptive age of enamel on its susceptibility to artificial caries. *Caries Res.* 1991;25:241-50.
- Lima JEO. Cárie dentária: um novo conceito. *R Dental Press Ortodon Ortop Facial.* 2007;12(6):119-30.
- Lima JEO. Programa preventivo da cárie dentária baseado no controle mecânico da placa bacteriana em crianças, por meio da profilaxia profissional periódica. Resultados após 25 anos de acompanhamento. *R Dental Press Ortodon Ortop Facial.* 2009; 14(30):44-51.
- Linden LA. Microscopic observations of fluid flow through enamel in vitro. *Odontol Revy.* 1968;19(4):349-65
- Lynch RJM, Ten Cate JM. The effect of lesion characteristics at baseline on subsequent de- and remineralisation behavior. *Caries Res.* 2006;40:530-5.
- Margolis HC, Zhang YP, Lee CY, Kent Jr RL, Moreno EC. Kinetics of Enamel Desmineralization in vitro. *J Dent Res.* 1999;78(7): 1326-35.
- Palti DG, Machado MAAM, Silva SMB, Abdo RCC, Lima JEO. Evaluation of superficial microhardness in dental enamel with different eruptive ages. *Braz Oral Res.* 2008;22:311-5.
- Sabel N, Klinberg G, Nietzsche S, Robertson A, Odelius H, Norén JG. Analysis of some elements in primary enamel during postnatal mineralization. *Swed Dent J.* 2009;33(2):85-95.
- Schulte A, Gente M, Pieper K. Posteruptive changes of electrical resistance values in fissure enamel of premolars. *Caries Res.* 1999;33:242-7.
- Stiefel A, Binus W. Maturation of enamel and tooth eruption. *Dtsch Stomatol.* 1991;41:337-40.
- Ten Bosch JJ, Fennis-le Y, Verdonchot EH. Time-dependent decrease and seasonal variation of the porosity of recently erupted sound dental enamel in vivo. *J Dent Res.* 2000;79:1556-9.
- Ten Cate JM, et al. Preparation and measurement of artificial enamel lesions, a four laboratory ring test. *Caries Res.* 1996;30:400-7.
- Thylstrup A, Holmen L, Kragh F. A high-resolution SEM study of unerupted and newly erupted human enamel surfaces. *J Ultrastruct Res.* 1984:301.

Woltgens JH, Bervoets TJ, Witjes F, Driessens FC. Changes in the composition of the enamel of human premolar teeth shortly after eruption. Arch Oral Biol. 1981a;26:717-9.

Woltgens JH, Bervoets TJ, Witjes F, Driessens FC. Effect of post-eruptive age on Ca and P loss from human enamel during demineralization in vitro. Arch Oral Biol. 1981b;26:721-5.

Woltgens JH, Bervoets TJ, de Bleeck-Hogervorst JM, Driessens FC. Remineralization in human premolars of different posteruptive age. J Biol Buccale. 1983;11(1):35-40.

Woltgens JH, Etty EJ, Geraets WG. Posteruptive age dependency of cariogenic changes in enamel of permanent teeth of children. J Biol Buccale. 1990;18(1):49-53.

Apêndices

APÊNDICE A - Valores individuais da média da microdureza longitudinal de cada espécime das diferentes idades eruptivas, nas diferentes profundidades

Valores da microdureza longitudinal hígida, expressos em KHN no esmalte humano, nas diferentes profundidades, para o grupo dos molares inclusos

	1	2	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15	Média	dp
10µm	225	283,5	99	238	235,5	226,5	158,3	98,4	209,5	140,5	278	308	208,4	69,9
30µm	298	345	240,5	391,5	349,5	347,5	287	230	395	343	408,5	305,5	328,4	57,8
50µm	353	373	388,5	364	325	378,5	307,5	293,5	348	334,5	421,5	352	353,3	35,5
70µm	308,5	370,5	332	461	289,5	373	289,5	304	356	347,5	395	396	351,9	51,3
90µm	398	335	312,5	394,5	334,5	401,5	376	279	412	402,5	422	353	368,4	45,0
110µm	330,5	320,5	325	461	352,5	416	329,5	347,5	383	404,5	392	315	364,8	46,1
220µm	332	304	293	415	309	440,5	364,5	351,5	350	367	401,5	364,5	357,7	45,2

Valores da microdureza longitudinal desmineralizada, expressos em KHN no esmalte humano, nas diferentes profundidades, para o grupo dos molares inclusos

	1	2	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15	Média	dp
10µm	29,4	39,4	34,6	44,8	35,1	31	25,1	43,3	36,3	27,1	44,7	42,5	36,1	6,9
30µm	40,7	50,1	51,7	63,9	74	47,1	26,1	58,7	51,3	40,9	117,7	59,4	56,8	22,8
50µm	77,9	52,4	125,7	173,3	252	215,8	76,3	127,5	94,6	145,3	303,3	103,6	145,6	76,9
70µm	122	196	259	399,7	311	284,1	178,3	305,7	329,7	305,3	330,7	257	273,2	76,5
90µm	343,3	310,3	307	342,3	334	347	278,7	303,3	410,3	381,3	402,7	304,3	338,7	41,6
110µm	307,3	357	324	353,7	319,3	359,7	285,3	366,3	378	363,7	358,3	341	342,8	27,9
220µm	322,7	366,3	332	395,7	331	352,7	326	338,3	380	409	355	327	353,0	29,1

Valores da microdureza longitudinal hígida, expressos em KHN no esmalte humano, nas diferentes profundidades, para o grupo dos molares de 1 a 6 meses de erupção

	1	2	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15	Média	dp
10µm	125,4	135,5	110,8	204,5	302,5	254	171,5	244,5	190	239,5	291	262	210,9	64,9
30µm	340	437	356,5	286	336,5	351,5	377	272,5	332,5	319	362,5	305,5	339,7	43,5
50µm	420,5	437	366,5	334	410,5	356	379	314	397,5	348,5	415	353,5	377,7	38,4
70µm	436	469	395,5	364	411	351	280	327,5	361,5	415,5	389,5	364	380,4	50,5
90µm	356,5	441,5	399,5	342,5	422,5	350,5	390	365,5	371	388,5	440,5	342	384,2	35,9
110µm	350	450,5	398	373,5	393,5	367,5	400,5	368,5	371	425	464,5	344,5	392,3	37,9
220µm	395,5	500	407	394	443,5	415,5	398	356,5	348,5	415	418,5	381,5	406,1	39,6

Valores da microdureza longitudinal desmineralizada, expressos em KHN no esmalte humano, nas diferentes profundidades, para o grupo dos molares de 1 a 6 meses de erupção

	1	2	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15	Média	dp
10µm	46,2	42,2	43,7	28	32,7	47,4	35,8	32,5	44,8	58,2	52,7	28,6	41,1	9,6
30µm	42,7	40,3	66,2	50,8	101,6	52,3	36,8	85,3	60,7	117,6	166,7	37,1	71,5	39,8
50µm	64,9	95,2	197	110,4	232,3	178	176,1	280,3	241,7	209	244,7	74,5	175,3	72,7
70µm	306	333,7	329,3	345,6	362,3	362,2	299	363,7	322,7	307,7	353,3	329,7	334,6	23,1
90µm	387	406,7	358,3	337,7	369,7	346	321	351,3	381	366,3	402,3	365	366,0	25,5
110µm	362,7	376,7	386,3	350,7	377,3	378,3	380	364,7	377,3	372	401,3	380,3	375,6	12,6
220µm	403	390,7	393	377,3	396	308,3	326,7	366,7	372,7	406	437,3	351,7	377,5	35,6

Valores da microdureza longitudinal hígida, expressos em KHN no esmalte humano, nas diferentes profundidades, para o grupo dos molares de 2 a 3 meses de erupção

	1	2	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15	Média	dp
10µm	164	195,9	172,5	253,5	171,5	287,5	286	211,5	357	180	174,5	392	237,2	78,0
30µm	367	285	356,5	458,5	402	431,5	415	385	385	418,5	339	398	386,8	46,0
50µm	417,5	337,5	448	487	384	408	394,5	380,5	429,5	443,5	330,5	468	410,7	48,3
70µm	373,5	322,5	395	438	436	389,5	374	427,5	437	451	339,5	479	405,2	47,3
90µm	367,5	384	379,5	491	400,5	381	373	366	450,5	414	349,5	488,5	403,8	47,9
110µm	422	459	385	431	392,5	398	421	401,5	410	437	408,5	493,5	421,6	30,7
220µm	445,5	399	351	445,5	454,5	447	413,5	441,5	445	373	329	438,5	415,3	42,8

Valores da microdureza longitudinal desmineralizada, expressos em KHN no esmalte humano, nas diferentes profundidades, para o grupo dos molares de 2 a 3 meses de erupção

	1	2	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15	Média	dp
10µm	35,2	50,8	54,6	60,6	38,4	46,4	65,9	30,5	54,3	53	41,6	49,1	48,4	10,4
30µm	73,4	73,7	47,8	79,6	68,5	150,3	92,9	64,8	90,1	74,6	59,4	61,6	78,1	26,0
50µm	151,3	103,7	191	173	240,4	337	230,3	143,9	104,4	114,3	194,5	169	179,4	66,9
70µm	370,7	245,3	391	370,7	344,3	416,3	364,3	400,3	287,7	353	372	398,3	359,5	48,9
90µm	348	334	377,7	451,7	452	367,3	411	379	356,3	391,7	371	401	386,7	37,3
110µm	408	400,3	432,7	460,3	447,3	403,7	396,3	397,7	390,7	390	395,7	384,3	408,9	24,4
220µm	385	402,3	425	415,3	406	371,3	363,7	382,3	414	457	387	431	403,3	27,0

Anexos

ANEXO A – Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comitê de Ética em Pesquisa (14)3235-8356
mferrari@fob.usp.br

Processo nº 127/2009

Bauru, 01 de outubro de 2009.

Senhor Professor,

O projeto de pesquisa **"Análise da maturação pós-eruptiva do esmalte através da microdureza longitudinal de dentes humanos hígidos e cariados in vitro"** de autoria de Janaína Maniezo de Sousa, sob sua orientação e co-orientação da Profª Drª Ana Carolina Magalhães, novamente encaminhado a este Comitê de Ética em Pesquisa, foi analisado por um Relator e considerado **APROVADO** em reunião deste Colegiado, realizada no dia 30 de setembro de 2009.

Informamos que qualquer alteração efetuada no trabalho de pesquisa, o pesquisador/orientador deverá comunicar ao CEP-FOB/USP, bem como ao final do trabalho enviar um Relatório para novo parecer, o qual será utilizado para publicação científica.

Atenciosamente,

Profª Drª Maria Teresa Atta
Coordenadora

Prof. Dr. José Eduardo de Oliveira
Docente do Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva

ANEXO B – Instrumento de doação de dentes

INSTRUMENTO DE DOAÇÃO DE DENTES**Identificação do Doador**

Nome (legível): _____

Data de Nascimento: _____

Local: _____ UF: _____

RG nº: _____ CPF nº: _____

Endereço: _____ nº: _____

Cidade: _____ UF: _____ CEP: _____

Telefones para contato: _____

E-mail: _____

DECLARAÇÃO

Declaro ter sido esclarecido sobre os motivos que levaram a necessidade de remoção do(s) dente(s) _____ (código) e concordo que os mesmos sejam utilizados para a pesquisa **“Análise da maturação pós-eruptiva do esmalte através da microdureza longitudinal de dentes humanos hígidos e cariados *in vitro*”** desde que aprovada por um Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos.

Fui ainda esclarecido que minha identidade não será divulgada por qualquer meio e que o material recolhido será utilizado unicamente para pesquisa.

Bauru, _____ de _____ de 2009.

Assinatura