



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Trabalho de Conclusão de Curso

Aluno(a): Patricia Ribeiro Batista

Orientador(a): Cíntia Pereira Machado Tabchoury

Ano de Conclusão do Curso: 2011

Assinatura do(a) Orientador(a)



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**



**Lesão cariiosa artificial em dentina radicular induzida a partir de diferentes
tempos de imersão em solução desmineralizante**

Autora: Patrícia Ribeiro Batista

Piracicaba – SP

2011

Patricia Ribeiro Batista

**Lesão cariiosa artificial em dentina radicular induzida a partir de diferentes
tempos de imersão em solução desmineralizante**

Monografia apresentada ao Curso de
Odontologia da Faculdade de
Odontologia de Piracicaba –
UNICAMP, para a obtenção do
Diploma de Cirurgiã- Dentista.

Orientadora: Profa. Dra. Cíntia Pereira Machado Tabchoury

Piracicaba – SP

2011

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marilene Girello - CRB 8/6159

B32L Batista, Patricia Ribeiro, 1987-
Lesão cariiosa artificial em dentina radicular induzida a partir de diferentes tempos de imersão em solução desmineralizante / Patricia Ribeiro Batista. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2011.

Orientador: Cíntia Pereira Machado Tabchoury.
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Cárie radicular. 2. Desmineralização do dente. I. Tabchoury, Cíntia Pereira Machado, 1969- II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus avós, aos meus pais Arnaldo e Aldalice, aos meus irmãos Felipe e Marina, a minha tia Goia e ao meu noivo Tone, por serem meu porto seguro e apoiarem todas as minhas decisões ao longo desses anos de curso.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus por ter guiado meus passos e me mostrado o caminho que eu devia andar.

Ao meu avô Sinval que queria muito presenciar esse momento.

Ao meu pai que insistiu para que eu fizesse a inscrição dessa faculdade, pelo apoio, conselhos, paciência e esforço para me ensinar e pagar meus estudos.

A minha mãe pelo carinho, compreensão, conselhos e pelas comidas que preparava com tanto carinho para eu trazer para a faculdade.

Ao meu irmão e irmã por me apoiarem no momento mais difícil dessa graduação.

Ao amor de minha vida e futuro marido pela paciência, colo, carinho e ajuda em meus estudos.

A tia Goia por ser a melhor tia do mundo.

Ao professor Dr. Luis Alexandre M. Sartini Paulillo por me ensinar Dentística.

À professora Dra. Cíntia Pereira Machado Tabchoury que me guiou e orientou durante todos os anos de minha graduação em projetos científicos e por ter sido meu referencial de profissional.

Ao professor Dr. Jaime Aparecido Cury pelas sugestões em relação ao projeto.

Aos funcionários do laboratório de Bioquímica, Waldomiro e Alfredo, pela paciência e prontidão para nos ajudar.

À aluna de Mestrado Ana Flávia que esteve sempre pronta a ajudar mesmo que para isso tivesse que vir de São Paulo para me ensinar.

A professora Dra. Gláucia Maria Bovi Ambrosano pelas análises estatísticas e pelo carinho pelo qual desenvolveu essa parte de meu trabalho.

Resumo

Devido ao fato da cárie radicular ter se tornado um problema de saúde bucal nos idosos, é importante que se tenha modelos para estudar esta condição e também métodos preventivos. Então, o objetivo do presente estudo foi avaliar in vitro a lesão cáriosa em dentina radicular induzida a partir de diferentes tempos de imersão em solução desmineralizante. Foi realizado um estudo in vitro de indução de lesão cáriosa artificial em blocos de dentina bovina. Blocos de dentina bovina (4x4x2 mm), pré-selecionados quanto à dureza de superfície, foram divididos em 4 grupos de tratamento (n=30 blocos/grupo) para indução de lesão cáriosa artificial a partir da imersão em solução desmineralizadora por: (A) 16 horas, (B) 32 horas, (C) 48 horas e (D) 64 horas. Ao final destes períodos, os blocos dentais foram avaliados quanto à dureza de superfície e da dentina seccionada longitudinalmente. As soluções desmineralizantes foram também avaliadas quanto ao conteúdo de cálcio. Como resultado foi observado que a dureza de superfície inicial e após os blocos ficarem imersos em solução desmineralizante não diferiu entre os diferentes grupos de tratamento ($p>0,05$). Quanto à dureza da dentina seccionada longitudinalmente, verificou-se que os grupos de 16 e 32 horas formaram uma lesão mais superficial, enquanto os blocos de 48 e 64 horas formaram uma lesão mais profunda. Os valores de ΔS dos blocos de dentina a partir de 32 horas de imersão atingem um platô. Quanto à concentração de cálcio na solução desmineralizante, ela não diferiu entre os grupos de tratamento ($p>0,05$). Os resultados do presente estudo sugerem que o tempo de imersão na solução desmineralizante influencia na profundidade de lesão cáriosa artificial e que para avaliarmos a perda mineral em estudos como este a dureza da dentina seccionada longitudinalmente é mais indicada para dentina do que a dureza de superfície.

Palavras-chave

Cárie radicular, dentina, desmineralização, estudo in vitro.

Abstract

Due to the fact that root caries has become a problem of oral health in the elderly, it is important to have models to study this condition and also preventive methods. Thus, the objective of the present study was to evaluate in vitro carious lesions in root dentine induced by different periods of immersion in demineralizing solution. An in vitro study of induction of artificial caries lesions was conducted in blocks of bovine dentin. The blocks of bovine dentin (4x4x2 mm), pre-selected with regard to surface hardness, were divided into four groups of treatment (n=30 blocks/group) to induce artificial caries lesion by immersion in demineralizing solution for: (A) 16 hours, (B) 32 hours (C) 48 hours and (D) 64 hours. At the end of these periods, the dental blocks were evaluated for surface hardness and cross-sectional hardness. The demineralizing solutions were also evaluated on the content of calcium. The results showed that the initial surface hardness and that after the blocks were immersed in the demineralizing solution did not differ among the different treatment groups ($p > 0.05$). With regard to the cross-sectional hardness, it was found that groups of 16 and 32 hours formed a more superficial lesions, while the blocks of 48 and 64 hours formed a deeper lesion. The values of ΔS of the dentin blocks from 32 hours of immersion reached a plateau. Regarding the concentration of calcium in the demineralizing solution, it did not differ among the treatment groups ($p > 0.05$). The results of the present study suggest that the duration of immersion in the demineralizing solution influences the depth of artificial caries lesions and to evaluate the mineral loss in studies like this cross-sectional hardness of dentin is best suited for the hardness of the dentin surface.

Keywords

Root caries, dentin, demineralization, in vitro model.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	9
2. Revisão de Literatura.....	11
3. Objetivo.....	13
4. Materiais e Métodos.....	14
4.1 Delineamento experimental.....	14
4.2 Obtenção dos blocos dentais.....	14
4.3 Seleção dos blocos dentais.....	16
4.4 Preparo da solução desmineralizante.....	16
4.5 Indução da lesão cariosa artificial.....	16
4.6 Dureza de superfície e dureza da dentina seccionada longitudinalmente.....	17
4.7 Determinação de cálcio.....	18
4.8 Análise estatística.....	18
5. Resultados.....	19
6. Discussão.....	25
7. Conclusão.....	27
8. Referências Bibliográficas.....	28

1. Introdução

A cárie dental é uma doença multifatorial, biofilme e açúcar-dependente, resultante de sucessivos eventos de desmineralização causados pela ação dos ácidos produzidos durante o metabolismo de bactérias presentes no biofilme dental após a exposição a carboidratos fermentáveis (van Houte, 1994).

Embora venha sendo observado um declínio mundial na prevalência de cárie em esmalte devido ao amplo uso do flúor (Bratthall *et al.*, 1996; Marthaler, 2004; Narvai *et al.*, 2006), a cárie radicular tornou-se um problema de saúde bucal na população idosa, já que ao longo dos anos a expectativa de vida aumentou, com maior retenção de dentes neste grupo etário, assim como exposição das superfícies de dentina radicular (Curzon & Preston, 2004; Rihs *et al.*, 2008; Du *et al.*, 2009). Existem evidências de que os idosos têm nível de formação de novas lesões cariosas igual ou maior que o observado em crianças (Heijnsbroek *et al.*, 2007) e que o desenvolvimento da cárie em idosos, devido à maior recessão gengival, é tão rápido quanto em jovens (Thomson, 2004). Em acréscimo, essa população apresenta riscos adicionais, como condições sistêmicas desfavoráveis, e assim se faz necessário o uso de métodos preventivos, evitando então a perda de dentes nessa população, o que prejudicaria a sua saúde bucal.

Devido a dificuldades no procedimento restaurador (Lynch & Baysan, 2001; Baysan *et al.*, 2001) e prognóstico desfavorável do mesmo (Lynch & Baysan, 2001), é crescente o interesse por tratamentos preventivos, capazes de promoverem a remineralização dentinária (Allen *et al.*, 1999). E o flúor tem sido o agente de escolha, pois inibe a desmineralização e ativa a remineralização dental com grande sucesso. O uso de F por meio da escovação, por ser um método custo-efetivo, exequível e conveniente, tem sido a forma de uso de escolha pelos profissionais (Lynch & Baysan, 2001) e de acordo com estudos prévios as lesões cariosas podem ser tratadas por procedimentos não invasivos. Desde que mais flúor é necessário para remineralização de dentina do que para o esmalte (Lynch & Baysan, 2001), Baysan *et al.* (2001) compararam a habilidade de dois dentifrícios fluoretados, ambos contendo NaF, sendo um com 5000 ppm de F e outro com 1100 ppm de na remineralização de lesões cariosas radiculares primárias em indivíduos adultos. Após 6 meses, cerca de 57% das lesões cariosas radiculares dos indivíduos usando dentifrício de 5000 ppm e 29% usando o de 1100 se remineralizaram. Tais achados

sugerem que as lesões cáries podem ser tratadas por procedimentos não invasivos, através do uso de dentifrício, e aquele contendo 5000 ppm de F parece ser mais efetivo que aquele contendo 1100 ppm de F. Lynch & Baysan (2001) também consideraram o uso de dentifrício com alto conteúdo de flúor um método promissor e custo-efetivo na reversão de cáries radiculares.

Outros autores também afirmaram que o aumento regular da oferta de F tem efeito benéfico na redução de cáries radiculares (Heijnsbroek *et al.*, 2007; Richards, 2009), podendo converter lesões ativas em inativas (Heijnsbroek *et al.*, 2007).

Entretanto, pouco se sabe sobre o efeito de altas concentrações de flúor em lesões de dentina de diferentes níveis de progressão. Desta forma, tornou-se importante avaliar *in vitro* lesão cáries em dentina radicular induzida em diferentes tempos de imersão em solução desmineralizante.

2. Revisão de literatura

A cárie dental em idosos é um fenômeno recente resultante do aumento da longevidade. Ela geralmente se manifesta ao redor de restaurações existentes ou em superfície radicular, isso se deve a fatores como: ingestão elevada de carboidratos fermentáveis, pobre higiene oral, pouco acesso a cuidados bucais e fatores sociais e médicos como a dependência de cuidadores e os efeitos de hipossalivação colateral de certos medicamentos. A prevenção da cárie em idosos é baseada na avaliação de riscos precisos e a instituição de um adequado regime de aconselhamento dietético, medidas de higiene oral e aplicação tópica de flúor (Curzon & Preston, 2004)

Cárie radicular é um problema generalizado e pode ser bastante grave em populações mais idosas. A restauração de lesões de cárie radicular é muitas vezes difícil. O flúor é atualmente uma substância importante em formulações de creme dental para o custo-benefício e terapia anticárie. É bem aceito e conhecido que os íons fluoreto promovem a remineralização dos dentes e reduzem a velocidade de desmineralização. O uso de um dentifrício com uma alta concentração de fluoreto pode ser considerado para reverter lesões de cárie, uma vez que mais flúor é necessário para a remineralização de raízes do que para o esmalte (Lynch & Baysan, 2001).

Estudo realizado no estado de São Paulo teve como objetivo identificar a prevalência em idosos e adultos de cárie em superfície radicular e percebeu-se que esta foi de 15,6% e 31,8%, para as pessoas com idade entre 35-44 e 65-74 anos, respectivamente, percebendo-se assim que o risco para cárie dentária aumenta com a idade dos indivíduos (Rihs et al., 2008). Na China também foi feito um estudo sobre cárie dental em idoso e observou-se que as freqüências de cáries radiculares em indivíduos de 35-44 anos foi de 13,1% e em indivíduos de 65-74 anos foi de 43,9%, mostrando padrão semelhante com aquele observado no estudo anterior. Além disso, nesse estudo observou que idosos residentes em zonas rurais apresentaram maior prevalência de cárie radicular do que aqueles que vivem em áreas urbanas. Com isso percebe-se a importância de pesquisas em relação à cárie nessa população (Du et al., 2009).

Pensando nesse aumento da longevidade e da importância de cuidados na prevenção de cárie radicular, percebeu-se que dentifrício contendo 5.000 ppm de

flúor é significativamente melhor na remineralização de lesões radiculares de cárie primária do que um contendo 1.100 ppm F (Baysan *et al.*, 2001).

Uma maior aplicação de flúor na forma de creme dental com alta concentração ou bochechos adicionais tem um efeito positivo sobre a incidência de cárie radicular, portanto o flúor adicional parece ser um tratamento preventivo e terapêutico para cárie de raiz (Heijnsbroek *et al.*, 2007).

Lesões profundas que se estendem para a dentina pode ser remineralizadas sob condições ideais e se este processo é influenciado por drogas que afetam a precipitação de fosfato de cálcio e dissolução a remineralização de toda a profundidade da lesão e na dentina é possível, embora este processo seja muito lento. Tratamentos com flúor e bisfosfonatos afetam principalmente a deposição no esmalte externo (ten Cate, 2008). A remineralização de lesões avançadas dentinárias é possível, apesar da virtual ausência de minerais no corpo lesão após desmineralização. A camada superficial da lesão é o local preferido para a deposição mineral até que os valores de conteúdo mineral atingem os da dentina. O conteúdo mineral no corpo lesão aumenta com o tempo, a uma taxa que reflete a gravidade da lesão inicial. Uma camada superficial remineralizada não inibe o transporte de íons minerais para o organismo e a remineralização de lesão no corpo reflete o número de locais para o crescimento de cristal (Mukai *et al.*, 2001).

Modelos in vitro de ciclagem de pH foram desenvolvidos para avaliar o efeito do F sobre a resistência da dentina à desmineralização e outro para avaliar o aumento da remineralização da dentina com lesão de cárie artificial. Os dados desse trabalho sugere que os modelos desenvolvidos são capazes de avaliar o efeito anti-cárie e o potencial de dentifrícios fluoretados contendo 1.100 F mg / g na resistência à desmineralização da dentina e sobre a ativação da remineralização., podendo então ser usado em mais estudos em cárie de idoso (Queiroz *et al.*, 2011).

3. Objetivo

O presente estudo teve como objetivo avaliar in vitro lesões cariosas em dentina radicular induzidas artificialmente por imersão em diferentes tempos em solução desmineralizante.

4. Metodologia

4.1 Delineamento experimental

Foi realizado um estudo in vitro de indução de lesão cáriosa artificial. A partir de incisivos hígidos bovinos, foram confeccionados blocos de dentina radicular (4 X 4 X 2 mm), os quais foram selecionados pela dureza de superfície e divididos aleatoriamente em 4 grupos (n=30 blocos/grupo) para indução de cárie artificial a partir da imersão em solução desmineralizadora por: (A) 16 horas, (B) 32 horas, (C) 48 horas e (D) 64 horas. Ao final do experimento foi novamente determinada dureza de superfície em todos os blocos de dentina e calculada a porcentagem de perda de dureza de superfície (%PDS); a dureza da dentina seccionada transversalmente também foi avaliada em 6 blocos dentais de cada tempo de imersão.

4.2 Obtenção dos blocos de dentina

Para a realização desse estudo, foram utilizados dentes incisivos hígidos bovinos. Os elementos dentários foram mantidos em formol 2% pH 7,0 por um período mínimo de 30 dias para desinfecção antes de qualquer procedimento experimental (White, 1987). Em seguida, os dentes foram examinados visualmente com auxílio de lupa (aumento de 10 X) para exclusão daqueles que apresentaram fraturas, trincas ou hipoplasias na dentina radicular.

Para a obtenção dos blocos de dentina foi utilizada cortadeira elétrica (Buehler-Isomet) e discos diamantados de dupla face (Buehler® Diamond Wafering Blade nº 11-4243 da série 15 HC). Os dentes foram fixados em placas de acrílico com auxílio de cera pegajosa e levados à cortadeira elétrica, para que fosse realizada a separação entre coroa e raiz (fig. 1). Então, usando 2 discos paralelos separados por um espaçador de acrílico com 4 mm de espessura, foram obtidas fatias a partir do corte nas raízes dentais. Os fragmentos dentais corresponderam ao primeiro terço da raiz. Estas fatias foram novamente fixadas à peça acrílica e seccionadas no sentido mesiodistal para obtenção de blocos dentais medindo 4 x 4 x 2 mm das faces vestibular e lingual. Os cortes foram sempre feitos sob refrigeração (água destilada e deionizada) para evitar trincas.

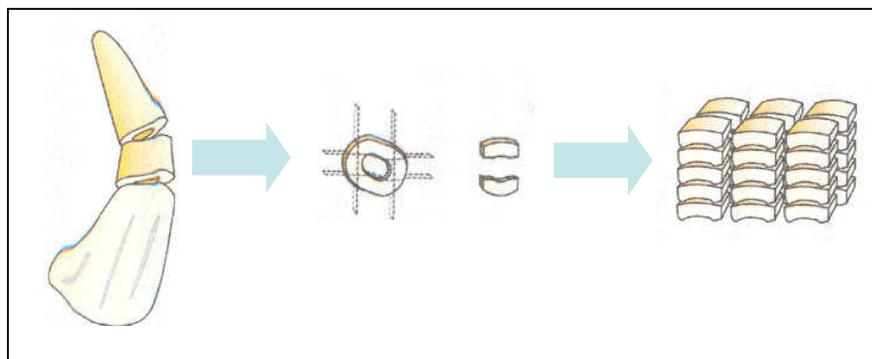


Figura 1. Esquema de obtenção dos blocos de dentina bovina.

A altura dos blocos de dentina foi de 2 mm após planificação da porção dentinária, utilizou-se lixa de granulação 320 (Carbimet[®] Paper Discs – nº 30-5108-320 Buelher[®]) e politriz APL-4 Arotec[®], verificou-se a espessura do bloco com uma régua milimetrada. Para tal, a maior área plana da dentina foi fixada com cera pegajosa contra a superfície de um disco de resina acrílica pré-fabricado para que a dentina voltada para a câmara pulpar pudesse ser ajustada/planificada. Os blocos então foram lavados no ultra-som (T7, Thornton[®]) em água destilada e deionizada (dd), com o objetivo de remover as partículas de lixa. Após essa planificação, os blocos dentais foram fixados com a superfície da dentina vestibular ou lingual voltada para cima para que esta superfície também pudesse ser planificada, lixada e polida. Inicialmente, foi utilizada lixa de granulação 400 por 5 s. Então, foi utilizada lixa de granulação 600 por 5 s para possibilitar maior planificação da superfície de dentina. Posteriormente, foi utilizada lixa de granulação 1200 por 2 min, para que se procedesse o polimento das superfícies. A cada mudança de granulação da lixa, os blocos dentais foram colocados em ultra-som para remoção dos resíduos da lixa anterior. Ao final do lixamento, os blocos dentais foram imersos em uma solução detergente, visando remoção completa dos resíduos da lixa. O polimento foi realizado por 2 min com panos auto-adesivos de 1 μ , previamente banhados com suspensão de diamante. Em seguida, os blocos dentais foram imersos por 2 min em uma solução detergente (Ultramet[®]) diluída na proporção de 20:1 em água dd. Os blocos dentais obtidos foram armazenados em geladeira em potes devidamente vedados, cobertos com guardanapo de papel, umedecido com água dd, para evitar o ressecamento da superfície da dentina e a ocorrência de rachaduras.

4.3 Seleção dos blocos dentais

A dureza de superfície da dentina dos blocos dentais foi determinada utilizando-se o microdurômetro Future Tech modelo FM-7 acoplado a um software FM-ARS e penetrador tipo Knoop, com carga de 5 g por 5 s (Fushida & Cury, 1999; Aires *et al.*, 2008; Vale *et al.*, 2011). Foram realizadas 3 endentações na região central dos blocos dentais e o critério de seleção foi baseado na média e desvio padrão da dureza de cada bloco dental. Foram excluídos do experimento blocos dentais que apresentaram desvio padrão maior que 10% de sua média de dureza individual (variabilidade intra-blocos) e aqueles que apresentaram sua média individual de dureza maior ou menor do que 10% da média de dureza calculada para todos os blocos inicialmente obtidos (variabilidade entre blocos). Os blocos dentais selecionados foram aleatoriamente distribuídos entre os grupos de tratamento, utilizando planilha do Excel.

4.4 Preparo da solução desmineralizante

Para o preparo da solução desmineralizante foi utilizado tampão acetato 0,05 M, pH 5,0, contendo cálcio (Ca) 1,41 mM, fósforo (P_i) 0,91 mM e 0,056 μ g F/mL (Queiroz *et al.*, 2011). Esta solução é 50% saturada em relação à dentina.

4.5 Indução da lesão cariosa artificial

Foi realizada indução da lesão cariosa artificial em diferentes tempos, quando 120 blocos de dentina foram individualmente imersos em solução desmineralizante, permanecendo em estufa a 37°C pelos tempos de 16, 32, 48 e 64 horas (n=30 blocos/tempo de imersão). Após estes períodos de imersão, todos os blocos de dentina foram novamente avaliados quanto à dureza de superfície; seis blocos de cada tempo de imersão também foram avaliados quanto à dureza da dentina seccionada longitudinalmente. As soluções desmineralizantes em contato com os blocos também foram avaliadas quanto à concentração de Ca por meio de espectrofotometria de absorção atômica. Em acréscimo, soluções desmineralizantes armazenadas em estufa a 37°C sem a imersão de blocos dentais também foram avaliadas quanto a concentração de cálcio como grupo controle.

4.6 Dureza de superfície e dureza da dentina seccionada longitudinalmente

Ao final de cada período de indução da lesão cariosa artificial, os blocos de dentina foram avaliados novamente quanto à dureza de superfície. Três endentações foram feitas a 100 µm das iniciais e a média de dureza das 3 impressões foi então calculada para cada grupo de tratamento. O microdurômetro Future-Tech FM acoplado a um software FM-ARS e penetrador tipo Knoop com carga de 5 g por 5 s foi utilizado para estas análises. Foi também calculada a porcentagem de perda de dureza de superfície (%PDS) pela fórmula:

$$\%PDS = \frac{\text{Dureza inicial} - \text{Dureza pós-lesão}}{\text{Dureza inicial}} \times 100$$

Após a determinação da dureza de superfície, 6 blocos de dentina de cada tempo de imersão foram cortados transversalmente por corte longitudinal com uso de disco diamantado acoplado à cortadeira elétrica. O hemibloco foi então destinado à análise da dureza da dentina seccionada longitudinalmente. Cada hemibloco foi embutido (embutidora Arotec Pre 30[®]) em resina acrílica incolor, ficando a parte seccionada exposta. Para possibilitar as análises da lesão de cárie, a superfície seccionada da dentina foi lixada e polida com lixas de granulação 320, 600 e 1200 e refrigerada com água destilada e deionizada. Discos de feltro com suspensão de 1 micrão também foram utilizados para dar polimento final e em seguida a dureza foi determinada. Para tanto as impressões foram realizadas no centro do bloco, às distâncias de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, e 200 µm da superfície da dentina. Mais duas linhas de impressão foram repetidas 100 µm acima e 100 µm abaixo, todas com carga de 5 g e tempo de 5 s (Aires *et al.*, 2008). Então, as médias de dureza a cada distância da superfície da dentina das três posições de cada hemi-bloco foram calculadas. Os dados foram expressos como número de dureza Knoop (kg/mm²), pois há uma discrepância na literatura referente à conversão de dureza para conteúdo mineral (Featherstone *et al.*, 1983; Kielbassa *et al.*, 1999). A dureza da dentina seccionada longitudinalmente de dez blocos hígidos foi usada como um controle (Aires *et al.*, 2008).

4.7 Determinação de cálcio

A dosagem de cálcio foi realizada por espectrofotometria de absorção atômica em presença de lantânio 0,1%, para diminuir a interferência do fósforo. Para tal, utilizou-se um espectrofotômetro VARIAN AA-50, sendo as leituras realizadas a 422,7 nm. O aparelho foi calibrado com soluções padrão contendo de 0,2 a 2,0 ppm de cálcio.

4.8 Análise estatística

As variáveis de resposta foram submetidas a uma análise estatística exploratória, a partir da qual foi aplicado um teste apropriado, considerando os tratamentos. Para a análise estatística da dureza interna, os dados foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA) em esquema de parcelas subdivididas, sendo as parcelas representadas pelos grupos e as subparcelas pelas distâncias, as comparações múltiplas foram realizadas pelo teste de Tukey. Na dosagem de cálcio, os dados foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA) “1 way” e teste de Tukey. Posteriormente foi analisada a dureza de superfície por meio da análise de variância (ANOVA) “1 way”. Como os dados de delta S não atenderam as pressuposições de uma análise paramétrica, verificado na análise exploratória, os mesmos foram analisados pelos testes de Kruskal-Wallis e Dunn. Na comparação da dureza de superfície inicial com a final, os dados foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas. Para estas análises, foi estabelecido um limite de significância de 5% e as unidades experimentais foram os blocos de dentina.

5. Resultados

Tabela 1. Média (desvio padrão) da dureza de superfície inicial (kg/mm^2) dos blocos de dentina em cada grupo de tratamento ($n=30$, exceto controle $n=10$).

Grupos de Tratamento	Média (desvio padrão)
16 horas	48,97 (4,24) A
32 horas	47,58 (5,42) A
48 horas	49,16 (5,60) A
64 horas	46,71 (5,23) A
Controle*	46,20 (3,76) A

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ($p=0,20$).

*Blocos hígidos que não foram imersos em solução desmineralizante

Na tabela 1, estão apresentados os dados de dureza de superfície inicial dos blocos de dentina de todos os grupos de tratamento e observa-se que não há diferença estatisticamente significativa entre as durezas dos blocos entre os grupos de tratamento.

Tabela 2. Média (desvio padrão) da dureza de superfície (kg/mm^2) dos blocos de dentina após imersão na solução desmineralizante por diferentes tempos ($n=30$).

Grupos de tratamento	Média (desvio padrão)
16 horas	9,23 (2,89) A
32 horas	8,85 (4,25) A
48 horas	8,03 (1,79) A
64 horas	9,11 (2,44) A

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ($p\geq 0,05$)

Os dados da tabela 2 mostram a dureza de superfície dos blocos dentais após a imersão em solução desmineralizante pelos diferentes tempos dos grupos de tratamento. É possível verificar que não houve diferença estatisticamente significativa na dureza de superfície entre os grupos de tratamento, independentemente do tempo que os blocos de dentina ficaram imersos na solução desmineralizante.

Tabela 3. Média (desvio padrão) da dureza de superfície (kg/mm^2) inicial versus a dureza final dos blocos de dentina em cada grupo de tratamento ($n=30$).

Grupos de tratamento	Dureza Inicial	Dureza Final
16 horas	48,97 (4,24) Aa	9,23 (2,89) Ba
32 horas	47,58 (5,42) Aa	8,85 (4,25) Ba
48 horas	49,16 (5,60) Aa	8,03 (1,79) Ba
64 horas	46,71 (5,23) Aa	9,11 (2,44) Ba

Médias seguidas de letras distintas (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) diferem entre si ($p \leq 0,05$).

A tabela 3 mostra que a dureza de superfície dos blocos dentais antes e após a imersão em solução desmineralizante diferiu estatisticamente em todos os grupos de tratamentos, porém não houve diferença de dureza entre os grupos de tratamento. Essa tabela está ilustrada na figura 2.

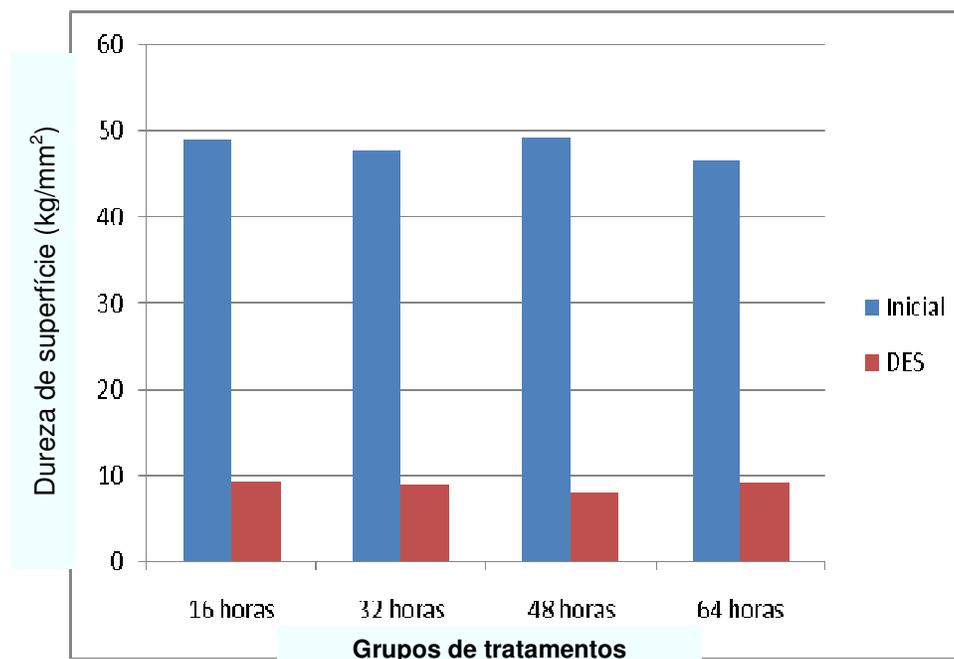


Figura 2. Dureza de superfície (kg/mm^2 , média) inicial versus a final dos blocos de dentina em cada grupo de tratamento ($n=30$).

Tabela 4. Valores da mediana, valor mínimo e máximo de ΔS ($\text{Kg}/\text{mm}^2 \times \mu\text{m}$) dos grupos de tratamento (n=6, exceto controle n=10).

Grupos de tratamento	Mediana	Valor mínimo	Valor máximo
16 horas	759,42 AB	174,97	886,27
32 horas	1192,39 A	422,10	1397,17
48 horas	1061,67 A	557,83	2016,20
64 horas	1169,80 A	817,67	1487,97
Controle	110,80 B	-74,9	244,60

Medianas seguidas de letras distintas diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Na tabela 4, observa-se que o menor valor de ΔS após imersão na solução desmineralizante foi encontrado no grupo de 16 horas, entretanto este não diferiu estatisticamente de nenhum outro grupo de tratamento que ficou imerso na solução desmineralizante. Os grupos de tratamentos 32, 48 e 64 horas diferiram significativamente do grupo controle, isto é, blocos de dentina hígidos que não foram imersos na solução desmineralizante. Apenas o grupo de tratamento 16 horas não diferiu significativamente do grupo controle.

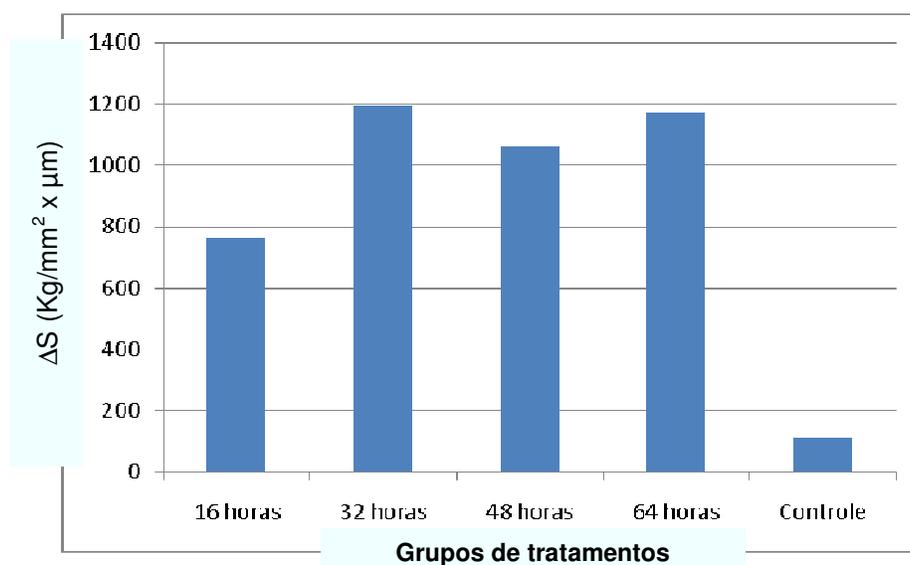


Figura 3. Valores da mediana de ΔS ($\text{Kg}/\text{mm}^2 \times \mu\text{m}$) para os grupos de tratamento (n=6, exceto controle n=10).

Tabela 5. Média (desvio padrão) da dureza da dentina seccionada longitudinalmente (Kg/mm²) dos blocos dentais após imersão na solução desmineralizante por diferentes tempos (n=6, exceto controle n=10).

Distâncias (µm)	Grupos de tratamento				
	16 horas	32 horas	48 horas	64 horas	Controle
10	19,28 (4,76) B	19,82 (7,45) B	15,43 (2,92) B	17,80 (6,41) B	50,69 (8,86) A
20	27,05 (5,56) B	23,98 (6,87) B	18,90 (3,56) B	16,40 (2,89) B	55,08 (10,69) A
30	36,74 (5,36) B	30,37 (8,05) B	23,04 (5,80) B	19,02 (4,53) B	56,07 (11,18) A
40	41,10 (5,70) AB	39,86 (8,09) AB	28,38 (6,34) B	24,26 (7,77) B	56,72 (9,65) A
50	45,04 (5,65) AB	44,78 (8,96) AB	34,73 (7,26) B	29,95 (9,99) B	56,89 (9,85) A
60	47,84 (6,95) A	47,86 (9,60) A	39,76 (10,77) A	34,72 (10,05) A	56,68 (9,11) A
80	46,79 (5,98) A	50,59 (9,29) A	43,72 (12,94) A	38,73 (11,62) A	57,24 (10,57) A
100	47,13 (5,09) A	52,39 (9,15) A	44,05 (12,85) A	39,97 (11,68) A	57,41 (10,53) A
120	46,78 (6,90) A	54,33 (10,09) A	45,83 (14,81) A	41,09 (11,51) A	55,78 (8,70) A
140	46,12 (5,75) A	55,91 (10,25) A	47,83 (14,99) A	41,66 (11,32) A	56,80 (9,17) A
160	48,46 (4,19) A	55,21 (9,51) A	46,23 (15,96) A	41,37 (9,74) A	56,24 (8,60) A
180	48,54 (5,31) A	57,63 (10,39) A	48,78 (15,69) A	43,02 (10,77) A	57,00 (7,44) A
200	48,04 (5,10) A	59,40 (9,31) A	49,31 (15,25) A	44,07 (10,77) A	56,19 (9,39) A

A tabela 5 mostra que a dureza dos blocos de dentina na região mais superficial da lesão, isto é, de 10 a 30 μm houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tratamento e o grupo controle. Porém a 40 e 50 μm da superfície, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos de 16 e 32 horas de imersão e o grupo controle. Para os grupos de tratamento de 48 e 64 horas, não houve diferença estatisticamente significativa em relação ao controle a partir de 60 μm . A tabela 5 está ilustrada pela figura 4.

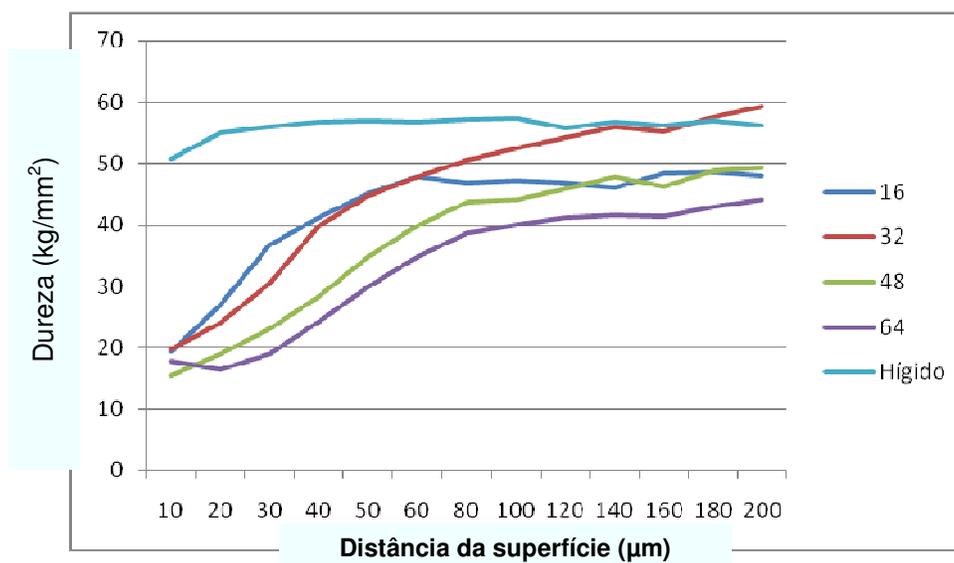


Figura 4. Dureza da dentina seccionada longitudinalmente (Kg/mm^2 ; média) dos blocos dentais após imersão na solução desmineralizante por diferentes tempos ($n=6$, exceto controle $n=10$).

Tabela 6. Média (desvio padrão) da concentração de cálcio (mM) nas soluções desmineralizantes onde os blocos de dentina ficaram imersos ($n=30$, exceto controle $n=16$).

Grupos de tratamento	Média (desvio padrão)
16 horas	1,44 (0,34) A
32 horas	1,36 (0,32) A
48 horas	1,51 (0,27) A
64 horas	1,57 (0,26) A
Controle	1,36 (0,20) A

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si ($p \leq 0,05$).

A tabela 6 mostra que a concentração de cálcio nas soluções desmineralizantes onde os blocos de dentina ficaram imersos e na solução desmineralizante onde não foi colocado nenhum bloco (controle) não diferiu estatisticamente entre si.

6. Discussão

A dureza de superfície inicial dos blocos dentais dos grupos de tratamento nos mostra que os blocos dentais apresentavam na mesma condição de dureza, o que foi importante para seleção dos mesmos e verificou-se que havia homogeneidade na amostra usada em cada tratamento. Esta seleção dos blocos e aleatorização é importante para se eliminar qualquer fator externo que possa interferir no resultado do estudo.

Foi observado após análise dos dados nos blocos dentais imersos na solução desmineralizante que a dureza de superfície após o tratamento entre os grupos não diferiu estatisticamente entre si. Este fato pode ter ocorrido devido ao fato de lesões em dentina se iniciarem e progredirem muito rapidamente, além de que esse tipo de análise, isto é, a dureza de superfície avalia adequadamente o início de desenvolvimento da lesão cariosa. Estes dados mostram que neste tipo de estudo in vitro com blocos de dentina com lesão cariosa artificial, a dureza de superfície deve ser usada para seleção dos blocos dentais, pois após as ciclagens de desmineralização e remineralização se faz necessário avaliar a perda mineral por meio da dureza de dentina seccionada longitudinalmente. Outra análise que seria muito útil e importante é a microradiografia.

Avaliando os valores de ΔS dos blocos de dentina a partir de 32 horas de imersão, esses valores não diferiram mais, podendo assim ser sugerido que atingiram um platô. Após os blocos de dentina ficarem imersos por 16 horas, os valores de ΔS não diferiram nem do grupo controle nem dos demais tratamentos, podendo assim sugerir que após 16 horas estamos em um período intermediário de indução de lesão cariosa artificial. Ainda é importante ressaltar que apenas 6 blocos dentais foram utilizados para esta análise e assim há uma grande variação. Desta forma, o ideal é que o n desta análise fosse maior. No entanto, dos 30 blocos imersos na solução desmineralizante por cada um dos tempos, 24 blocos serão ainda utilizados para avaliação do efeito dose-resposta do flúor em um estudo in vitro de ciclagem de pH, o que será importante para se avaliar o efeito do flúor frente a diferentes tipos de lesão cariosa.

Observando a dureza da dentina seccionada longitudinalmente a cada distância da superfície, percebe-se que na camada superficial da lesão os valores de dureza de todos os grupos de imersão na solução desmineralizante não diferem

significativamente entre si, exceto apenas o grupo controle. Porém, após 40 μm os grupos de 16 e 32 horas passam a não diferir significativamente do controle, sugerindo uma lesão cariosa mais superficial. Para que a dureza dos blocos dentais imersos por 48 e 64 horas não tenha diferença significativa em relação ao controle, é necessário avançar até 60 μm de distância da superfície. Assim para os tempos de 16 e 32 horas temos uma lesão mais superficial, porém para os tempos de 48 e 64 horas temos uma lesão um pouco mais profunda.

Considerando a dosagem de cálcio nas soluções desmineralizantes nas quais os blocos dentais ficaram imersos, que poderia ser um indicador químico da perda mineral, não houve diferença significativa entre os grupos de tratamento e isso pode ter ocorrido devido ao fato dos blocos ficarem imersos em um grande volume de solução desmineralizante, isto é, 100 mL por bloco dental. Desta forma, a avaliação não foi sensível o suficiente para mensurar a perda de cálcio dos blocos dentais para a solução desmineralizante.

Em estudos futuros seria interessante avaliar o efeito do flúor em lesões mais superficiais e em lesões mais profundas, verificando assim sua capacidade de remineralizar esses dois tipos de lesões, além de criar um modelo de indução de lesões de cárie artificial com uma quantidade menor de solução desmineralizante que possa permitir mensurar a perda de cálcio da dentina para a solução.

7. Conclusão

Os resultados do presente estudo sugerem que o tempo de imersão na solução desmineralizante influencia na profundidade da lesão cariiosa artificial e que para avaliarmos a perda mineral em estudos como este a dureza da dentina seccionada longitudinalmente é mais indicada para dentina do que a dureza de superfície.

8. Referências

- Aires CP, Del Bel Cury AA, Tenuta LM, Klein MI, Koo H, Duarte S, *et al.* (2008). Effect of starch and sucrose on dental biofilm formation and on root dentine demineralization. *Caries Res* 42:380-386.
- Baysan A, Lynch E, Ellwood R, Davies R, Peterson L, Borsboom P. Reversal of primary root caries using dentifrices containing 5.000 and 1.100 ppm fluoride. *Caries Res*. 2001; 35: 41-6.
- Curzon MEJ, Preston AJ. Risk groups: nursing bottle caries/caries in the elderly. *Caries Res*. 2004; 38: 24-33.
- Du M, Jiang H, Tai B, Zhou Y, Wu B, Bian Z. Root caries patterns and risk factors of middle-aged and elderly people in China. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2009; 37(3): 260-6.
- Featherstone JDB, ten Cate JM, Shariati M, Arends J (1983). Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res* 17:385-391.
- Fiske CH, Subbarow Y: The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem*. 1925; 66:375-400.
- Fushida CE, Cury JA. Estudo in situ do efeito da frequência de ingestão de coca cola na erosão do esmalte-dentina e reversão pela saliva. *Rev Odontol Univ São Paulo* 1999; 13: 127-34.
- Heijnsbroek M, Paraskevas S, Van der Weijden GA. Fluoride interventions for root caries: a review. *Oral Health Prev Dent*. 2007; 5(2): 145-52.
- Kielbassa AM, Wrbas KT, Schulte-Mönting J, Hellwig E (1999). Correlation of transversal microradiography and microhardness on in situ-induced demineralization in irradiated and nonirradiated human dental enamel. *Arch Oral Biol* 44:243-251.
- Lynch E, Baysan A. Reversal of primary root caries using a dentifrice with a high fluoride content. *Caries Res*. 2001; 35(1): 60-4.
- Marthaler TM. Changes in dental caries 1953-2003. *Caries Res*. 2004; 38: 173-8.
- Mukai Y, ten Cate JM. Remineralization of advanced root dentin lesions in vitro. *Caries Res*. 2002;36:275-80.
- Narvai PC, Frazão P, Roncalli AG, Antunes JL. Dental caries in Brazil: decline, polarization, inequality and social exclusion. *Panam Salud Publica*. 2006; 19: 385-93.

Queiroz CS, Hara AT, Paes Leme AF, Cury JA. pH-cycling models to evaluate the effect of fluoride dentifrice on dentin de-remineralization. 2011, em redação.

Richards D. Fluoride has a beneficial effect on root caries. *Evid Based Dent*. 2009; 10(1): 12.

Rihs LB, Sousa Mda L, Wada RS. Dental root surface caries prevalence among adults and senior citizens in southeast São Paulo State, Brazil. *Cad Saude Publica*. 2005; 21(1): 311-6.

ten Cate JM. Remineralization of deep enamel dentine caries lesions. *Aust Dent J*. 2008;53:281-5.

Thomson WM. Dental caries experience in older people over time: what can the large cohort studies tell us? *Br Dent J*. 2004; 196(2): 89-92.

Vale GC, Tabchoury CPM, Del Bel Cury AA, Tenuta LMA, ten Cate JM, Cury JA. APF and Dentifrice Effect on Root Dentin Demineralization and Biofilm *J Dent Res*. 2011; 90: 77-81.

White DJ: Reactivity of fluoride dentifrices with artificial caries. *Caries Res*. 1987; 21:126-40.