

**RENATA FARIA PEREIRA**

**ESTUDO *IN VITRO* DA EFICÁCIA ANTICÁRIE DO CREME Á BASE DO  
COMPLEXO DE FOSFOPEPTÍDEO DE CASEÍNA (CPP) - FOSFATO DE  
CÁLCIO AMORFO (ACP) EM DENTES HUMANOS**

**BRASÍLIA  
2012**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**RENATA FARIA PEREIRA**

**ESTUDO *IN VITRO* DA EFICÁCIA ANTICÁRIE DO CREME Á BASE  
DO COMPLEXO DE FOSFOPEPTÍDEO DE CASEÍNA (CPP) - FOSFATO DE  
CÁLCIO AMORFO (ACP) EM DENTES HUMANOS**

**Dissertação apresentada como requisito  
parcial para a obtenção do Título de Mestre em  
Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-  
Graduação em Ciências da Saúde da  
Universidade de Brasília.**

**Orientador: Prof. Dra Soraya Coelho Leal**

**BRASÍLIA  
2012**

**RENATA FARIA PEREIRA**

**ESTUDO *IN VITRO* DA EFICÁCIA ANTICÁRIE DO CREME Á BASE  
DO COMPLEXO DE FOSFOPEPTÍDEO DE CASEÍNA (CPP) - FOSFATO DE  
CÁLCIO AMORFO (ACP) EM DENTES HUMANOS**

**Dissertação apresentada como requisito parcial  
para a obtenção do Título de Mestre em Ciências da  
Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em  
Ciências da Saúde da Universidade de Brasília**

**Aprovada em 09 /08/ 2012**

**BANCA EXAMINADORA**

**Prof<sup>a</sup>. Dra. Soraya Coelho Leal (presidente)  
Universidade de Brasília**

**Prof. Dr. Orlando Ayrton de Toledo  
Universidade de Brasília**

**Prof. Dr. Sérgio de Freitas Pedrosa  
Universidade de Brasília**

**Suplente:**

**Prof<sup>a</sup>. Dra. Ana Cristina Bezerra Barreto  
Universidade de Brasília**

*Dedico este trabalho a Deus,  
meu criador, e à minha família,  
pelo apoio incondicional.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pois tudo posso Naquele que me fortalece.

À minha família, pelo apoio constante e incondicional.

À minha querida orientadora Prof<sup>a</sup> Dra Soraya Coelho Leal, pelos ensinamentos, apoio, atenção e carinho durante essa longa caminhada.

Ao Prof. Dr. Jo Frencken pela costumeira disponibilidade, atenção e ajuda durante todo o delineamento do presente estudo.

Ao Prof. Dr. David Manton pela valiosa ajuda durante o delineamento da metodologia deste estudo.

Ao departamento do Serviço de Compras Internacionais da Universidade de Brasília, por viabilizar o recebimento do *MI Paste* por meio de doação internacional.

À empresa GC América e GC Europa pela doação do produto *MI Paste*.

Ao Prof. Dr Jaime Cury, pelos ensinamentos, apoio, disponibilidade e cessão de toda estrutura do Laboratório de Bioquímica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP-Unicamp) para que fosse realizada a fase experimental do presente estudo.

À Prof<sup>a</sup>. Dra Livia Tenuta pela disponibilidade e ajuda essencial na fase experimental deste estudo.

Ao Prof. Dr Wander José da Silva, pela pronta disponibilidade em realizar a análise estatística deste trabalho.

Aos colegas e profissionais do Laboratório de Bioquímica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP-Unicamp), pela receptividade e ajuda recebida, especialmente o Sr. Waldomiro Vieira Filho cuja ajuda foi essencial nas análises bioquímicas realizadas.

A dois grandes amigos de Piracicaba, Constanza Fernandes e Jerônimo Ribeiro Silva Júnior, de quem recebi decisivos apoio e auxílio, sempre acompanhados de muito carinho, na fase experimental da pesquisa.

À querida amiga Luciana Oliveira Pereira, que me ajudou muito na fase final deste trabalho.

A todos os pacientes que doaram os dentes para esta pesquisa.

À equipe de cirurgia buco-maxilo do Hospital Universitário de Brasília, que realizou a exodontia da maioria dos dentes utilizados

A todos os amigos e familiares que contribuíram de alguns forma para a finalização deste trabalho.

## RESUMO

**Introdução:** O CPP-ACP já tem demonstrado seu potencial anticárie em estudos *in vitro*, *in situ* e *in vivo*, entretanto notam-se alguns resultados divergentes. Além disso, nem sempre o complexo é comparado e/ou associado ao F, terapia padrão utilizada no controle da cárie. Dentre os estudos que avaliam a eficácia do CPP-ACP, a maioria estuda o seu potencial remineralizador e não a sua capacidade em inibir o processo de desmineralização em lesões iniciais. **Objetivo:** Avaliar o papel do CPP-ACP (*MI Paste*) associado ou não ao dentífrico fluoretado (1100 ppm NaF) em inibir a desmineralização dentária por meio de estudo *in vitro* randomizado. **Método:** Blocos de esmalte humano, com durezas superficiais iniciais conhecidas, foram submetidos a ciclagens de pH por 7 dias, a fim de que se produzissem lesões iniciais de cárie. Durante o período das ciclagens foram administrados os seguintes tratamentos: T1- água deionizada e destilada (controle negativo); T2- CPP-ACP (*MI Paste*); T3- dentífrico fluoretado (1100 ppm NaF); T4- CPP-ACP (*MI Paste*) + dentífrico fluoretado (1100 ppm NaF). Posteriormente foi avaliada a dureza longitudinal de todos os blocos. **Resultados:** Os tratamentos que tiveram melhor desempenho foram os que utilizaram o F isolado ou associado ao CPP-ACP. A perda de dureza observada foi de  $6.698,61 \pm 2.364,6$  e  $6.010,7 \pm 2.443,98$ , respectivamente ( $p < 0,05$  Teste de *Turkey*). Não houve diferença significativa entre esses dois tratamentos. A intervenção à base de CPP-ACP isolado foi a que apresentou maior perda de área de dureza no esmalte ( $\Delta S 12.664,46 \pm 2.423,90$ ;  $p < 0,05$ ) **Conclusão:** No modelo *in vitro* utilizado o CPP-ACP isolado ou associado ao F não demonstrou maior potencial em inibir a desmineralização dentária do que a terapia fluoretada.

**Palavras-chave:** CPP-ACP, *MI Paste*, complexo de caseína, flúor, remineralização dentária, desmineralização dentária, estudo *in vitro*

## ABSTRACT

**Introduction:** CPP-ACP anti-caries potential has been demonstrated by *in vitro*, *in situ* and *in vivo* studies. However, the outcomes may divert. Moreover, the complex is not always compared and/or associated to F, the therapy that is considered standard for caries control. Among the studies that assess CPP-ACP efficacy, the majority evaluates its ability in remineralizing and not its ability in inhibiting the demineralization process of early enamel lesions. **Objective:** To assess the CPP-ACP (MI Paste) effectiveness when associated or not to a fluoridated toothpaste (1100 ppm NaF) in inhibiting enamel demineralization through a randomized *in vitro* study. **Method:** Human enamel blocks, with known superficial hardness, were submitted to pH-cycling for 7 days to obtain early lesions. During the cycling period the following treatments were administered: T1- distilled deionized water (negative control); T2- CPP-ACP (MI Paste); T3- fluoridated toothpaste (1100 ppm NaF); T4- CPP-ACP (MI Paste) + fluoridated toothpaste (1100 ppm NaF). Immediately after, cross-sectional microhardness was obtained from all blocks. **Results:** Treatments that used F or F associated to CPP-ACP were those with best performance. Mineral loss observed was  $6.698,61 \pm 2.364,6$  and  $6.010,7 \pm 2.443,98$ , respectively ( $p < 0.05$  Turkey Test). No statically difference was observed between these two treatments. The intervention based on CPP-ACP not associated with fluoridated toothpaste was the one that showed the highest mineral loss ( $\Delta S 12.664,46 \pm 2.423,90$ ;  $p < 0.05$ ) **Conclusion:** The CPP-ACP associated or not to a fluoridated toothpaste did not show a better potential in inhibiting enamel demineralization in comparison to the fluoride therapy considering the *in vitro* model used.

**Keywords:** CPP-ACP, *MI Paste*, caseins, fluoride, tooth remineralization, tooth demineralization, *in vitro*

## LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Confecção de blocos de esmalte	42
Figura 02	Polimento com auxílio da politriz	43
Figura 03	Mensuração da dureza inicial com auxílio do microdurômetro	44
Figura 04	Modelo esquemático das ciclagens de pH	45
Figura 05	Tratamento grupo 1: ADD	46
Figura 06	Tratamento grupo 2: CPP-ACP na forma de <i>MI Paste</i>	46
Figura 07	Tratamento grupo 3: Suspensão F 1100 ppm	47
Figura 08	Tratamento grupo 4: Suspensão F 1100 ppm + CPP-ACP ( <i>MI Paste</i> )	47
Figura 09	Preparo dos blocos para avaliação da dureza longitudinal	50
Figura 10	Mensuração da dureza longitudinal com auxílio do microdurômetro	51
Figura 11	Modelo ilustrativo da biópsia de F	52
Figura 12	Modelo ilustrativo da mensuração de P	53
Figura 13	Modelo ilustrativo da mensuração da F nas soluções Des e Res	54
Figura 14	Médias de Dureza (kg/mm <sup>2</sup> ) por distância da superfície (µm)	56
Figura 15	Área de perda de dureza ( $\Delta S$ ) de acordo com os tratamentos	57



## LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Descrição da estratégia de busca de revisões sistemáticas	78
Tabela 02	Descrição da estratégia de busca de ECR	79
Tabela 03	Estudos <i>in vivo</i> e <i>in situ</i> encontrados na revisão de Azarpazhooh <i>et al</i> 2008	80
Tabela 04	Estudos <i>in vivo</i> e <i>in situ</i> encontrados na revisão de Yengopal e Mickenautsch, 2009	82
Tabela 05	Estudos <i>in vivo</i> e <i>in situ</i> encontrados em busca no <i>Pubmed</i>	83
Tabela 06	Descrição da estratégia de busca de estudos randomizados <i>in vitro</i>	86
Tabela 07	Características dos estudos <i>in vitro</i> que avaliam a inibição da desmineralização promovida pelo CPP-ACP	34
Tabela 08	Média de dureza superficial inicial	44
Tabela 09	Área de perda de dureza do esmalte ( $\Delta S$ ) após as ciclagens de pH e em função dos tratamentos	57
Tabela 10	Concentração de fluoreto no esmalte, expressa em ppm F após as ciclagens de pH e de acordo com os tratamentos	58
Tabela 11	Média de F na solução Des	59
Tabela 12	Média de F na solução Re	59

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACP	Fosfato de Cálcio Amorfo
ANOVA	Análise de variância ( <i>Analysis of variance</i> )
ADD	Água destilada e deionizada
B-ECOHis	<i>Early Childhood Oral Health Impact Scale</i>
°C	Graus Celsius
cm	Centímetro
Ca	Cálcio
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	Fosfato de cálcio
CPP	Fosfopeptídeo de caseína
ΔS	Perda de área de dureza
F	Termo genérico para definir as formas químicas iônicas (fluoreto ou íon flúor), ionizável (mineralizada, na forma de MFP) e não ionizável (ligado covalentemente) do elemento flúor
FA	Fluorapatita
g	Gramas
HA	Hidroxiapatita
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Ácido fosfórico
ICDAS	Sistema Internacional de Avaliação e Detecção de Lesões de Cárie
KHN	Valores de dureza <i>Knoop</i>
MFP	Mono flúor fosfato
mm	Milímetro
μm	Micrômetro
NaF	Fluoreto de Sódio
(OH)	Íons hidroxila
P	Fosfato
PEC	Polissacarídeos extracelulares
ppm	Partes por milhão
pH	Potencial hidrogeniônico
μm	Micrômetro
RS	Revisão sistemática
Solução Des	Solução desmineralizante
Solução Re	Solução remineralizante

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	13
1.1 JUSTIFICATIVA	16
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b>	18
2.1 DOENÇA CÁRIE	19
<b>2.1.1 Relações físico químicas entre estrutura dentária, saliva e biofilme</b>	20
<b>2.1.2 O papel anticárie do F</b>	23
2.2 O COMPLEXO CPP-ACP	26
<b>2.2.1 Eficácia do CPP-ACP</b>	29
2.2.1.1 Revisões Sistemáticas	29
2.2.1.2 Estudos <i>in vivo</i> e <i>in situ</i>	31
2.2.1.3 Estudos <i>in vitro</i>	33
<b>3 OBJETIVOS</b>	37
3.1 OBJETIVO GERAL	38
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	38
<b>4 MÉTODOS</b>	39
4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	40
4.2 OBTENÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE DENTAL HUMANO	41
<b>4.2.1 Confecção dos blocos de esmalte</b>	41
<b>4.2.2 Polimento dos blocos dentais</b>	42
4.3 ANÁLISE DA DUREZA INICIAL DOS BLOCOS DE ESMALTE	43
4.4 RANDOMIZAÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE	44
4.5 CICLAGENS DE pH	45
4.6 TRATAMENTOS	48
4.7 ANÁLISE DA DUREZA DO ESMALTE SECCIONADO LONGITUDINALMENTE	49
4.8 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE F NO ESMALTE	51
4.9 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE F NAS SOLUÇÕES DESMINERALIZANTE E REMINERALIZANTE ANTES E APÓS A CICLAGEM DE pH	53
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA	54
<b>5 RESULTADOS</b>	55
5.1 MICRODUREZA DO ESMALTE SECCIONADO LONGITUDINALMENTE	56
5.2 CONCENTRAÇÃO DE F NO ESMALTE	58
5.3 CONCENTRAÇÃO DE F NAS SOLUÇÕES DESMINERALIZANTE E REMINERALIZANTE ANTES E APÓS A CICLAGEM DE pH	58
<b>6 DISCUSSÃO</b>	60

<b>7 CONCLUSÃO</b>	67
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	69
<b>APÊNDICE A</b> - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	76
<b>APÊNDICE B</b> - Tabelas 1 e 2	78
<b>APÊNDICE C</b> – Tabelas 3, 4, e 5	80
<b>APÊNDICE D</b> – Tabela 6	86
<b>APÊNDICE E</b> - Artigo	87
<b>ANEXO A</b> – Documento de Aprovação pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina Ciências da Saúde – Universidade de Brasília	112



## 1 INTRODUÇÃO

A Odontologia teve muitos dos seus conceitos modificados no século XX. Dentre essas mudanças, uma das mais importantes se refere ao entendimento da cárie dental como doença. A partir de então, formas mais eficazes do seu tratamento e prevenção vêm sendo pesquisadas. Sabe-se que a cárie é uma doença multifatorial e que o seu desenvolvimento é decorrente da interação entre a estrutura dentária, os microorganismos cariogênicos e a presença de carboidratos fermentáveis. Dessa forma, medidas primárias para o seu controle estariam relacionados à desorganização periódica da placa dental bacteriana e à frequência no consumo desses carboidratos (1,2).

Entretanto, uma das medidas mais impactantes para o controle da cárie tem sido o uso de flúor (F). Embora a sua utilização de forma isolada apenas reduza a progressão da doença, o declínio mundial da manifestação clínica da cárie tem sido atribuído ao uso abrangente de uma ou mais formas de aplicação do flúor (1,3).

Ainda que o seu declínio tenha ocorrido nas últimas décadas, segundo a Organização Mundial de Saúde em 2003, a doença cárie ainda constitui o maior problema de saúde pública na maioria dos países industrializados. Afeta de 60 a 90% das crianças em idade escolar e a grande maioria dos adultos (4). Dessa forma, busca-se implementar métodos de diagnóstico de lesões de cárie em estágios iniciais, a fim de que se evite a sua progressão e, por consequência, a necessidade de intervenção restauradora. O Sistema Internacional de Avaliação e Detecção de Lesões de Cárie (ICDAS) é um importante instrumento de diagnóstico dos diferentes estágios da doença, utilizado internacionalmente para auxiliar no tratamento e controle da cárie (5). Têm sido estudadas, também, diferentes terapias preventivas com potencial de aumentar o grau de remineralização, reduzir o processo de desmineralização e, portanto, promover a redução da incidência de lesões ativas de cárie (6).

Recentemente, muitos estudos têm centrado suas avaliações na concentração de cálcio (Ca) e fosfato (P) presentes nos dentes. Esses íons são os principais componentes da estrutura mineral dentária e estão intimamente relacionados ao processo de desmineralização. Dessa forma, concentram-se muitos esforços na análise da deposição desses minerais sobre a estrutura dentária (6).

Um composto à base de Ca e P muito estudado nos últimos anos é o complexo de fosfopeptídeo de caseína (CPP) associado ao fosfato de cálcio amorfo (ACP). O CPP-ACP tem demonstrado possuir uma atividade anticariogênica em experimentos laboratoriais, animais e em humanos. O potencial desse complexo em fornecer íons biodisponíveis de Ca e P é baseado na habilidade do CPP estabilizar o ACP. Tal complexo age como um reservatório de cálcio e de fosfato que se liga à placa e à superfície dentária. Diante de um meio ácido, o CPP- ACP libera íons de Ca e P, de forma que se mantém uma supersaturação mineral no ambiente externo ao dente, reduzir o processo de desmineralização e estimulando a remineralização. Diante de um meio ácido, esse complexo libera íons de Ca e P, e se mantém uma supersaturação mineral no ambiente externo ao dente, e se consegue reduzir o processo de desmineralização e estimular a remineralização (7,8). Além disso, esse complexo tem mostrado possuir um efeito sinérgico aos compostos fluoretados (9).

Segundo revisão sistemática realizada por *Azarpazhooh et al (7)*, a quantidade e a qualidade dos estudos disponíveis são insuficientes para serem tiradas conclusões sobre a efetividade, a longo prazo, do CPP-ACP em prevenir lesões de cárie. A meta-análise publicada por *Yengopal e Mickenautsch (8)* concluiu que os estudos *in situ* avaliados indicaram um efeito remineralizador do CPP-ACP, em um curto período de observação, e que os estudos *in vivo* sugeriam efeito do uso prolongado do CPP-ACP na prevenção cárie. Ambas as revisões sugerem a realização de mais estudos, bem delineados, a fim de se comprovar o efeito do CPP-ACP na progressão da doença cárie.

Nota-se que, dentre os estudos *in vivo* e *in situ* que avaliam a eficácia clínica do CPP-ACP, a maioria avalia o seu potencial remineralizador e não a sua capacidade em inibir o processo de desmineralização em lesões iniciais. Apesar do crescimento do número de publicações *in vivo* e *in situ* na área de cariologia, os estudos *in vitro* ainda são muito utilizados. Por meio desses estudos podem ser realizados diversos modelos de ciclagem de pH, os quais permitem um grande controle sobre composições das soluções desmineralizantes (Des) e remineralizantes (Re), do tempo de cada tratamento e da permanência dos dentes em diferentes condições de pH. O experimento *in vitro* permite que o pesquisador possa avaliar uma única variável sob as demais condições do estudo controladas. Dessa forma, consegue-se avaliar o potencial anticárie dos produtos testados (10).

Em busca realizada na base *Pubmed*, em junho de 2012, por estudos randomizados *in vitro* que avaliassem a eficácia do CPP-ACP, foram identificados apenas 4 estudos que estudaram o papel desse complexo de caseína na redução do processo de desmineralização dentária. Além disso, os resultados encontrados entre esses estudos foram divergentes.

Nesse contexto, propõe-se realizar estudo randomizado *in vitro* em dentes humanos de população brasileira residente em área com água fluoretada, com o intuito de avaliar o potencial do CPP-ACP, isolado ou em associação ao F, em reduzir a desmineralização dentária em dentes humanos.

## 1.1 JUSTIFICATIVA

Diante dos desafios cariogênicos aos quais as estruturas dentárias são usualmente submetidas, nota-se que há a tentativa de se desenvolverem métodos de diagnóstico de lesões de cárie em estágios iniciais, a fim de que se evite a sua progressão e, por consequência, a necessidade de intervenção restauradora. Têm sido estudadas, também, diferentes terapias preventivas com potencial de aumentar o grau de remineralização, reduzir o processo de desmineralização e, portanto, promover a redução da incidência de lesões ativas de cárie (6).

Apesar de o CPP-ACP já ter demonstrado seu potencial anticárie em estudos *in vitro*, *in situ* e *in vivo*, notam-se alguns resultados divergentes. Além disso, nem sempre o complexo é comparado ao F, terapia padrão utilizada no controle da cárie. Soma-se a isso, também, o fato de que o papel anticárie do CPP-ACP associado ao F é ainda pouco estudado (7,8).

Ainda, dentre os estudos que avaliam a eficácia do CPP-ACP, a maioria estuda o seu potencial remineralizador e não a sua capacidade em inibir o processo de desmineralização em lesões iniciais.

Apesar de o nível de evidência científica dos estudos randomizados *in vivo* e *in situ* ser maior que dos estudos *in vitro* (57), sabe-se que os modelos *in vitro* são comumente utilizados na área de pesquisa de cariologia. Nesses estudos consegue-se ter grande controle sobre as variáveis estudadas, o que resulta em uma menor variabilidade de resultados e à necessidade de um menor tamanho amostral (58).



Em relação aos estudos *in vitro* que avaliam o papel do CPP-ACP na redução do processo de desmineralização dentária, foram identificados apenas 4 estudos, com metodologias e resultados diferentes entre si (6,54-56)

Diante desse cenário, propõe-se realizar o primeiro estudo *in vitro* brasileiro que avalie a habilidade do CPP-ACP, isolado ou associado ao F, em inibir a desmineralização dentária, em comparação à terapia fluoretada. Ressalta-se que será avaliado o efeito anticárie observado no corpo da lesão de cárie, uma vez que uma das grandes vantagens do CPP-ACP seria promover a remineralização das camadas subsuperficiais da lesão (16).



## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 A DOENÇA CÁRIE

A doença cárie constitui um problema de saúde pública mundial. Suas consequências impactam de forma negativa na qualidade de vida e na produtividade econômica dos adultos, e na saúde global das crianças. Quando a doença não é tratada durante idade escolar, observa-se uma pior qualidade de vida, desconforto e dificuldade na ingestão de alimentos, fato que pode gerar dificuldade no ganho de peso e no desenvolvimento cognitivo das crianças (4). Estudo recente conduzido por Leal *et al* avaliou o impacto da prevalência de lesões cavitadas em dentina na dentição primária e das consequências em não se tratar esse tipo de lesão na qualidade de vida de 826 crianças brasileiras de baixa renda, em idade escolar. Para tal, foi aplicada a versão brasileira validada do questionário canadense *B-ECOHIS* (*Early Childhood Oral Health Impact Scale*). Concluiu-se que a qualidade de vida dessas crianças foi influenciada de forma negativa pela presença dessas lesões não tratadas e de suas consequências, como dor, exposição pulpar e presença de abscessos e fístulas (11).

Uma vez que países subdesenvolvidos e em desenvolvimento quase sempre têm dificuldade em financiar o tratamento restaurador da doença, grande esforço deve ser concentrado no seu controle (4). Para tal, é preciso identificar a cárie como uma patologia, distinguindo seus diversos estágios de desenvolvimento. A cavidade é apenas um estágio mais avançado da perda mineral progressiva dos tecidos dentários, que depende da presença do biofilme e da exposição ao açúcar. Logo, deve-se considerar que para o controle efetivo da doença é importante agir sobre os fatores etiológicos e não somente nos sinais clínicos da doença (12).

Desde a década de 60, sabe-se do caráter multifatorial da cárie, causada pela complexa relação entre os microorganismos cariogênicos, estrutura dentária e carboidratos fermentáveis (principalmente a sacarose) (13).

Por cerca de meio século, a cárie foi definida como uma doença infecciosa e transmissível. Considerava-se que se tratava de uma infecção provocada por agente específico *Streptococcus mutans* (SM). Entretanto, atualmente sabe-se que a relação entre SM e a cárie dental não é absoluta. Grande concentração desses microorganismos pode prevalecer em superfícies dentárias não atingidas pela

doença, assim como lesões de cárie podem se desenvolver na ausência dessas bactérias. Dessa forma, pode-se concluir que o SM não possui papel específico no desenvolvimento da doença. Na verdade, o desenvolvimento dos microorganismos cariogênicos na cavidade bucal se relaciona a um distúrbio na homeostase do biofilme dental, que permite a ocorrência de infecções oportunistas causadas por microorganismos endógenos (2).

Logo, atualmente impera o conceito de que a cárie é uma doença complexa causada por um distúrbio do equilíbrio fisiológico entre os componentes minerais dentários e o biofilme (2).

A crítica interação entre os fatores causais da doença é melhor explicada quando se conhecem as relações físico-químicas entre estrutura dental, saliva e placa bacteriana, e, por consequência, suas implicações clínicas. Essas relações, diretamente ligadas aos processos de remineralização e desmineralização dentária, serão explicadas a seguir.

### **2.1.1 Relações físico químicas entre estrutura dentária, saliva e biofilme**

O esmalte e a dentina são compostos de minerais à base de apatita (sais que contêm cálcio e fosfato). Há um processo dinâmico relacionado a esses minerais durante o desenvolvimento dental e após a erupção, pois o comportamento dos componentes químicos do dente depende de fatores do meio oral (1).

Dentre outros fatores já mencionados, a doença cárie é induzida por microorganismos endógenos. A microbiota oral forma, inevitavelmente, biofilme sobre a estrutura dentária. Define-se biofilme como uma comunidade de bactérias estruturadas de forma organizada sobre uma interface. O biofilme oral é composto por bactérias em polímeros extracelulares de origem bacteriana e produtos do exsudato gengival e saliva (2).

Sabe-se que as bactérias, especialmente as do grupo *mutans*, possuem enzimas denominadas glicosiltransferases, presentes na superfície bacteriana e na película adquirida do esmalte (fina camada acelular intimamente aderida ao esmalte dentário). Na presença de sacarose, essas enzimas produzem os polissacarídeos insolúveis, que facilitam a adesão das bactérias a superfícies mais lisas. Paralelamente, a sacarose fornece energia para a multiplicação das bactérias, e formam-se entre elas os polissacarídeos extracelulares (PEC). Logo, a sacarose

facilita a formação de placa, que com característica porosa devido a essa matriz de polissacarídeos, torna a placa dental mais cariogênica. Dessa forma, facilita-se a difusão de açúcares por essa matriz, fato que promove quedas mais acentuadas de pH na interface dente-placa. Além disso, sabe-se que o biofilme dental formado pela presença de sacarose tem menores concentrações inorgânicas de cálcio, fosfato e flúor (1).

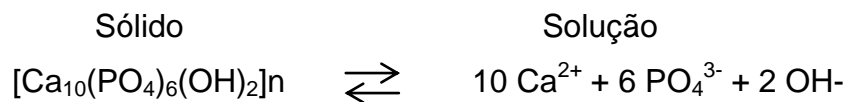
A presença do biofilme é necessária para desenvolvimento da cárie, entretanto não é condição única; carboidratos fermentáveis devem estar presentes para que ácidos sejam produzidos e se difundam através do biofilme (13). Logo, a sacarose e o biofilme são, respectivamente, fatores determinante e necessário para a manifestação da doença. Em condições fisiológicas, os fluidos orais (saliva e biofilme) apresentam concentração de cálcio (Ca) e fosfato (P) maior no meio externo ao dente (supersaturação) que na hidroxiapatita (HA - forma cristalizada do fosfato de cálcio), integrante primário da estrutura do esmalte. Esses íons são continuamente depositados nas superfícies dentárias e em áreas em que ocorreram processos de desmineralização. Esse processo é conhecido como “fenômeno de defesa natural” promovido pela saliva para promover a preservação mineral do esmalte dentário (12).

A saliva, por apresentar cálcio e fosfato, protege naturalmente o esmalte e a dentina. Entretanto, variações de pH, devido ao tipo de dieta e da consequente formação de produtos ácidos, determinarão o limite da capacidade da saliva em proteger os dentes. O conceito de pH crítico é utilizado para determinar quando a saliva não possui mais a capacidade de “defesa natural” dos dentes. Nesse aspecto, o pH crítico para o esmalte é diferente do da dentina. Dessa forma, enquanto a saliva protege o esmalte até que o pH não seja inferior a 5,5, a dentina não resiste a um pH inferior a 6,5, devido a seu menor conteúdo mineral e a uma maior concentração de carbonato. Logo, produtos que não são considerados cariogênicos para o esmalte, por não atingir pH inferior ao crítico, podem ser cariogênicos para a dentina (1).

A perda (desmineralização) e o ganho (remineralização) de minerais na superfície de esmalte é um processo físico-químico dinâmico que ocorre quando as bactérias presentes no biofilme dentário são expostas a uma dieta composta principalmente de sacarose. Sempre que o açúcar penetra no biofilme cariogênico, ele é convertido em ácido e o fluido do biofilme torna-se subsaturado em relação ao

componente mineral do esmalte. Nessa situação, o pH possui um valor baixo crítico, em que ocorre desmineralização do esmalte. Entretanto, após certo período, o pH tem seu valor fisiológico retomado quando o consumo de açúcar é cessado, e as condições de supersaturação são restabelecidas. Nesse momento ocorre reposição de certa quantidade mineral perdida, processo denominado remineralização dentária. Essa reposição do mineral perdido ocorre por meio dos íons de Ca e P presentes no fluido do biofilme e na saliva, logo após a remoção do biofilme dentário pela escovação. A quantidade de Ca e P repostas é menor que a perdida, de forma que ocorrem pequenas perdas minerais (12).

Para entender melhor esse processo é importante explicitar como ocorre, bioquimicamente, o equilíbrio iônico entre as fases sólida e iônica da HA ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ):



Quando a concentração de qualquer um dos íons ( $\text{Ca}^{2+}$  ou  $\text{PO}_4^{3-}$  ou  $\text{OH}^-$ ) for diminuída na solução, o equilíbrio se deslocará para o lado direito da equação demonstrada acima, promovendo dissolução da fase sólida. Da mesma forma, um aumento na concentração de qualquer dos íons no lado direito da equação promoverá a precipitação de mais mineral na fase sólida, a fim de se manter constante o equilíbrio de solubilidade da HA (14).

Quando há uma queda no pH, há diminuição da concentração de 2 dos 3 componentes do lado direito da equação ( $\text{PO}_4^{3-}$  e  $\text{OH}^-$ ). O íon  $\text{PO}_4^{3-}$  se liga ao  $\text{H}^+$  dos ácidos e se transforma, sucessivamente, nas formas  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , e até em  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (ácido fosfórico), dependendo do pH atingido. Ocorre também o consumo dos íons hidroxila ( $\text{OH}^-$ ), que reagem com o  $\text{H}^+$  e formam água. Dessa forma, há deslocamento da equação para a direita, o que leva à dissolução de parte sólida (14).

Por outro lado, quando houver um aumento na concentração de qualquer um dos íons do lado direito da equação de solubilidade,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  ou  $\text{OH}^-$ , haverá tendência de deslocamento para a esquerda, ou seja, no sentido de precipitação de minerais no sólido. Assim, quando o pH sobe, há aumento das concentrações de  $\text{OH}^-$  e de  $\text{PO}_4^{3-}$ , favorecendo a reposição do mineral que foi perdido

(remineralização), ou mesmo sua precipitação sobre o dente (cálculo dental) (14).

Se os fatores responsáveis pela doença (biofilme e exposição frequente ao açúcar) não forem controlados com o passar do tempo, a perda mineral não poderá ser impedida. Dessa forma, eventos de dissolução mineral ocorrerão repetidas vezes e poderão acarretar uma desmineralização maior que a capacidade remineralizadora dos fluidos orais (12). Logo, um desequilíbrio nesses processos de desmineralização e remineralização pode acarretar pequenas perdas minerais, somente observadas em microscopia eletrônica ou óptica, perdas minerais observadas clinicamente (manchas brancas), até a formação de cavidades na superfície dentária, em que será necessária a realização de intervenções invasivas. Além disso, é importante ressaltar que a doença cárie progride de forma diferente entre os indivíduos, pois se trata de uma doença em que a susceptibilidade individual também é um importante fator para sua progressão.

### **2.1.2 O papel anticárie do F**

Atualmente sabe-se que a ação do flúor (F) em interferir no processo de formação de lesões de cárie não é sistêmica, mas sim local. Para tal, o F deve estar presente no biofilme e na saliva no momento em que o meio bucal é exposto ao açúcar, ou após a remoção da placa, durante a escovação dentária (12).

Por muito tempo pensou-se que a FA incorporada ao dente seria importante para diminuir sua solubilidade. Entretanto, mesmo que o dente seja enriquecido com grande quantidade de FA, a porcentagem desse mineral no dente não chega a 10%. Logo a menor solubilidade da FA não consegue mudar a solubilidade do dente. Dessa forma, não é necessário incorporar F no dente em formação para que haja um efeito anticárie (13).

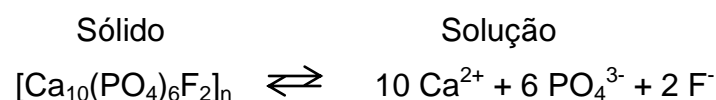
É importante ressaltar que o mecanismo de ação do F é o mesmo, independente da sua forma de aplicação. Todos os meios fornecem o íon F (fluoreto - F<sup>-</sup>), que reagirá com os íons de Ca disponíveis no meio bucal e formará o fluoreto de cálcio (CaF<sub>2</sub>). Esse composto servirá como um reservatório de fluoreto, que liberará o íon na cavidade oral para interferir no processo da cárie. O CaF<sub>2</sub> deposita-se nas superfícies dentárias limpas pela escovação, em remanescentes de placa dentária, e nota-se sua grande concentração em lesões de cárie incipiente, onde a porosidade da estrutura dentária e aumenta-se a área para reação do fluoreto.

Também ocorre a difusão e retenção do  $F^-$  em reservatórios orgânicos e inorgânicos do biofilme (13).

A hidroxiapatita (HA) se dissolve em pH 5,5, enquanto a FA (forma cristalizada de F, P e Ca) se dissolve em pH 4,5. Quando o pH oral fica entre 4,5 e 5,5, ocorre o processo de desmineralização da HA, em que há liberação de Ca, P e hidroxilas no ambiente bucal. Se o F está presente, esses íons reagem com ele e se forma a FA que, saturada nesse pH, deposita-se sobre a superfície dentária. Isso compensa a perda mineral ocorrida no pH entre 4,5 e 5,5. A interação entre os íons de Ca e de F, que formam a fluorapatita, é maior que entre os íons de Ca e OH, que forma a HA. Isso confere à FA uma maior estabilidade e uma menor solubilidade. Entretanto, essa reposição mineral ocorrida por meio da formação da FA não é considerada como uma remineralização de fato, mas sim como uma inibição da desmineralização, porque o componente mineral depositado é diferente do perdido. Além disso, a FA é depositada na superfície dentária, enquanto que a HA dissolve-se da região subsuperficial do dente (12).

Esse efeito indireto do F na redução de desmineralização dentária quando o pH cai, é complementado pelo efeito natural do F na remineralização dentária, quando o pH se eleva ou quando o biofilme é removido por meio da escovação. Nesse momento em que o dente é exposto à capacidade remineralizadora da saliva, a precipitação de mineral em regiões onde ele foi perdido será potencializada pela presença do F. Ou seja, haverá reposição de íons de Ca e P presentes no fluido do biofilme, por meio da HA e da FA (12).

Também é importante conhecer as relações bioquímicas ocorridas entre as fases sólida e iônica da FA ( $Ca_{10}(PO_4)_6F_2$ )



Da mesma forma como ocorre com a HA, a FA tem sua solubilidade governada pelas concentrações dos íons que a compõem, ou seja, cálcio, fosfato e fluoreto, no meio bucal. A concentração de fosfato é muito influenciada pela diminuição do pH, como já descrito para a HA. Assim, mediante diminuição do pH, a FA também se dissolverá. Entretanto, independente do pH, a FA é sempre menos solúvel do que a HA. Logo, quando o pH cai abaixo do crítico (5,5) para a dissolução



do mineral mais solúvel (HA), se houver a presença de apenas 0,02 ppm (parte por milhão) de  $F^-$ , o meio ainda se mantém supersaturado em relação a FA. Dessa forma, se o pH ficar entre 5,5 e 4,5, haverá dissolução de HA, mas se houver  $F^-$  no meio, haverá precipitação de FA, fazendo com que a perda líquida de mineral seja menor do que a ocorrida na ausência de  $F^-$  no meio (14).

Nota-se que o F, mesmo em pequenas concentrações, interfere no processo de desenvolvimento e progressão da cárie. Concentrações muito baixas de F na cavidade oral (0,02 ppm F) já permitem que os fluidos orais (saliva e fluido do biofilme) fiquem supersaturados em relação à fase mineral da FA. Esse efeito diário inibe a perda mineral e a observação clínica de lesões de cárie. Inclusive, pode até manter a perda mineral em estágio subclínico por toda a vida do indivíduo (13).

Desde que o desafio cariogênico não seja excessivo a presença constante do F na cavidade bucal pode reverter as pequenas perdas minerais que ocorrem diariamente, de forma que sinais clínicos de desmineralização não sejam observados. Entretanto, medidas preventivas de uso isolado do F não são suficientes para o controle da doença se os demais fatores não forem controlados.

Dentifrícios e soluções orais fluoretadas já demonstraram diminuir a atividade de cárie significativamente em ensaios clínicos randomizados controlados. Entretanto, observou-se que simultaneamente ao decréscimo dos índices relacionados à cárie, a prevalência de fluorose dental vem sendo observada em muitos países (15).

O uso de dentifrício fluoretado por crianças com idade menor que 3 anos, que pode resultar em ingestão adicional de F, tem sido o centro da discussão relacionada à fluorose. Apesar de essa situação ser considerada um fator de risco, recente revisão da literatura mostrou que a associação entre o uso de dentifrício fluoretado em crianças com menos de 12 meses e o aumento do risco de fluorose possui fraco nível de evidência. Além disso, a recomendação para que crianças até 2-3 anos de idade não utilizem dentifrício fluoretado não é baseada em evidência científica. Não há estudo que demonstre que tal recomendação impedirá ou reduzirá o risco de fluorose, considerando que outras fontes de flúor estão disponíveis (13).

Acredita-se que uma boa recomendação sobre o uso de dentifrícios fluoretados em crianças, considerando os riscos e benefícios, é a utilização de pequena porção de dentifrício durante a escovação. Como o efeito anticárie do F depende de sua concentração no meio bucal e o risco de fluorose depende da dose

ingerida, de acordo com o peso da criança, a redução da dose de dentifrício fluoretado durante a escovação reduziria o risco de fluorose sem afetar o benefício anticárie amplamente estabelecido dos dentifrícios fluoretados (13).

## 2.2 O COMPLEXO CPP-ACP

Sabe-se que a capacidade remineralizadora da saliva se relaciona à sua habilidade em fornecer íons de Ca e P à estrutura dental. Em pH acima de 5,5 a saliva é supersaturada em relação à maioria das fases sólidas do íon cálcio. Entretanto, a taxa líquida de remineralização (taxa de remineralização – taxa de desmineralização) promovida pela saliva é pequena e ocorre por meio de processo lento (16). Além disso, há tendência de o ganho de mineral ocorrer na camada superficial da lesão, pois há baixo gradiente de concentração iônica (Ca e P) no interior da lesão (17). Recentemente, Van der Veen *et al.* (18) e Mattousch *et al.* (19) analisaram lesões de mancha branca após remoção de aparelho ortodôntico por meio de fluorescência quantitativa de luz induzida. A maioria das lesões eram estáveis, sem sinais mensuráveis de regressão, mesmo após dois anos. Dessa forma, concluiu-se que há necessidade de que novos sistemas remineralizadores sejam desenvolvidos a fim de inibir, de fato, a regressão da lesão.

O uso clínico dos íons de Ca e P para promoção da remineralização dentária não teve muito sucesso no passado, devido à baixa solubilidade do fosfato de cálcio ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ), principalmente na presença de íons de F. Fosfato de cálcio insolúvel não é facilmente aplicado, não se concentra adequadamente sobre a superfície dental e requer meio ácido para produzir íons capazes de se difundirem em lesões subsuperficiais de esmalte. Já os íons solúveis de Ca e P não têm a capacidade de se incorporarem à placa dental ou de se concentrarem na superfície do dente a fim de se produzir gradiente de concentração eficiente que induza à difusão desses minerais para a camada subsuperficial dentária (20).

Diante dessas limitações, um novo produto com potencial remineralizador, à base de Ca e P, foi desenvolvido. Trata-se do complexo formado pelo fosfopeptídeo de caseína (CPP), que consegue estabilizar o fosfato de cálcio amorfo (ACP). Esse produto foi patenteado sob a marca comercial *Recaldent*<sup>®</sup> e se propõe a ter uma ação adjuvante à dos compostos fluoretados no tratamento não invasivo de lesões iniciais de cárie (16).

A habilidade do leite bovino em remineralizar lesões subsuperficiais de esmalte já foi demonstrada em estudos *in vitro*, há muitos anos. A caseína, proteína mais prevalente no leite, quando hidrolisada produz fosfopeptídios de caseína (CPP), os quais representam aproximadamente 10% da proteína caseína. O CPP, que contém a sequência – Ser(P)-Ser(P)- Ser(P)- Glu-Glu, possui grande habilidade em estabilizar altas concentrações de íons de Ca e P em uma solução metaestável, ou seja uma solução supersaturada com tendência a atingir a saturação. Por meio do seu agrupamento sequencial, o CPP se liga ao ACP e formam-se nano complexo (raio de 1,5 nm), de forma que se consegue evitar o seu crescimento a um tamanho crítico necessário para transformação de fase desses íons. Dessa forma, o CPP previne a precipitação do fosfato de cálcio e aumenta a concentração desses íons, na forma solúvel, no meio bucal (16).

O mecanismo de ação do CPP-ACP ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_{1.87}(\text{HPO}_4)_{0.2}$ ) ocorre na superfície e no interior da lesão. A natureza neutra e a dimensão desse nano complexo permitem que ele penetre nas porosidades da lesão de esmalte subsuperficial e se difundam para o interior do corpo da lesão, onde haverá liberação de íons de Ca e P. Esses íons se depositariam em espaços vazios presentes nos cristais de apatita, resultantes da perda mineral ocorrida durante os processos de desmineralização. Sabe-se que o CPP tem grande afinidade pela apatita, de forma que ao penetrar na lesão seria direcionado para a superfície termodinamicamente favorável dos cristais de apatita. Dessa forma, postula-se que a liberação dos íons de Ca e P seria termodinamicamente direcionada (16).

Além disso, tem-se demonstrado que o complexo de caseína se adere à matriz da placa dental e à superfície bacteriana, servindo como um reservatório de íons de Ca e P biodisponíveis, quando for necessário. Logo, diante de um meio ácido, o CPP- ACP libera esses íons, de forma que se mantém uma supersaturação mineral no ambiente externo ao dente e, por consequência, consegue-se reduzir o processo de desmineralização e estimular a remineralização (16). Também foi apresentada a capacidade do CPP-ACP em interferir na adesão de microorganismos cariogênicos no biofilme dentário (21). Todos esses processos ocorrem de forma dinâmica e simultânea e conferem o benefício anticárie ao CPP-ACP.

Em relação à interação entre o CPP-ACP e o F, tem sido reportado que o CPP-ACP reage com íons de F e são produzidos nanocomplexos de Ca, P e F (CPP-ACFP). Dessa forma espera-se um efeito anticariogênico adicional atribuído

ao CPP-ACFP, pois além da disponibilização de Ca e P, por meio do CPP, ocorre a disponibilização de F na superfície dental (placa, película adquirida do esmalte) (16).

Além disso, sabe-se que os íons de F formam a FA na presença dos íons de Ca e P no meio bucal. Entretanto, para formação de uma unidade de FA ( $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2]$ ), são necessários 2 íons de F, 10 íons de Ca e 6 íons de P. Dessa forma, durante a aplicação tópica de F a disponibilidade de Ca e P pode ser um fator limitante para formação da FA, fato exacerbado em condições de xerostomia. Logo, um mecanismo que forneça íons de Ca e P biodisponíveis (no caso, o CPP-ACP) pode auxiliar o F em seu processo de inibir a desmineralização e estimular a remineralização dentária (20). Foi demonstrado, por meio de experimentos *in vitro*, que a combinação resultante de níveis adequados de Ca, P e F pode produzir remineralização substancial de lesões de esmalte e até de dentina (22,23). Logo, o desafio agora é demonstrar esse potencial clinicamente, uma vez que a aplicação tópica de F promove uma remineralização predominantemente superficial (24-27). A remineralização superficial pouco interfere na profundidade da lesão, logo, um sistema ideal de remineralização deveria disponibilizar íons de F, Ca e P na forma biodisponível que favorecesse também a remineralização subsuperficial (16).

A intervenção à base de CPP-ACP mais comumente utilizada em estudos *in situ* ocorre por meio de gomas de mascar (*Trident Xtra Care*<sup>®</sup>, Américas; *Recaldent*, Japão). Outros veículos de CPP-ACP incluem enxaguatórios bucais e o creme tópico, denominado *Tooth Mousse*<sup>®</sup> (Europa e Austrália) ou *MI Paste*<sup>®</sup> (Estados Unidos e Japão) e o creme à base de CPP-ACP associado ao F (*MI Paste Plus*<sup>®</sup>) (16).

A maioria das publicações científicas sobre o efeito anticárie do CPP-ACP avaliam o seu potencial em remineralizar lesões iniciais de cárie. O seu papel em inibir a desmineralização não tem sido muito estudado em estudos clínicos.

## 2.2.2 Eficácia do CPP-ACP

Apesar de o mecanismo de ação do CPP-ACP sugerir uma eficácia anticárie desse composto, é importante verificar a evidência científica disponível que suporta tal benefício. Inicialmente serão apresentados estudos randomizados *in vivo* e *in situ* e posteriormente estudos *in vitro*.

### 2.2.1.1 Revisões Sistemáticas

Inicialmente, foram identificadas 2 revisões sistemáticas (RS) que abordam o tema (descrição da busca na tabela 1 do Apêndice B). A primeira delas, conduzida por Azarpazhooh *et al* (7) reuniu 12 estudos clínicos randomizados e quase randomizados, publicados até outubro de 2007, que testavam a eficácia de derivados de caseína (dentre eles o CPP-ACP) nas diversas formas de aplicação dental. Esses estudos foram selecionados por meio do critério de inclusão e da mensuração da força e qualidade dos estudos de acordo o Sistema de Classificação de Evidencia desenvolvido pelo *Canadian Task Force* para tratamentos preventivos. Os desfechos de interesse foram: prevenção de cárie (10 estudos), tratamento da hipersensibilidade dentinária (1 estudo) e tratamento de xerostomia (1 estudo).

Dos dez estudos que tiveram como desfecho a prevenção de cárie, oito eram *in situ* e dois eram estudos *in vivo*. Dentre esses últimos, um (28) deles se relacionava à regressão de lesão de mancha branca. O outro estudo *in vivo* (29) avaliou a regressão ou progressão de lesões de cárie radicular com o uso de solução enxaguatória à base de derivados de caseína associados ao fosfato de Ca (CD-CP) em comparação ao uso de solução à base de NaF (fluoreto de sódio), em indivíduos com disfunção em glândulas salivares. Na tabela 3 do Apêndice C, constam informações sobre os estudos encontrados na revisão de Azarpazhooh *et al* (7).

No que se refere às conclusões dos estudos *in situ*, somente o estudo de Schirrmeyer *et al*, 2007 (30) não observou maior taxa de remineralização das lesões subsuperficiais avaliadas. Todos os outros sete estudos, de autoria do grupo que patenteou o produto, observaram aumento significativo no grau de remineralização das lesões tratadas com compostos de caseína em relação ao placebo.

Foi identificado apenas um estudo *in vivo* (28) que verificou a eficácia de compostos de CPP-ACP no processo da lesão de cárie. Essa avaliação foi feita em relação a compostos fluoretados. Inspeção visual e a avaliação por meio de laser fluorescente foram feitas em 1, 3, 6 e 12 meses após o início da intervenção. Só houve significância estatística que beneficiasse o CPP-ACP na redução de manchas brancas em relação aos compostos fluoretados na avaliação que utilizou a inspeção visual, feita 12 meses após o início do tratamento. Já o método que utilizou o laser fluorescente não foi capaz de identificar nenhuma diferença entre os tratamentos.<sup>9</sup>

A revisão de Azarpazhooh *et al* (7) conclui que a qualidade e a quantidade de artigos revisados são insuficientes para gerar evidência conclusiva sobre a efetividade em longo prazo dos compostos derivados de caseína, especialmente o CPP-ACP.

A outra revisão encontrada estava associada a uma meta-análise. Nesse estudo, Yengopal e Mickenautsch (8) incluíram 11 estudos clínicos (*in situ* e *in vivo*) e 1 RS (7), publicados até agosto de 2008, que avaliassem a eficácia de compostos à base de CPP-ACP. Todos os 11 estudos selecionados apresentavam, em uma escala de avaliação, *score* A em relação à randomização, sigilo na alocação e cegamento; apenas dois estudos apresentaram *score* B para o parâmetro sigilo na alocação. Dentre esses 11 estudos, 5 participaram da meta-análise, pois somente eles apresentavam características que permitissem a análise estatística de seus resultados em conjunto, ou seja, eram clinicamente e metodologicamente homogêneos e apresentaram desfechos semelhantes.

Todos os cinco (31, 34, 36, 37, 20) estudos incluídos na meta-análise eram *in situ*, tinham curta duração de seguimento (7 a 21 dias), e a intervenção utilizada era goma de mascar que continha CPP-ACP. O resultado dessa análise mostrou maiores taxas de remineralização dentária em favor do uso de gomas de mascar à base de CPP-ACP em relação ao uso de goma de mascar sem adição do complexo, ou em relação a nenhuma intervenção.

Dentre os outros 6 estudos não incluídos na meta-análise, 4 (32, 33, 35, 38) eram estudos *in situ*, e todos eles mostraram uma maior taxa de remineralização com o uso do CPP-ACP em relação ao placebo. Entretanto, vale ressaltar que um desses estudos *in situ* (38) comparou o CPP-ACP adicionado à terapia fluoretada ao F, em relação ao CPP-ACP isolado e ao F isolado; como resultado observou-se que o CPP-ACP associado ao F (1.100 ppm) foi a intervenção que obteve melhor

desempenho, enquanto que a intervenção à base somente de CPP-ACP (2%) teve desempenho semelhante ao F isolado (2.800 ppm).

Os outros 2 estudos não incluídos na meta-análise eram *in vivo*. Um deles é o estudo que fora incluído da RS de Azarpazhooh *et al.* (7) qual seja, Anderson *et al.* (28). O outro estudo refere-se ao estudo de Morgan *et al.* (40), em que 2.720 crianças usaram goma de mascar com ou sem adição de CPP-ACP. O seguimento do estudo foi de 24 meses e foi observada regressão de lesões de cárie por meio da análise de radiografias *bitewings*, que permitem a visualização das regiões dentárias interproximais.

Observou-se que dos nove estudos *in situ* encontrados na revisão de Yengopal e Mickenautsch (8) sete estudos (31-37) coincidiram com os já selecionados pela revisão de Azarpazhooh *et al.* (7); os outros dois estudos (38,39) encontrados somente na revisão mais recente foram publicados após o período de busca realizado por Azarpazhooh *et al.* (7). Na tabela 4 do Apêndice C encontra-se a descrição dos novos artigos encontrados na meta-análise de Yengopal e Mickenautsch (8).

Yengopal e Mickenautsch (8) observaram que apesar de a meta-análise ter sido executada apenas para estudos *in situ*, que apresentavam curto período de exposição a esse complexo, os resultados promissores dos estudos *in vivo*, um deles com grande tamanho amostral (40) e ambos (28,40) com exposição mais longa ao complexo CPP-ACP (12 a 24 meses) sugerem o efeito remineralizador do complexo CPP-ACP em estudos de longo seguimento. Sugere-se que mais estudos randomizados *in vivo*, com metodologia adequada e com seguimentos maiores, devam ser realizados.

#### 2.2.1.2 Estudos *in vivo* e *in situ*:

Além das duas RS citadas, foi realizada nova busca na base *Pubmed* em maio de 2012 (estratégia de busca na tabela 2 do apêndice B), a fim de que fossem identificados ensaios clínicos randomizados *in situ* e *in vivo* que avaliassem o potencial anticárie do CPP-ACP, publicados após a busca realizada pela última RS publicada sobre o tema (após o mês de agosto de 2008). Foram identificados 6 estudos *in situ* (41-46) e 7 estudos *in vivo* (47-53). A descrição dos artigos na tabela 5 no Apêndice C.

Em relação à conclusão dos 6 estudos *in situ*, cinco deles de autoria do grupo que patenteou o CPP-ACP, todos eles mostraram uma maior taxa de remineralização com o uso do CPP-ACP isolado ou associado ao F em relação a diferentes comparadores: quatro estudos (41,43,45,46) comparam o CPP-ACP ao placebo; os outros dois estudos compararam o *mousse* de CPP-ACP associado ao F (*MI Paste Plus*) em relação ao CPP-ACP (*MI Paste*) isolado (44), e em comparação ao CPP-ACP isolado e ao F isolado (42), cujos resultados demonstraram que o *MI Paste Plus* foi a intervenção que obteve melhor resultado, seguida do *MI Paste*, o qual teve melhor desempenho que o F isolado.

Dentre os 7 estudos *in vivo*, 4 deles (47,48,49,53) avaliaram o uso do CPP-ACP associado à terapia fluoretada. O CPP-ACP (*MI Paste*) associado ao dentifrício fluoretado se mostrou mais eficaz que o dentifrício isolado em dois estudos (48,53). Entretanto, em um desses estudos (48) a maior eficácia do CPP-ACP foi observada somente quando realizadas algumas avaliações por meio de laser fluorescente, no entanto não houve diferença significativa entre os tratamentos quando realizada a avaliação visual. Nos outros dois estudos *in vivo*<sup>28,30</sup> foi utilizado o *MI Paste Plus*; em um dos estudos (47) a associação teve melhor desempenho que o dentifrício fluoretado, e na outra publicação (49) não houve diferença significativa em relação ao placebo.

Em relação aos outros 3 artigos *in vivo* (51,52,53) que utilizaram o CPP-ACP isolado (*MI Paste*), em dois deles (51,52) foi utilizada uma intervenção comparadora à base de F, a qual se mostrou tão eficaz quanto o CPP-ACP. No outro estudo (53) o cimento odontológico à base de CPP-ACP teve melhor desempenho que o cimento resinoso utilizado no estudo.

Em relação a todos os 15 estudos *in situ* avaliados neste trabalho (dos quais 9 avaliaram a goma de mascar à base de CPP-ACP), o CPP-ACP demonstrou maior eficácia que o placebo na maioria das publicações. Entretanto, ressalta-se que 13 publicações eram de autores pertencentes ao grupo que patenteou o complexo de caseína.

Também foram apresentados no presente trabalho 9 estudos *in vivo*, com resultados divergentes. Dois estudos eram de autoria do grupo que patenteou o CPP-ACP: em um deles (40) a goma de mascar à base de CPP-ACP se mostrou mais eficaz que o placebo e a outra publicação (53) o *MI Paste* associado ao dentifrício



fluoretado se mostrou mais eficaz que o dentifrício isolado. Dentre os 7 estudos *in vivo* de autores independentes, em dois deles se utilizou o *MI Paste Plus*, o qual ora se mostrou melhor que o dentifrício fluoretado (42), ora se mostrou semelhante ao placebo (49). Em uma publicação o *MI Paste* associado ao dentifrício fluoretado se mostrou melhor que o dentifrício isolado (48), e em duas publicações o *MI Paste* se mostrou semelhante aos compostos fluoretados (51,52). Por fim um estudo (50) apontou melhor desempenho do cimento à base de CPP-ACP em relação ao cimento resinoso.

Nota-se que dentre todos os estudos *in situ* e *in vivo* avaliados, somente duas publicações avaliam o potencial do CPP-ACP em inibir a desmineralização dentária, todos os demais estudos avaliam seu potencial remineralizador, ou seja, na regressão de lesões iniciais de cárie.

#### 2.2.1.3 Estudos *in vitro*:

Foi realizada busca por estudos randomizados *in vitro* que avaliassem a eficácia do CPP-ACP na base *Pubmed*, em julho de 2012 (estratégia de busca no Apêndice C). Foram identificados 12 estudos, dentre os quais a grande maioria avalia o potencial remineralizador do complexo. Foram encontrados somente 4 estudos *in vitro* que avaliaram o papel do CPP-ACP na redução do processo de desmineralização do esmalte dentário, além disso, os resultados encontrados entre os estudos foram divergentes. Na Tabela 06 do Apêndice D há a descrição da busca realizada, e na tabela 07 constam as características desses estudos:

Tabela 07: Características dos estudos *in vitro* que avaliam a inibição da desmineralização promovida pelo CPP-ACP

Autor/ Ano	Número de dentes	Objetivo	Metodologia	Grupos	Resultados
Pulido <i>et al.</i> <sup>6</sup> , 2008	105 fragmentos dentários provenientes de terceiros molares, divididos em 5 grupos (n=21 por grupo)	Avaliar a inibição da progressão de lesões de cárie em esmalte avaliada por meio de sistema digital de análise de imagens.	Ciclagem de pH por 6 dias: 2 min de aplicação da intervenção, solução desmineralizante por 3 h, saliva artificial por 2 h, solução desmineralizante por 3 horas, aplicação da intervenção por 2 min. Posteriormente os blocos permaneceram em saliva artificial por 16 h.	<p><b>Grupo 1:</b> dentífrico fluoretado 5000 ppm</p> <p><b>Grupo 2:</b> dentífrico fluoretado 1100 ppm</p> <p><b>Grupo 3:</b> MI Paste (CPP-ACP)</p> <p><b>Grupo 4:</b> MI Paste (CPP-ACP)+dentífrico fluoretado 1100 ppm</p> <p><b>Grupo 5:</b> saliva artificial</p> <p>*As intervenções dos grupos 1,2,3 e 4 estavam diluídas na proporção de 1 parte do produto para 3 partes de água destilada e deionizada.</p>	O dentífrico fluoretado 5000 ppm foi o tratamento que mais inibiu a desmineralização dentária. F associado ao CPP-ACP teve mesmo desempenho que a intervenção do dentífrico fluoretado 1100 ppm e que o CPP-ACP isolado. Entretanto, não houve diferença significativa entre o MI paste (grupo 3) e a saliva artificial (grupo 5).
Poggio <i>et al.</i> <sup>54</sup> , 2009	30 incisivos centrais permanentes (n=10 por grupo)	Avaliar a inibição da desmineralização durante o processo de erosão dentária avaliada por microscopia de força atômica	Os dentes sofreram desmineralização dentária por meio do uso de refrigerante, simulando processo de erosão dentária.	<p><b>Grupo 1:</b> Refrigerante (6 ml em 4 intervalos de 2 min)</p> <p><b>Grupo 2:</b> Refrigerante (6 ml em 4 intervalos de 2 min) + <i>MI Paste</i><sup>®</sup> (CPP-ACP)</p> <p><b>Grupo 3:</b> Esmalte intacto + MI Paste (CPP-ACP)</p> <p>O <i>MI Paste</i><sup>®</sup> foi aplicado por 3 min nas horas 0, 8, 24 e 36.</p>	Houve um menor grau de desmineralização no grupo em que houve intervenção do CPP-ACP (Grupo 2).

(Continua)

(Conclusão)

Autor/ Ano	Número de dentes	Objetivo	Metodologia	Grupos	Resultados
Behnan <i>et al</i> <sup>55</sup> , 2010	100 pré- molares divididos em 5 grupos de tratamento (n=20 por grupo)	Avaliar o potencial dos materiais testados em prevenir a desmineralização dentária próxima aos <i>brackets</i> ortodônticos por meio de fluorescência induzida por laser e da microscopia confocal a laser.	Após a colagem dos <i>brackets</i> , todos os grupos passaram por ciclagem de pH, por 15 dias: solução desmineralizante por 8 horas, enxaguados, colocados em saliva artificial por 30 min, escovados com dentrifício fluoretado, armazenados em saliva artificial por 18 horas. Adicionalmente, o grupo 4 recebeu aplicações diárias de CPP-ACP antes de ser inserido na solução desmineralizante.	<p><b>Grupo 1:</b> <i>Brackets</i> fixados com cimento resinoso <i>Aegis-Ortho</i><sup>®</sup> (com ACP)</p> <p><b>Grupo 2:</b> <i>Brackets</i> fixados com cimento <i>Transbond XT</i><sup>®</sup> (grupo controle)</p> <p><b>Grupo 3:</b> <i>Brackets</i> fixados com cimento <i>Transbond XT</i><sup>®</sup>, seguido da aplicação de verniz fluoretado (NaF 5%)</p> <p><b>Grupo 4:</b> <i>Brackets</i> fixados com cimento <i>Transbond XT</i>, seguido da aplicação de <i>MI Paste</i><sup>®</sup> (CPP-ACP) por 5 min</p> <p><b>Grupo 5:</b> <i>Brackets</i> fixados com selante que libera F (<i>Pro Seal</i><sup>®</sup>)</p>	Somente o <i>ProSeal</i> <sup>®</sup> e o verniz fluoretado apresentaram lesões significativamente menores que as do grupo controle. Não houve diferença entre os grupos 1, 2 e 4.
Uysal <i>et al</i> <sup>56</sup> , 2010	60 pré- molares divididos em 3 grupos (n=20 por grupo)	Redução na desmineralização dental ao redor dos <i>brackets</i> ortodônticos, avaliada por meio da microdureza superficial nas regiões oclusal e cervical.	Ciclagem de pH por 14 dias: 6 horas em solução desmineralizante e 17 horas em solução remineralizante	<p><b>Grupo 1:</b> Aplicação de 0,5ml de gel fluoretado (<i>Fluoridin N5</i><sup>®</sup>) por 5 min antes de os dentes serem imersos nas soluções desmineralizante e remineralizante, e a cada intervalo de 4 horas.</p> <p><b>Grupo 2:</b> Aplicação do <i>MI Paste</i><sup>®</sup> (CPP-ACP) por 5 min antes de os dentes serem imersos nas soluções desmineralizante e remineralizante, e a cada intervalo de 4 horas.</p> <p><b>Grupo 3:</b> Não houve aplicação de nenhum produto.</p>	Não houve diferença significativa entre o CPP-ACP e o gel fluoretado.

Conforme pode ser observado nesses estudos, somente em um deles (6) há associação do CPP-ACP a composto fluoretado, cujo resultado demonstrou semelhante eficácia entre a associação e o composto fluoretado isolado. Nos demais estudos, ora o CPP-ACP teve resultado semelhante ao F (56), ora teve resultado inferior (55) e ora teve resultado superior ao placebo (54).



### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar, *in vitro*, o potencial do creme à base de CPP-ACP (*MI Paste*), isolado ou associado ao dentifrício fluoretado 1100 ppm NaF, em inibir o processo de desmineralização do esmalte dentário humano em comparação aos compostos fluoretados.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Por meio da análise de microdureza longitudinal realizada após os tratamentos, observar o grau de desmineralização de lesões de cárie subsuperficiais, criadas durante ciclagem de pH, submetidas ao tratamento com: CPP-ACP (*MI PASTE*); CPP-ACP (*MI PASTE*) + dentifrício fluoretado (1100 ppm NaF); dentifrício fluoretado (1100 ppm NaF); água destilada e deionizada (ADD) - grupo controle;
- Avaliar o efeito do CPP-ACP, isolado ou associado ao F, na progressão de lesões iniciais de cárie em dentes humanos;



## 4 METODOLOGIA

### 4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O método científico a ser utilizado nesse estudo é o hipotético-indutivo, uma vez que se tem o intuito de produzir evidência para refutar a hipótese nula. A hipótese nula avaliada é a igualdade de perda de área de dureza entre todos os grupos, após a realização dos tratamentos.

Blocos de esmalte humanos foram obtidos a partir de terceiros-molares inclusos e semi-inclusos. Foram selecionados 40 blocos, de microdureza de superfície de 334 a 408 KHN (*Knoop Hardness Number*), os quais foram randomizados em 4 grupos experimentais:

Tratamento 1: Água deionizada e destilada (controle negativo)

Tratamento 2: CPP-ACP (MI Paste)

Tratamento 3: Dentifrício fluoretado Tandy (1100 ppm NaF)

Tratamento 4: CPP-ACP (MI Paste) + Dentifrício fluoretado Tandy (1100 ppm NaF)

Os blocos foram submetidos a ciclagens de pH para avaliar a capacidade das intervenções em interferir na progressão de lesões iniciais de cárie. Durante as ciclagens, os blocos foram submetidos aos tratamentos específicos de cada grupo experimental. Posteriormente, os blocos foram seccionados longitudinalmente para que se avaliasse a percentagem de volume mineral em diferentes distâncias da superfície dentária. A concentração de F no esmalte e nas soluções desmineralizante e remineralizante foram mensuradas.



## 4.2 OBTENÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE DENTAL HUMANO

### 4.2.1 Confeção dos blocos de esmalte

Após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília em 30 de novembro de 2011, registro 066/2011 e assinatura do consentimento livre e esclarecido (formulários constantes no Anexo A e Apêndice A), terceiros molares inclusos e semi-inclusos foram coletados no Hospital Universitário de Brasília (HUB). Os elementos dentais foram mantidos em recipiente de vidro âmbar com solução à base de formol 10% (pH neutro), por no mínimo 2 semanas, para desinfecção. Em seguida, os dentes foram avaliados, por meio de inspeção visual, e os que apresentavam trincas ou fraturas nos esmalte foram excluídos. Posteriormente os dentes foram fixados com cera em bases acrílicas para que fossem cortados com auxílio da cortadeira elétrica *Buehler® Isomettm Tow Speed Saw* e de discos diamantados *Wafer Blad 4"x.012"x ½" High Concen (102 mm x 0,3 mm x 12,7 mm)*. Foi realizada separação das raízes e da face oclusal por meio de corte transversal, de forma que se obteve fragmento dental da porção central da coroa, com 4mm de espessura. Posteriormente esse fragmento foi fixado novamente em base acrílica e cortado sucessivamente, a fim de serem obtidos fragmentos dentais de 4 x 3 mm. Esses blocos de esmalte foram colocados em base acrílica, com a face de dentina exposta, para que se ajustasse a altura do bloco:

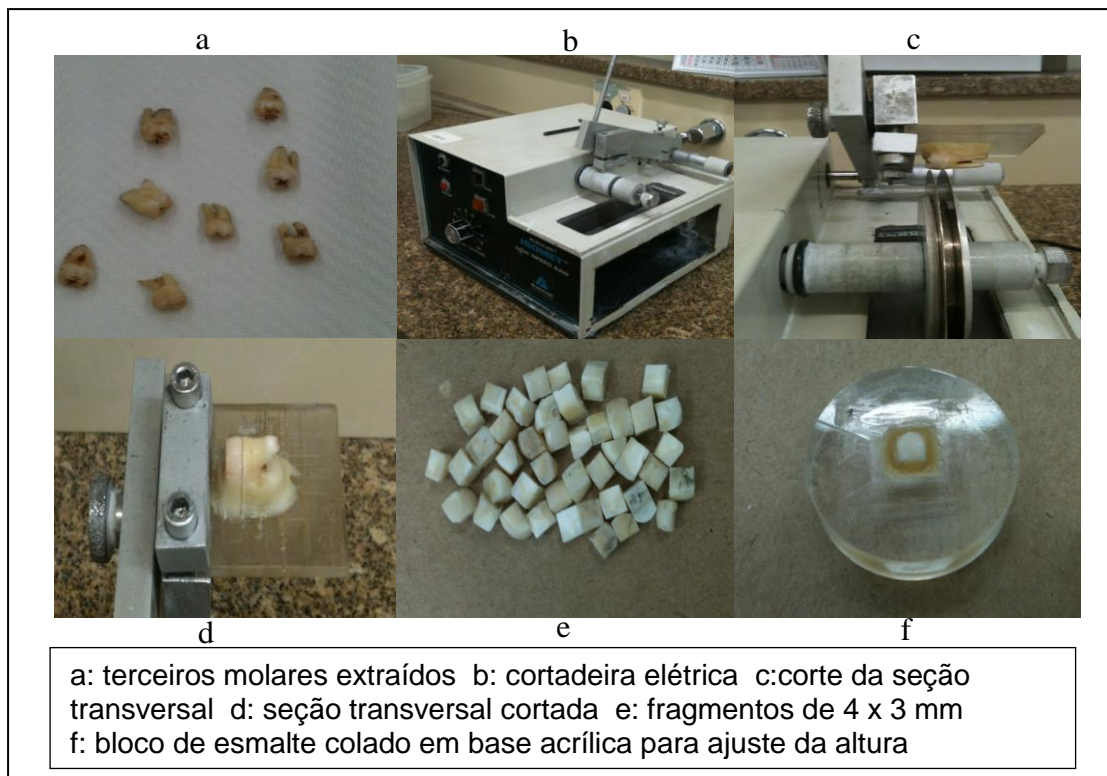


Figura 1 – Confeção de blocos de esmalte

#### 4.2.2 Polimento dos blocos dentais

A planificação da dentina foi realizada com auxílio da politriz *Arotec*® em baixa velocidade e lixa de granulação 400 (*Silicon Carbide*), sob refrigeração, a fim de que os blocos ficassem com altura de 2 mm.

Em seguida, os blocos foram colados novamente na base acrílica, dessa vez com a superfície de esmalte exposta, para que ela fosse lixada e polida na politriz, com lixas de granulação decrescente:

**Lixa de granulação 400:** Realizou-se desgaste no esmalte a fim de expor área lixada (janela central na superfície de esmalte). O tempo médio necessário foi de 10 segundos, em baixa rotação, sob refrigeração.

**Lixa de granulação 600:** Foi realizado desgaste em baixa velocidade, sob refrigeração. O tempo médio necessário foi de 10 segundos. Em seguida, os blocos foram sonificados em ADD, por 2 minutos

**Lixa de granulação 1200:** Realizou-se polimento em alta velocidade, sob refrigeração, por 2 minutos.

**Feltro e suspensão de diamante:** O polimento final dos blocos foi realizado com tecido adesivo de feltro e suspensão de diamante 1 $\mu$ m, sem refrigeração, por 2 minutos. Em seguida, os blocos foram sonificados em solução detergente (*Ultramet Sonic Cleaning Solution*) diluída na proporção de 1:10 em ADD, por 2 minutos.



Figura 2 – Polimento com auxílio da politriz

#### 4.3 ANÁLISE DA DUREZA INICIAL DOS BLOCOS DE ESMALTE

A literatura científica relata alguns métodos utilizados para avaliar os diferentes graus de remineralização e desmineralização dentária. Um dos mais utilizados é a medida de dureza, que reflete a resiliência mecânica da superfície dentária à penetração de uma endentação. Se o tecido ganha mineral, o comprimento das endentações diminui; se há perda de mineral, o comprimento das endentações aumenta. Trata-se de um método indireto para avaliar a perda ou o ganho mineral (59,60)

As endentações foram realizadas por meio da ponta *Knoop*, constituída de diamantes, do microdurômetro *Tech FM*, acoplado ao software FM-ARS. O valor de dureza é representado pela medida KHN, a qual é resultante da divisão entre a força aplicada pela endentação e a área impressa pela endentação ( $\text{kg}/\text{mm}^2$ )

Para a seleção e distribuição dos blocos entre os tratamentos, foi necessário estabelecer a dureza inicial desses fragmentos dentais. Foram realizadas 3 endentações no centro da superfície dos blocos dentais previamente polidos, separadas pela distância de 100  $\mu\text{m}$ , com a carga de 50g por 5 segundos. Após essa determinação, foram selecionados os blocos que estivessem dentro da faixa de

valores situados entre 10% acima e abaixo da média dos valores de dureza superficial encontrada, ou seja, entre 334 e 408 KHN.

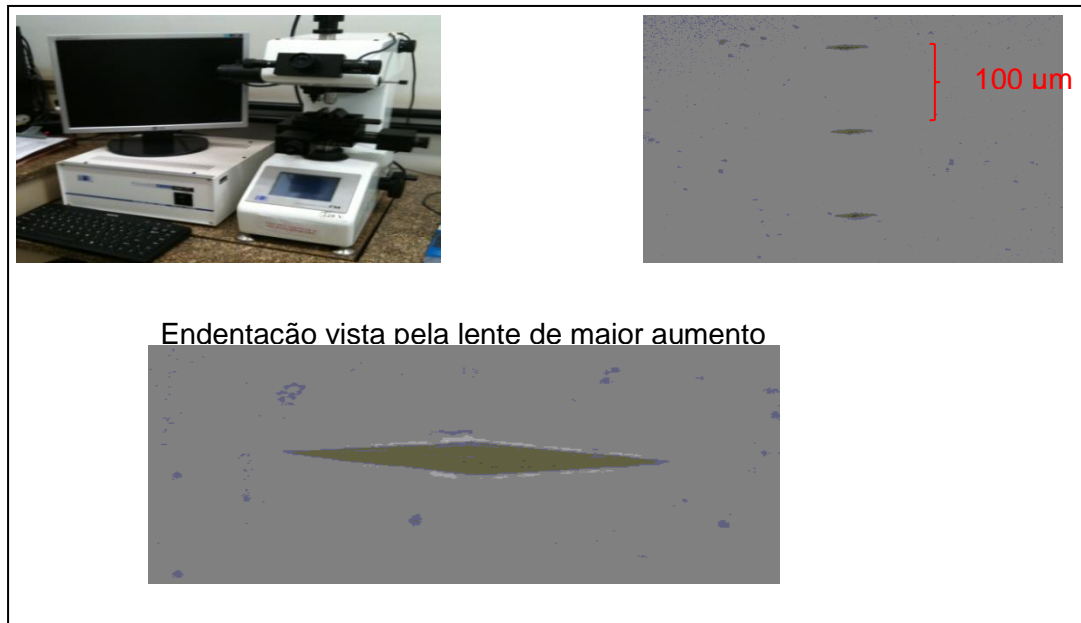


Figura 3 – Mensuração da dureza inicial com auxílio do microdurômetro

#### 4.4 RANDOMIZAÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE

Os 40 blocos selecionados, que apresentavam a dureza superficial entre 334 e 408 KHN, foram randomizados de forma estratificada, a fim de que as médias de dureza de cada um dos 4 grupos de tratamento fossem semelhantes entre si. Dessa forma, as médias de dureza superficial em cada grupo foram semelhantes e garantiu-se a similaridade entre os dentes pertencentes a cada um dos grupos de tratamento:

Tabela 08 – Média de dureza superficial inicial

<b>Tratamento</b>	<b>Média Dureza Superficial (KHN)</b>
Controle negativo	372,24
CPP-ACP	375,01
F	374,52
F + CPP-ACP	375,51

#### 4.5 CICLAGENS DE pH

Nos modelos de ciclagem de pH há exposição de substratos dentais a processos de desmineralização e remineralização, simulando a dinâmica de perda e ganho de minerais pela estrutura dentária durante a formação de lesões de cárie.

Existem diferentes modelos de ciclagem de pH, que variam de acordo com a origem (humano ou bovino) e o tipo substrato utilizado (esmalte ou dentina), e com o tipo de lesão de cárie que se deseja reproduzir. O modelo de ciclagem utilizado foi o validado por Argenta *et al* (64). Nesse modelo foram criadas lesões subsuperficiais de cárie em esmalte humano, com profundidade de aproximadamente 50  $\mu\text{m}$ .

Os 40 blocos estudados foram submetidos a um regime de ciclagem de pH por 5 dias. Cada grupo de 10 blocos foi submetido à solução desmineralizadora por 3 horas e à solução remineralizadora por 20 horas em cada um dos dias, à temperatura de 37° C. Ao final dos 5 dias, os blocos foram mantidos em solução remineralizadora por dois dias seguidos, à temperatura de 37° C. Os tratamentos eram aplicados duas vezes ao dia; antes e após o período de desmineralização.

Abaixo segue representação esquemática do modelo de ciclagem adotado e dos tratamentos administrados:

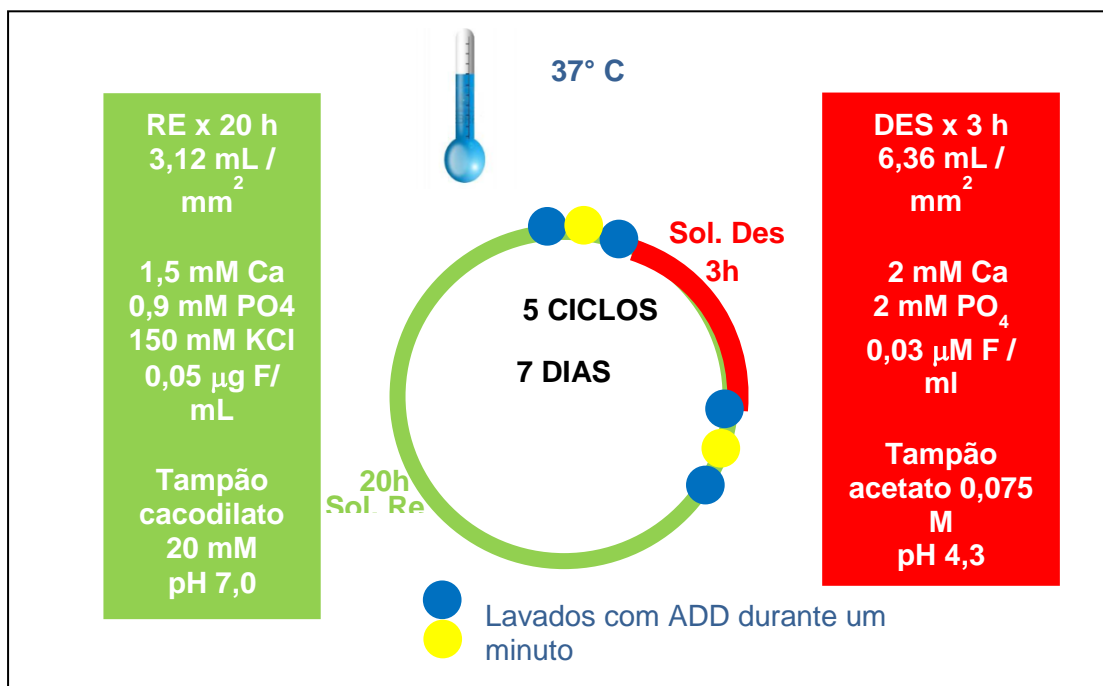


Figura 4 – Modelo esquemático das ciclagens de pH

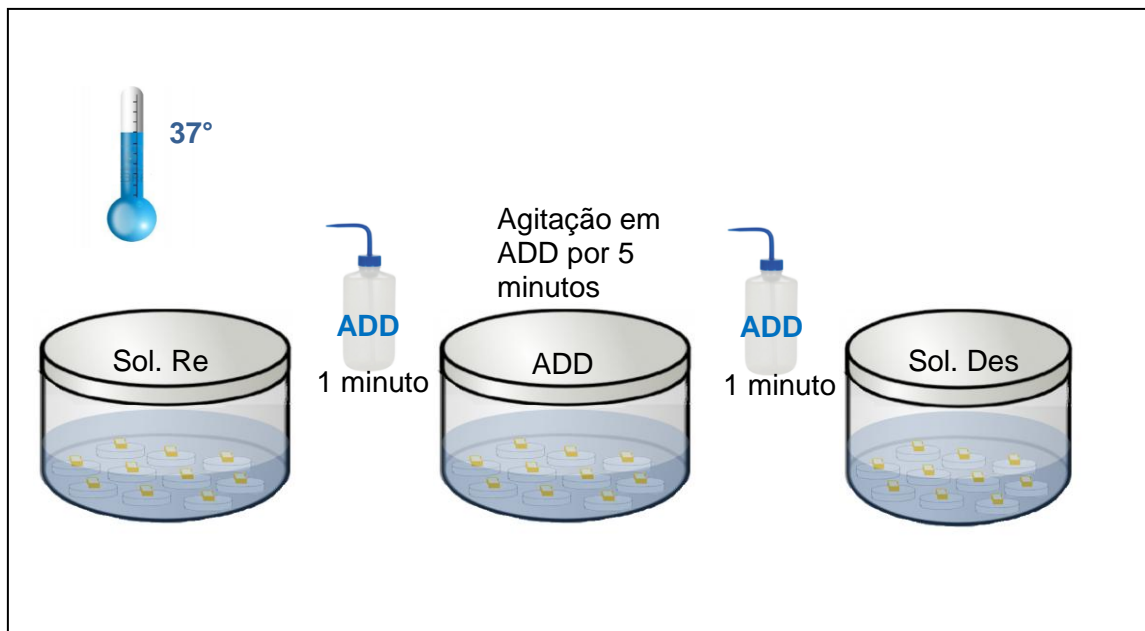
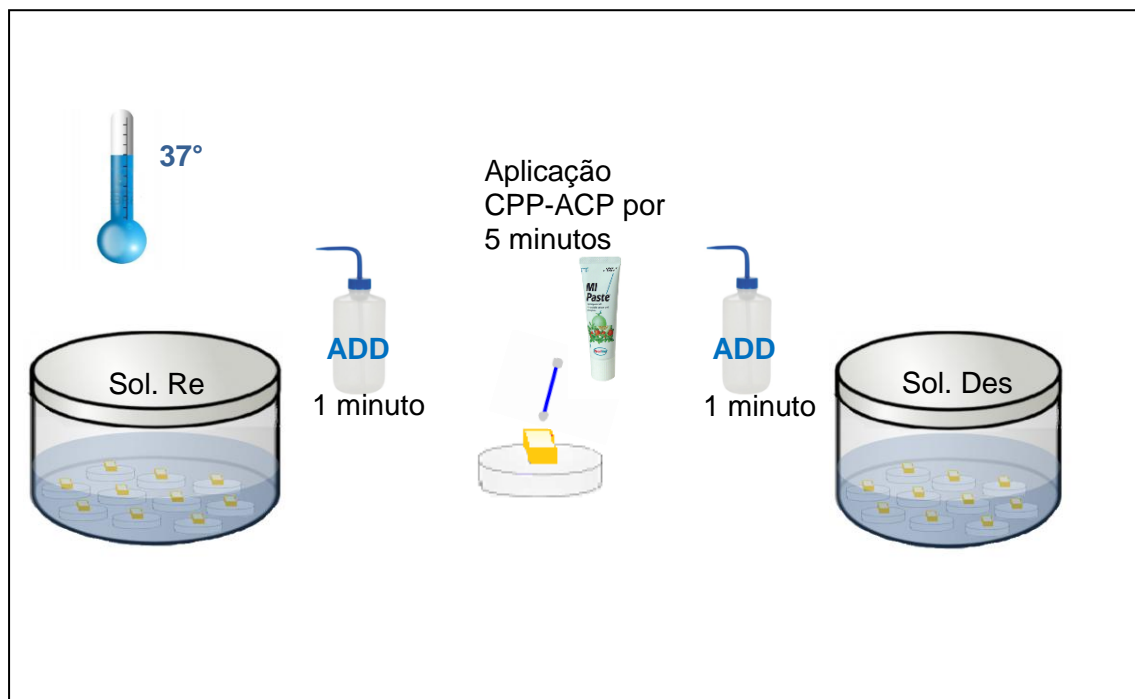


Figura 5 - Tratamento grupo 1: ADD

Figura 6 - Tratamento grupo 2: CPP-ACP na forma de *MI Paste*

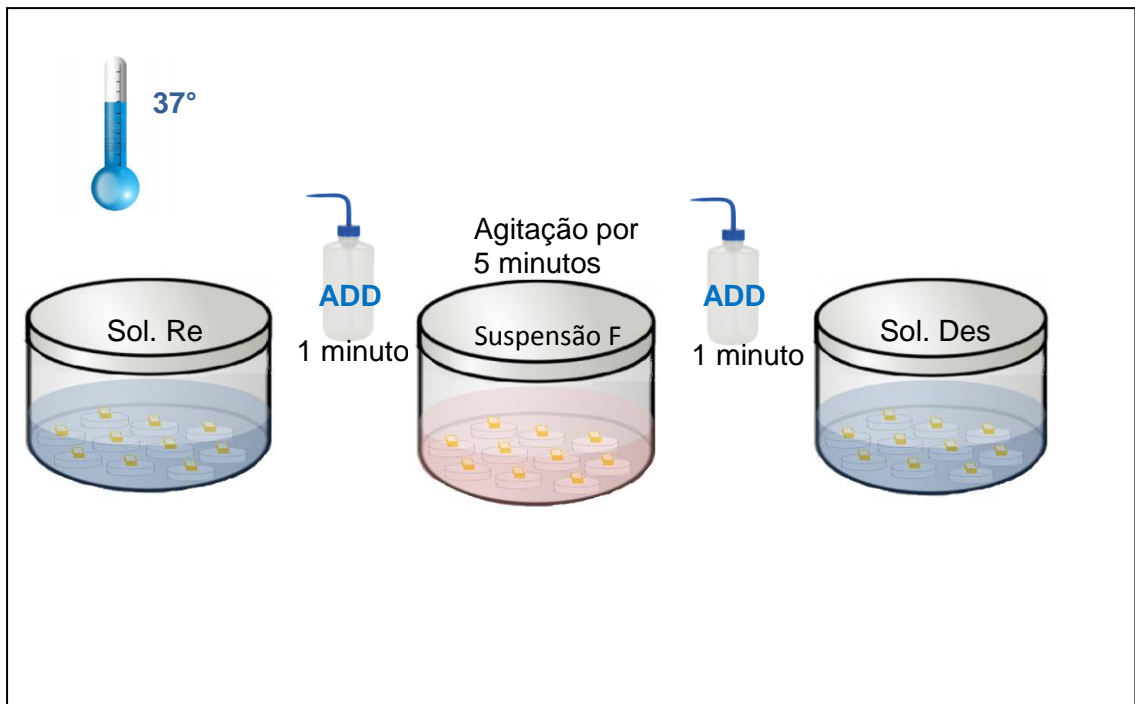


Figura 7 - Tratamento grupo 3: suspensão F 1100 ppm

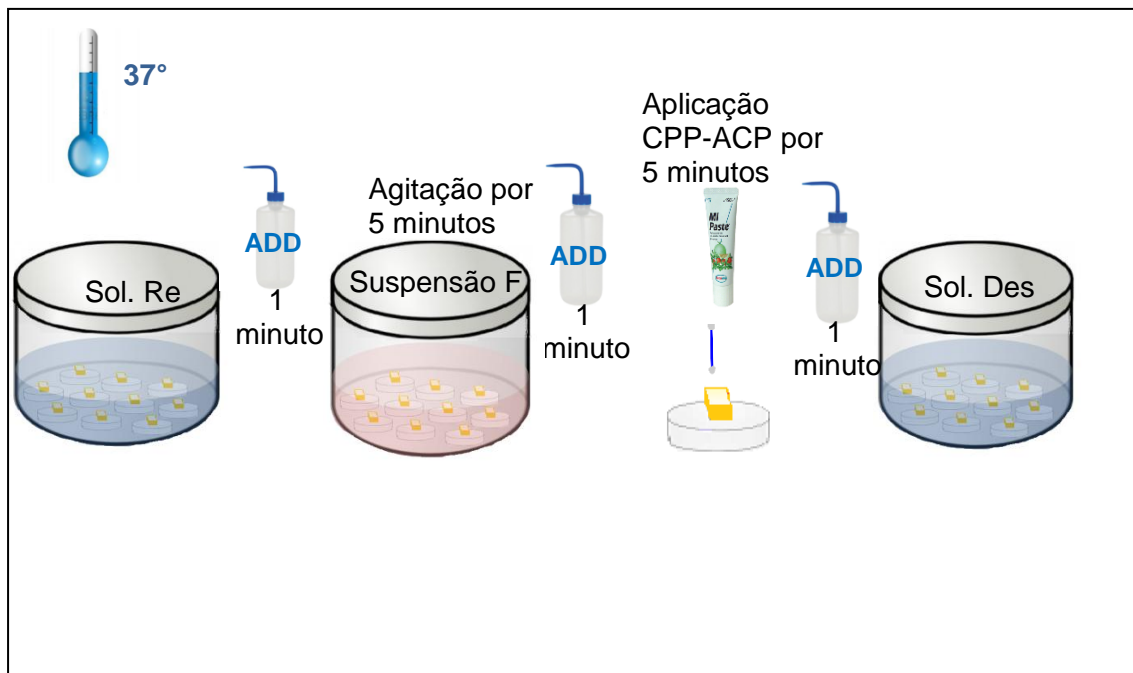


Figura 8 - Tratamento grupo 4: suspensão F 1100 ppm + CPP-ACP (MI Paste)

## 4.6 TRATAMENTOS

Durante a ciclagem de pH, os blocos dentais foram submetidos aos seguintes tratamentos:

TRATAMENTO 1: Os blocos permaneceram em agitação por 5 minutos, à 37 graus C°, em 360 ml de ADD.

TRATAMENTO 2: Aplicou-se com cotonete o CPP-ACP, na forma de *MI Paste*, nas superfícies dentárias. Após 3 minutos o excesso do produto foi removido com rolete de algodão. Após dois minutos subsequentes, o restante do produto foi removido com ADD.

TRATAMENTO 3: Os blocos permaneceram em agitação por 5 minutos, à 37 graus C°, em suspensão de dentifrício fluoretado 1100 ppm de NaF, com agente abrasivo à base de sílica (Tandy®, da Colgate). Essa suspensão foi preparada na proporção de três partes de ADD para 1 parte de dentifrício fluoretado; foram utilizados 90 gramas de dentifrício fluoretado para 270 ml de ADD. A solução final tinha o volume final foi de 360 ml.

TRATAMENTO 4: Os blocos permaneceram em agitação por 5 minutos, à 37 graus C°, em 360 ml suspensão de dentifrício Tandy®, da Colgate. Essa suspensão foi preparada da mesma forma que a solução do Tratamento 3. Em seguida cada bloco era lavado em ADD por 1 minuto. Posteriormente recebiam o tratamento à base de CPP-ACP: Aplicou-se com *MI Paste* nas superfícies dentárias. Após 3 minutos o excesso do produto foi removido com rolete de algodão. Após dois minutos subsequentes, o restante do produto foi removido com ADD.

O NaF é o composto presente em muitos dentifrícios e soluções de bochecho, que se encontra livremente disponível nos fluidos orais. Já o mono flúor fosfato (MFP) requer uma série de reações enzimáticas que permitam a hidrólise do composto e conseqüente liberação de fração solúvel de íons de F, reação que não ocorre em soluções inorgânicas presentes nos modelos de ciclagem (61). Dessa forma, foi eleita a formulação que tivesse NaF em sua composição, na concentração



de 1100 ppm de F, uma vez que essa é a concentração normalmente utilizada nos dentífrícios fluoretados em todo o mundo. Logo, foi eleito o dentífrício de marca comercial Tandy®, Colgate-Palmolive, produto mais utilizado pelas crianças brasileiras (62), o qual já demonstrou eficácia anticárie semelhante ao dentífrício *Crest Cavity Protection Regular* (NaF; 1100 ppm F, *Procter & Gamble, Cincinnati, USA*), considerado dentífrício fluoretado “padrão ouro”, utilizado em pesquisas na área de cariologia (63).

#### 4.7 ANÁLISE DA DUREZA DO ESMALTE SECCIONADO LONGITUDINALMENTE

A microdureza do esmalte seccionado longitudinalmente é um método indireto de avaliar a distribuição mineral no tecido dentário, de forma que se consegue avaliar mudanças no conteúdo mineral da amostra estudada (65). Dessa forma, consegue-se avaliar a progressão da lesão de cárie em profundidade no esmalte. Logo, o desfecho relacionado ao potencial dos tratamentos em interferir na progressão das lesões de cárie, criadas durante as ciclagens de pH, foi a perda de dureza de área do esmalte ( $\Delta S$ : kg/mm<sup>2</sup> x  $\mu$ m) observada nas seções longitudinais do bloco de dente.

Após as ciclagens de pH, os blocos foram seccionados longitudinalmente no centro da superfície exposta do bloco com auxílio da cortadeira elétrica e disco diamantado *Wafer Blad 3”X 0,006”X ½” High Concen (76 mm X 0,15mmx 12,7 mm)*. Uma das metades do bloco foi utilizada para realização da avaliação da microdureza longitudinal e na outra metade foi realizada a biópsia de F ( a ser descrita no próximo item).

A metade do bloco, objeto da análise de dureza, foi embutida em acrílico. Posteriormente foi realizado polimento desse bloco, a fim de remover o acrílico que cobria a superfície dental e de dar polimento à superfície de esmalte que foi objeto da análise de dureza longitudinal. O polimento realizado seguiu a sequência de lixas utilizadas no polimento inicial da superfície dos blocos, conforme exposto no subcapítulo **4.1.2 Polimentos dos blocos dentais**.



Figura 09 – Preparo dos blocos para avaliação da dureza longitudinal

A análise de dureza longitudinal foi realizada com auxílio do microdurômetro Tech FM, acoplado ao software FM-ARS, com a carga de 25 gramas, por 5 segundos. Foram realizadas 14 endentações em triplicata a 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200 e 300  $\mu\text{m}$  da superfície do esmalte em cada um dos blocos. A determinação da dureza foi feita de forma cega, ou seja, cada bloco era identificado apenas por um número, sem saber a qual grupo pertencia. As médias de dureza foram calculadas em cada uma das distâncias, expressas em valor de dureza Knoop ( $\text{Kg}/\text{mm}^2$ ), uma vez que há discrepância na literatura sobre a conversão dessa medida em concentração mineral (67,68). Dessa forma, a área de

perda de dureza  $\Delta S$  ( $\text{kg/mm}^2 \times \mu\text{m}$ ) foi calculada como sendo a diferença integrada entre área do esmalte hígido e a área de esmalte desmineralizado.

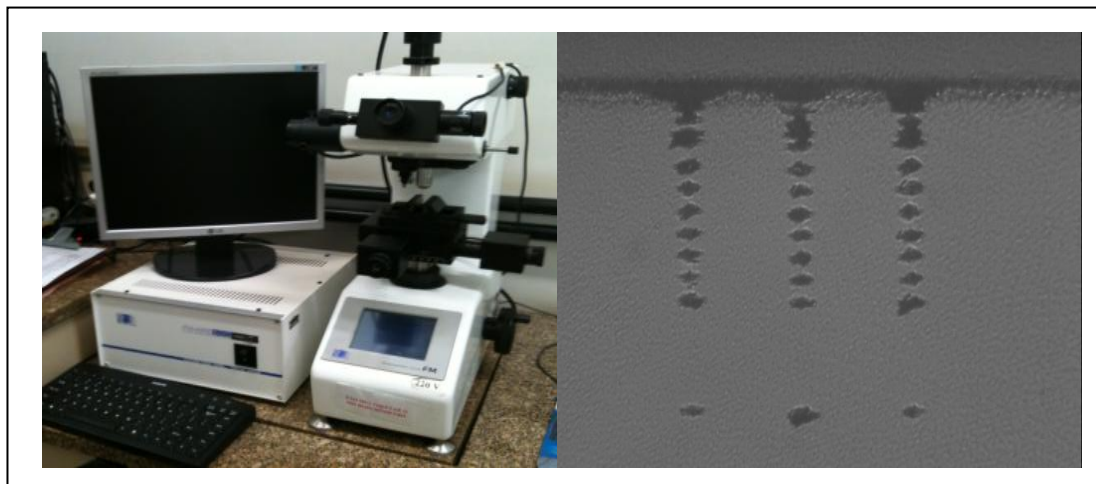


Figura 10 – Mensuração da dureza longitudinal com auxílio do microdurômetro

#### 4.8 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE F E P NO ESMALTE

Foi removida uma camada de esmalte de uma das metades de cada bloco, após a agitação em solução de 0,25 ml de HCl a 0,5 M, por 30 segundos. Posteriormente, a solução foi tamponada com 0,25 ml de Tissab II (20g de NaOH por litro). A concentração de F foi mensurada por meio de eletrodo específico Orion 9609 PNWP, associado ao potenciômetro *Orion Star A-214*. Foi realizada curva de calibração com concentração de 0,4 a 16  $\mu\text{g}$  de F/ml.

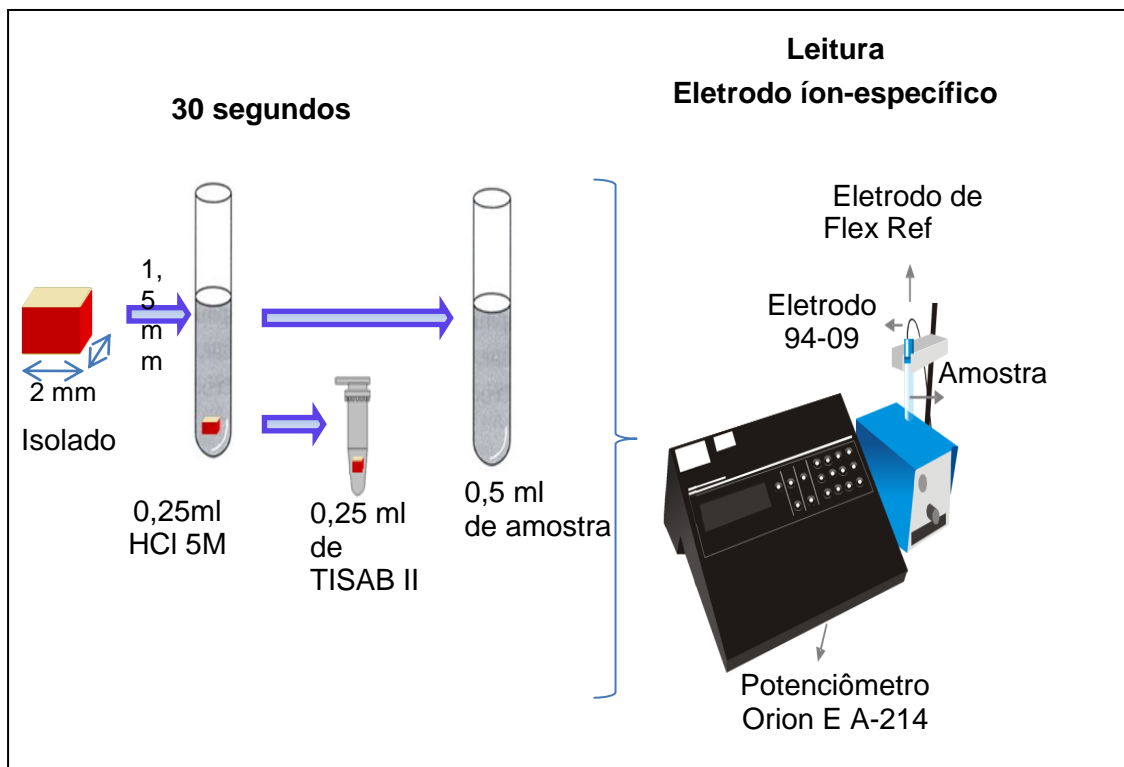


Figura 11 – Modelo ilustrativo da biópsia de F

Em seguida, a concentração de P na solução foi mensurada em espectrofotômetro DU 800 *Beckman Coulter* calibrado com soluções padrão que continha de 0 a 24  $\mu\text{g}$  de P, em comprimento de onda de 660 nm. Para cada bloco dental foi calculada a camada de esmalte removida em gramas, considerando-se que o esmalte possuía 13,5% de P inorgânico. A partir disso, calculou-se a concentração de F (ppm) na amostra, dividindo-se a quantidade de F ( $\mu\text{g}$ ) identificada na amostra pela quantidade de esmalte removido, em gramas.

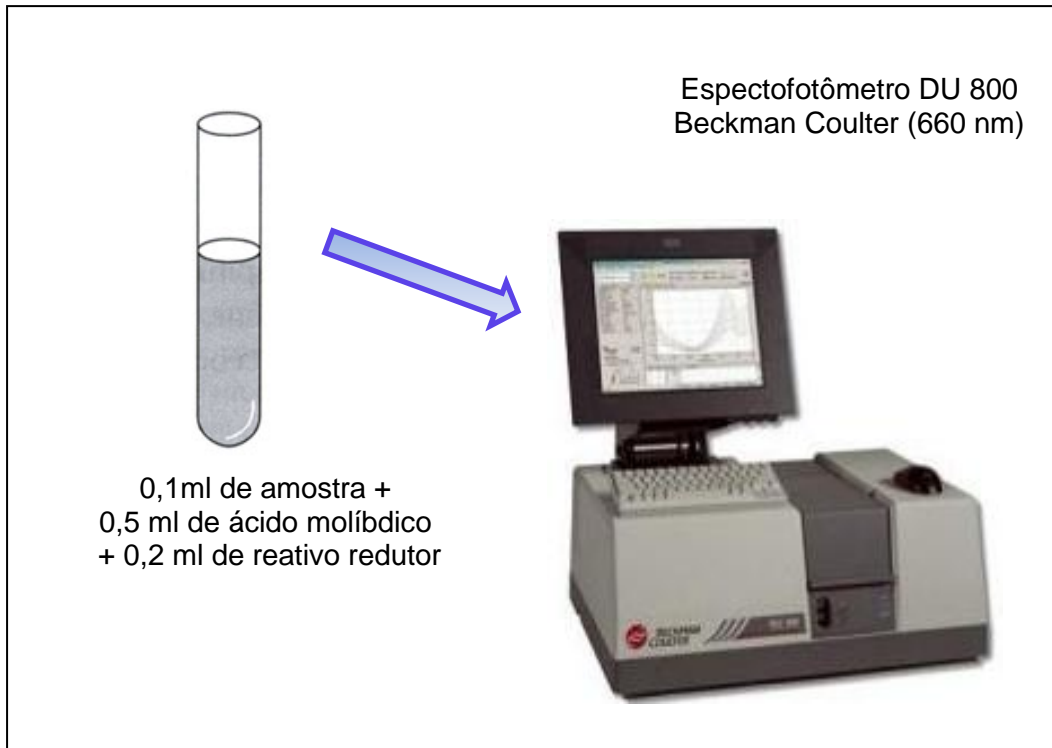


Figura 12 – Modelo ilustrativo da mensuração de P

#### 4.9 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE F NAS SOLUÇÕES DES E REMINERALIZANTE ANTES E APÓS A CICLAGEM DE pH

A concentração de F foi mensurada nas soluções por meio de eletrodo específico *Orion 9609PNWP*, associado ao potenciômetro *Orion Star A214*. Foi realizada curva de calibração com concentração de 0,031 a 2  $\mu\text{g}$  de F/ml. Todas as soluções analisadas e os padrões para a curva de calibração foram preparadas em Tissab III (1:10)

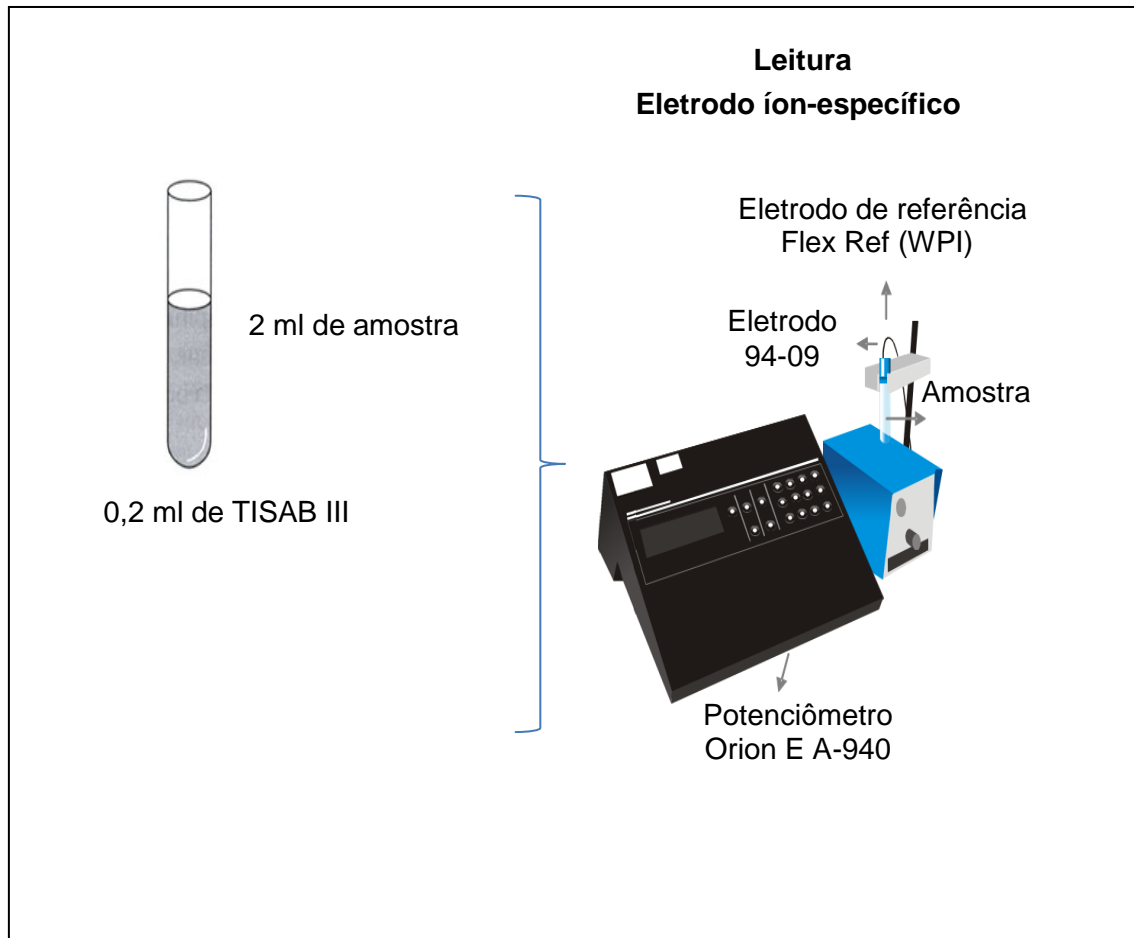


Figura 13 – Modelo ilustrativo da mensuração da F nas soluções Des e Res

#### 4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada por meio do programa SAS<sup>®</sup>, versão 9.0, a fim de comparar as concentrações de F e as durezas longitudinais entre os grupos submetidos aos diferentes tratamentos. Foi realizada a análise de variância Anova e o teste de comparações múltiplas de *Turkey*. O nível de significância adotado foi de 5%.



## 5 RESULTADOS

### 5.1 MICRODUREZA DO ESMALTE SECCIONADO LONGITUDINALMENTE

Na figura 14 relaciona-se a perda mineral encontrada com as distâncias de superfície e com o tratamento realizado:

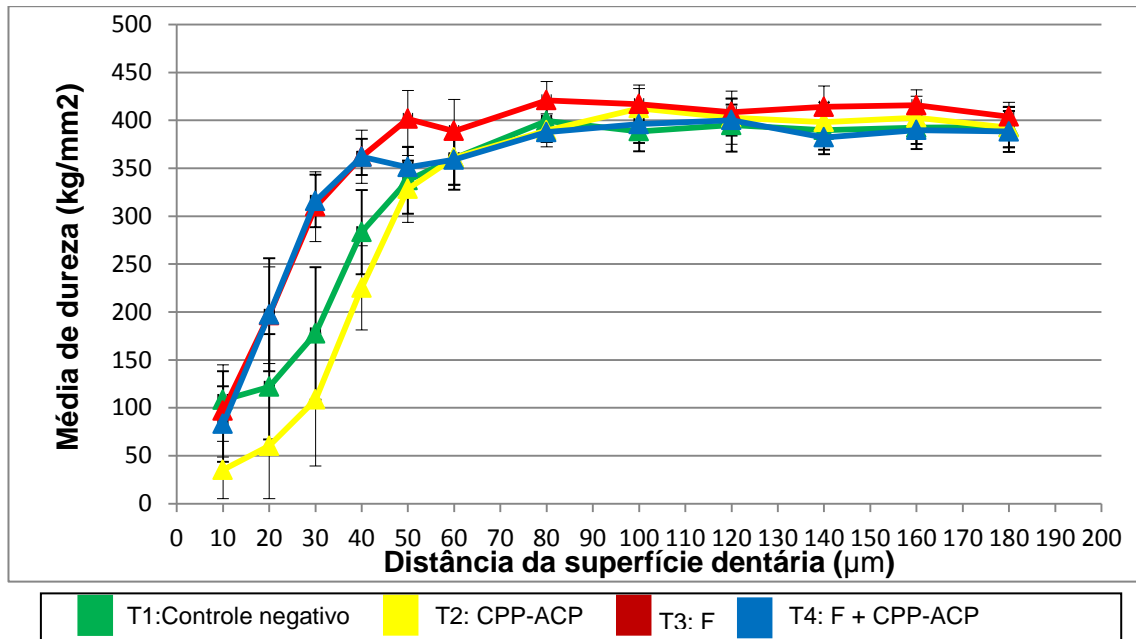


Figura 14 - Médias de Dureza (kg/mm<sup>2</sup>) por distância da superfície (µm)

Conforme pode ser observado na figura 14, nota-se que a lesão de cárie criada tem aproximadamente 50 µm de profundidade. A diferença de dureza em relação aos tratamentos realizados se diferenciou de forma significativa na profundidade de 30 a 40 µm. Ou seja, nessa distância o T1 e T2 tiveram durezas semelhantes entre si e menores que as medidas de dureza de T3 e T4, que apresentaram valores semelhantes.



Seguem os dados da perda da área de dureza -  $\Delta S$  ( $\text{kg}/\text{mm}^2 \times \mu\text{m}$ ) de acordo com os tratamentos realizados, por meio da figura 15 e da tabela 09.

Tabela 09 - Área de perda de dureza do esmalte ( $\Delta S$ ) após as ciclagens de pH e em função dos tratamentos (Média $\pm$ dp; n=10)\*.

Tratamento	$\Delta S \pm$ Desvio Padrão
T1: Controle negativo	9.442,75 $\pm$ 2.210,86 (a)
T2: CPP-ACP	12.664,46 $\pm$ 2.423,90 (b)
T3: F	6.698,61 $\pm$ 2.364,6 (a,c)
T4: F + CPP-ACP	6.010,7 $\pm$ 2.443,98 (c)

Tratamentos cujas médias são seguidas por letras distintas diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

\*Só foi possível avaliar a dureza longitudinal de 9 blocos no grupo T2.

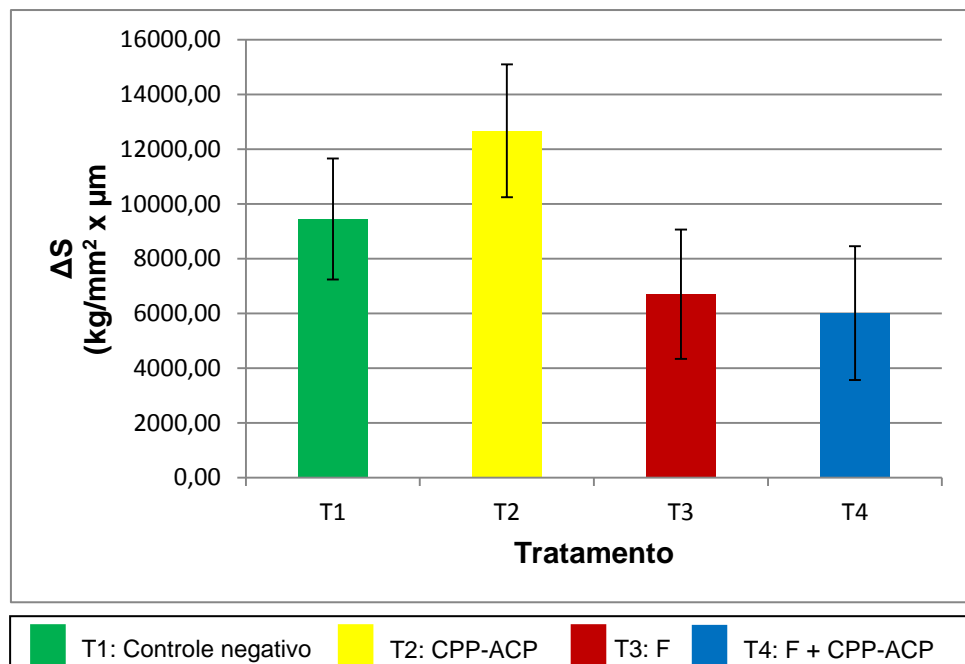


Figura 15 - Área de perda de dureza ( $\Delta S$ ) de acordo com os tratamentos. Tratamentos cujas médias são seguidas por letras distintas diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

Nota-se que os tratamentos que apresentaram melhor desempenho (menor perda de área de dureza) foram os que utilizaram o F isolado ou associado ao CPP-ACP. Não houve diferença significativa entre esses dois grupos. O grupo em que se utilizou CPP-ACP isolado foi o que apresentou maior perda de área de dureza, diferenciando-se significativamente de todos os demais grupos.

Surpreendentemente, observou-se que o grupo controle (T1) apresentou

menor perda de área de dureza do que o grupo em que se utilizou o CPP-ACP isolado. Além disso, o T1 teve mesmo desempenho que o grupo em que se utilizou terapia fluoretada (T3).

## 5.2 CONCENTRAÇÃO DE F NO ESMALTE

As concentrações de F (ppm) nas camadas de esmalte removidas dos blocos estão apresentadas a seguir, na forma de ppm:

Tabela 10 - Concentração de fluoreto no esmalte, expressa em ppm F após as ciclagens de pH e de acordo com os tratamentos (Média  $\pm$  dp; n=10). T

<b>Tratamento</b>	<b>Média F (ppm)</b>
T1: Controle negativo	1.490,5 $\pm$ 223,1 (a,c)
T2: CPP-ACP	795,2 $\pm$ 131,1 (b)
T3: F	1.657,8 $\pm$ 327,5 (a)
T4: F + CPP-ACP	1.302,5 $\pm$ 300,6 (c)

Tratamentos cujas médias são seguidas por letras distintas diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ )

Observou-se que, como esperado, o grupo em que o CPP-ACP foi aplicado de forma isolada é o que possui menor concentração F. O grupo que recebeu terapia fluoretada isolada (T3) possui a maior concentração de F observada. O grupo do F+ CPP-ACP (T4) tem menor concentração de F que o T3. Um fato inusitado foi a concentração de F no grupo controle ser semelhante às do grupo T3 e T4. Isso sugere contaminação de F no grupo controle e auxilia a explicar a semelhança de perda de área de dureza encontrada entre o grupo controle (T1) e o grupo T3.

## 5.3 CONCENTRAÇÃO DE F NAS SOLUÇÕES DESMINERALIZANTE E REMINERALIZANTE ANTES E APÓS A CICLAGEM DE pH

Inicialmente a solução Des possuía 0,036 ug de F por ml, e a solução Re possuía 0,0479 ug de F por ml. As concentrações de F nessas soluções após as ciclagens estão apresentadas nas tabelas abaixo:

Tabela 11 – Média de F na solução Des

<b>Média F (ug/ml) Solução Des</b>		
<b>Tratamento</b>	<b>Inicial</b>	<b>Após ciclagens</b>
Controle negativo	0.0306	0.0384
CPP-ACP	0.0306	0.0390
F	0.0306	0.0486
F + CPP-ACP	0.0306	0.0456

Tabela 12 – Média de F na solução Re

<b>Média F (ug/ml) Solução Re</b>		
<b>Tratamento</b>	<b>Inicial</b>	<b>Após tratamento</b>
Controle negativo	0.0479	0.0758
CPP-ACP	0.0479	0.0528
F	0.0479	0.0579
F + CPP-ACP	0.0479	0.0579

Não foi possível realizar análise estatística dessas diferenças uma vez que não havia amostras suficientes, pois se tratava de somente uma solução por grupo de tratamento.

Notou-se que a solução Re do controle negativo, após a ciclagem possui numericamente maior concentração de F que as demais soluções, o que também ajuda a confirmar a hipótese de contaminação de F o grupo controle.



## 6 DISCUSSÃO

Reconhece-se o uso abrangente do dentífrico fluoretado como um importante fator para o declínio da cárie dental na década de 70, segundo Goldman *et al* (4). Entretanto, apesar de a incidência da cárie ter reduzido ao longo dos anos, sua prevalência ainda é alta, de forma que é considerada um dos maiores problemas de saúde pública no mundo (68). O processo de remineralização e desmineralização do esmalte tem sido estudado há mais de 100 anos. Dessa forma, o tratamento não invasivo de lesões iniciais de cárie, que estimule a remineralização e/ou iniba a desmineralização, constitui um dos maiores avanços no controle da doença. O desenvolvimento de produtos que tenham o potencial de promover a remineralização e inibir a desmineralização dentária é bem vindo, mas deve ser avaliado com cautela, por meio da análise da melhor evidência científica disponível.

Entre os produtos mais recentemente lançados no mercado, destaca-se o CPP-ACP, que se encontra disponível em diferentes veículos. A intervenção à base de CPP-ACP mais utilizada em estudos *in situ* ocorre por meio de gomas de mascar (*Trident Xtra Care*<sup>®</sup>, Américas; *Recaldent*, Japão). Outros veículos de CPP-ACP incluem enxaguatórios bucais e o creme tópico, denominado *Tooth Mousse*<sup>®</sup> (Europa e Austrália) ou *MI Paste*<sup>®</sup> (Estados Unidos e Japão) e o *MI Paste Plus*<sup>®</sup>, associação do CPP-ACP ao F (16). Os cremes tópicos são os veículos mais utilizados em estudos *in vivo*. Entretanto, ressalta-se que a posologia do creme à base CPP-ACP utilizada nos estudos é muito variável, uma vez que na instrução de uso do produto não está estabelecida a melhor forma e frequência de aplicação. Esse fato influencia de sobremaneira a comparação dos resultados encontrados nos estudos que utilizaram o produto.

O complexo composto de fosfato de cálcio amorfo estabilizado pelo fosfopeptídeo de caseína (CPP-ACP) tem demonstrado efeito anticárie em experimentos laboratoriais, e em estudos com animais e humanos (9). Uma das grandes vantagens desse composto se relaciona a seu potencial de penetrar no corpo da lesão de cárie, diferentemente do que ocorre no processo de remineralização observado com o uso de F, no qual a penetração dos íons se limita à zona mais superficial da lesão. O composto de caseína é termodinamicamente direcionado para as superfícies dos cristais de apatita, e os íons de Ca e P são liberados e depositados nos espaços vazios desses cristais (16,20).

Além disso, O CPP-ACP pode fornecer íons de Ca e P biodisponíveis para a formação de FA, podendo auxiliar o F em seu processo de inibir a desmineralização e estimular a remineralização dentária (20). Estudos demonstraram que a combinação de níveis adequados de Ca, P e F pode produzir remineralização substancial de lesões de esmalte e até da dentina subjacente à lesão (22,23). Logo, um sistema que favoreça a remineralização subsuperficial pode ser muito promissor (16).

Embora o CPP-ACP venha sendo utilizado já há alguns anos na Europa, Ásia, Oceania e Estados Unidos, as revisões sistemáticas (RS) existentes (7,8) sobre o produto mostram que não há comprovação de sua eficácia ao longo dos anos, sugerindo que mais estudos sejam realizados para verificar seu potencial anticárie.

Neste trabalho foram apresentados, no total, 15 estudos *in situ* e 9 estudos *in vivo* que avaliam o potencial anticárie do CPP-ACP, em especial o seu papel remineralizador na maioria das publicações. Em 9 estudos *in situ* (31,33-37,41,46) e em 1 estudo *in vivo* (40), foi utilizada goma de mascar com adição do CPP-ACP, com resultados muito promissores. Entretanto, é importante discutir o papel da saliva no processo de remineralização dentária. Sabe-se que o aumento do fluxo salivar proporcionado pelo uso de goma de mascar sem adição de açúcar é um método considerado efetivo no controle da cárie dentária (69). Dessa forma, torna-se difícil separar o efeito remineralizador, que seria decorrente exclusivamente do composto, daquele que é devido ao aumento do fluxo salivar que ocorre em função do estímulo mastigatório do uso da goma de mascar. Ressalta-se também, que dentre os 10 estudos que avaliam a eficácia do CPP-ACP no veículo goma de mascar, apenas 1 (33) não é de autoria do grupo que patenteou o produto.

Em relação ao creme à base de CPP-ACP (*MI Paste* e o *MI Paste Plus*), 7 estudos *in vivo* e 3 estudos *in situ* utilizam o produto. Os resultados dos estudos *in vivo* são contraditórios: ora CPP-ACP apresenta resultado semelhante ao placebo (40,49,) e ao F (51,52); ora o CPP-ACP possui vantagem em relação ao placebo (50) e ao F. (42, 53) Ressalta-se que somente um estudo *in vivo* (53) foi realizado pelo grupo que patenteou o complexo de caseína.

Ainda sobre os estudos já realizados, nota-se que em muitos o CPP-ACP foi comparado a uma terapia placebo. Dessa forma, resultados que favorecessem a ação do CPP-ACP já eram esperados. É muito importante que o comparador utilizado seja a terapia padrão, nesse caso, os compostos fluoretados. Pois, apesar

de se notar o aparecimento de novos produtos com potencial anticárie, nem sempre as novas terapias conseguem comprovar vantagens clínicas em relação as já existentes. Além disso, o fato de grande parte das publicações ser de autores que pertencem ao grupo que patenteou complexo de caseína introduz importante viés de publicação a esses estudos. Portanto, é imprescindível que novos estudos sejam realizados por grupos independentes para que se possa comprovar o real benefício anticárie do CPP-ACP.

Mesmo com o aumento do número de publicações *in situ* e *in vivo* em odontologia, os estudos *in vitro* são os modelos mais comumente empregados em pesquisas na área de cariologia, uma vez que se consegue ter grande controle do experimento realizado. Por meio desses estudos, geram-se dados quantitativos suficientes para permitir que os investigadores conduzam ensaios clínicos bem delineados e apropriados para avaliar a questão estudada. As ciclagens de pH são muito utilizadas nos experimentos *in vitro* e se propõem a simular, de forma controlada, diferentes desafios cariogênicos ocorridos no meio bucal. Essa vantagem de se conseguir controlar variáveis, como as composições das soluções Re e Des, o tempo e o número de tratamentos, possibilita a avaliação de produtos com potencial anticárie (10, 58)

Dessa forma, diante da falta de uniformidade de resultados encontrados nos estudos que avaliam a eficácia do CPP-ACP, e da escassez de publicações que estudam a inibição da desmineralização promovida pelo composto, este estudo *in vitro* foi conduzido com o intuito de avaliar o potencial do CPP-ACP, isolado ou associado ao F, em inibir a desmineralização dentária em comparação ao composto fluoretado. De acordo com os resultados obtidos, nota-se que a terapia composta por *MI Paste* (CPP-ACP) associada ao dentifrício fluoretado (1100 ppm) obteve resultado semelhante ( $\Delta S 6.010,7 \pm 2.443,98$ ) ao dentifrício fluoretado isolado ( $\Delta S 6.698,61 \pm 2.364,6$ ) no que se refere à desmineralização dentária ocorrida durante as ciclagens de pH. O grupo em que foi aplicado somente o *MI Paste* teve o pior desempenho, ( $\Delta S 12.664,46 \pm 2.423,90$ ), diferenciando-se de forma significativa de todos os demais grupos. Esses resultados vão ao encontro de parte dos resultados de dois estudos *in vitro*: Pulido *et al* (6) demonstraram que o *MI Paste* teve resultado semelhante ao grupo controle e o *MI Paste* associado ao dentifrício fluoretado 1100 ppm não se diferenciou do dentifrício 1100 ppm isolado; Behnam *et al* (55) demonstraram maior eficácia da terapia fluoretada em relação ao *MI Paste*. Apesar

de se tratar de uma avaliação *in vitro*, cuja extrapolação dos resultados para a realidade clínica deva ser feita de forma cautelosa, faz-se necessário avaliar a indicação do CPP-ACP na forma de creme tópico, uma vez que o papel do dentifrício fluoretado na redução da desmineralização dentária já está amplamente comprovado, por meio de ensaios clínicos randomizados (71, 72, 73).

Fato inusitado ocorreu com o grupo controle, o qual teve área de desmineralização ( $\Delta S$  9.442,75  $\pm$  2.210,86) semelhante à do grupo que recebeu dentifrício fluoretado isolado. Apesar de o experimento ter sido conduzido com todo rigor metodológico possível, o grupo controle sofreu contaminação por F de alguma forma não identificada. A contaminação desse grupo foi confirmada por meio da realização da biópsia de F no esmalte dos blocos. Observou-se que a concentração de F, em ppm, nos blocos do grupo controle (1.490,5 ppm F  $\pm$  223,1) apresentava mesma concentração de F que nos blocos dos grupos que utilizaram dentifrício isolado T3 (1.657,8 ppm F  $\pm$  327,5) ou associado ao *MI Paste T4* (1.302,5 ppm F  $\pm$  300,6). Outro fato observado é que houve diferença significativa entre a concentração de F entre os blocos dos grupos T3 e T4, ou seja, não foi observado o suposto efeito de o CPP/ACP auxiliar na formação de FA, por meio do fornecimento de íons de Ca e P biodisponíveis.

Apesar de ter ocorrido a ação do F no grupo controle, fato que prejudica a sua comparação em relação aos outros grupos, os resultados de perda de área de dureza obtidos nos grupos T2, T3 e T4 são considerados válidos, uma vez que vão ao encontro dos resultados de outro estudo (70) que utilizou mesmo modelo de ciclagem adotado pelo presente estudo. Ana e colaboradores (70) realizaram estudo *in vitro* que avaliou o efeito da aplicação do laser, associado ou não ao F, na redução da desmineralização dentária. Ao ser calculada a perda da área de dureza nas secções longitudinais de esmalte, por meio de mesma metodologia adotada pelo presente estudo, observaram-se os seguintes resultados:  $\Delta S$  do grupo controle foi de 11.338,98  $\pm$  2.759,6;  $\Delta S$  do grupo em que foi realizada aplicação tópica de F foi de 5.954,58  $\pm$  2.588,2. Mesmo diante das limitações inerentes a uma comparação indireta entre diferentes estudos, observa-se que a perda de área de dureza dos grupos T3 e T4 foi semelhante à do grupo que recebeu aplicação tópica de F. Em relação ao  $\Delta S$  observado no grupo controle, ele se mostrou semelhante ao observado no grupo em que o CPP-ACP foi aplicado de forma isolado (T2),



sugerindo que o CPP-ACP se comportou como um grupo controle neste experimento.

De acordo com os dados de perda de dureza do esmalte relacionada à distância da superfície dentária, observou-se que a perda mineral foi generalizada em todos os grupos, na distância de 10  $\mu\text{m}$ . Na distância de 30 a 40  $\mu\text{m}$ , observou-se de forma mais evidente diferenciação entre os tratamentos. Já na distância de 50  $\mu\text{m}$ , profundidade média da lesão de cárie formada, a diferença não foi observada. Na verdade, segundo Argenta *et al*, esses resultados sugerem que, com o uso de dentifrícios fluoretados, a camada mais mineralizada (entre 30 e 40  $\mu\text{m}$ , da superfície) posteriormente se estenderá à profundidade de 10  $\mu\text{m}$ , formando uma camada superficial mais mineralizada de uma lesão subsuperficial que se formaria a partir de 50  $\mu\text{m}$  de profundidade. Os resultados do presente estudo, que vão ao encontro dos achados de Argenta *et al* (64), demonstram que os tratamentos não impediram a formação da lesão, mas algumas terapias impediram de forma significativa a progressão da lesão, indicando que o F teve um papel preponderante na inibição da progressão da lesão, uma vez que estava presente tanto no T3 quanto no T4.

A análise da concentração de F nas soluções Des e Re foi realizada, antes e após a realização das ciclagens, a fim de serem monitoradas as perdas minerais ocorridas durante o experimento. As soluções Des apresentaram maior concentração de F do que as soluções iniciais, uma vez que houve dissolução do F fracamente ligado ao esmalte, ligação formada durante os tratamentos. Tal fato ocorreu mesmo quando não houve tratamento à base de F, pois nas soluções iniciais havia pequena concentração de F (0.0306 ppm). Em relação às soluções Re, observou-se que o grupo controle teve uma concentração de F maior, numericamente, que os demais grupos. Ratificando a probabilidade de esse grupo ter sido contaminado com F.

Apesar de o CPP-ACP ter uma pretensa vantagem de inibir a progressão da lesão de cárie, por causa do seu mecanismo em penetrar na lesão, esse efeito não foi observado no presente modelo *in vitro*. Uma explicação seria que esse mecanismo de ação não traduziu, na prática, em uma inibição efetiva da desmineralização dentária, conforme também identificado por Pulido *et al* e Behnan *et al* (6,55). Mas há também a hipótese de que alguns fatores possam ter inibido a ação do produto, uma vez que outros estudos encontraram eficácia semelhante

entre o CPP-ACP e compostos fluoretados (39, 56). Dentre esses fatores estariam: a posologia do MI Paste ainda não estabelecida, portanto pode-se ter utilizado dose e/ou frequências subestimadas; o biofilme e as próprias bactérias são reservatórios do CPP/ACP, como essas condições não estão presentes em modelos in vitro, a disponibilidade do produto pode ter sido prejudicada.

Mais estudos de grupos independentes, bem delineados, devem ser realizados para que se avalie melhor o papel do CPP-ACP em inibir a desmineralização dentária, a fim de que seja reduzida a incerteza sobre o benefício anticárie adicional do complexo de caseína em relação aos compostos fluoretados.



## 7 CONCLUSÃO

O modelo *in vitro* estudado não identificou benefício do creme à base de CPP-ACP (*MI Paste*), isolado ou associado ao dentifrício fluoretado 1100 ppm NaF, em inibir o processo de desmineralização do esmalte dentário humano em comparação ao composto fluoretado.



## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cury J. Uso do flúor e controle da cárie como doença. In: Baratieri LN.(Org.) Odontologia Restauradora: Fundamentos e Possibilidades. SãoPaulo: Livraria Santos; 2001. P.31-68.
2. Fejerskov O. Changing Paradigms in Concepts on Dental Caries: consequences for Oral Health Care. *Caries Res* 2004;38:182–191
3. Petersson G, Bratthall D. The caries decline: a review of reviews. *Eur J Oral Sci.* 1996 Aug; 104(4 ( Pt 2):436-43.
4. Goldman A, Yee R, Holmgren C e Benzain H Global affordability of fluoride toothpaste. *Globalization and Health* 2008, 4:7
5. ICDAS Coordinating Committee: Criteria, manual revised in December and July 2009. [www.icdas.org](http://www.icdas.org), 2009.
6. MT Pulido, JS Wefel, MM Hernandez, GE Denehy, S Guzman-Armstrong, JM Chalmers et al. The Inhibitory Effect of MI Paste, Fluoride and a Combination of Both on the Progression of Artificial Caries-like Lesions in Enamel. *Operative Dentistry*, 2008, 33-5, 550-555.
7. Azarpazhooh A, Limeback H et al. J Am Dent Assoc Clinical Efficacy of Casein Derivatives: A Systematic Review of the Literature. *J Am Dent Assoc* 2008;139:915-924
8. Yengopal V, Mickenautsch S. Caries preventive effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP): a meta-analysis. *Acta Odontol Scand.* 2009; Aug 21:1-12
9. E.C. Reynolds, F. Cai, N.J. Cochrane, P. Shen, G.D. Walker, M.V. Morgan, and C. Reynolds. Fluoride and Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate. *J Dent Res* 87(4):344-348, 2008
10. White D. The application of in vitro models to research on demineralization and remineralization of the teeth. *Adv. Dent Res* 1995; 9 (3): 175-93.
11. Leal S, Bronkhorst E, Fan M, Frencken JE. Untreated cavitated dentine lesions: impact on children's quality of life. *Caries Res* 2012; 46: 102-106.
12. Cury J, Tenuta L. Enamel remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions? *Braz Oral Res.* 2009;23 Suppl 1:23-30. Review.
13. Tenuta L, Cury J. Fluoride: its role in dentistry. *Braz Oral Res.* 2010; 24 Suppl 1:9-17.
14. Tenuta L, Cury J. Fluoreto: da ciência à prática clínica. In: Assed S. *Odontologia para crianças e adolescentes.* São Paulo, Artes Médicas, no prelo. 2004

15. Khan A, Moola MH, Cleaton-Jones P. Global trends in dental fluorosis from 1980 to 2000: a systematic review. *S Afr Dent J* 2005; 60:418-421.
16. Cochrane N, Cai F, Huq N, Burrow M, Reynolds E. New Approaches to Enhanced Remineralization of Tooth Enamel. *J Dent Res* 89(11):1187-1197, 2010.
17. Silverstone L. Remineralization of human enamel in vitro. *Proc R Soc Med*, 1972; 65:906-908.
18. Van der Veen M, Mattousch T, Boersma J. Longitudinal development of caries lesions after orthodontic treatment evaluated by quantitative light induced fluorescence. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007; 131:223-228.
19. Mattousch T, Van der Veen M, Zentner A. Caries lesions after orthodontic treatment followed by quantitative light-induced fluorescence: a two year follow-up. *Eur J Orthod* 2007; 29:294-298.
20. Reynolds E. Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate: The Scientific Evidence. *Adv Dent Res* 21:25-29, August, 2009.
21. Schupbach P, Neeser J, Golliard M, Rouvet M, Guggenheim B. Incorporation of caseinoglycomacropeptide and caseinophosphopeptide into the salivary pellicle inhibits adherence of mutans streptococci. *J Dent Res* 1996; 75:1779-1788.
22. Ten Cate J Remineralization of caries lesions extending into dentin. *J Dent Res* 80:1407-1411, 2001.
23. Ten Cate J, Buijs M, Miller C, Exterkate R. Elevated fluoride products enhance remineralization of advanced enamel lesions. *J Dent Res* 87:943-947, 2008.
24. Arends J, Ten Cate J. Tooth enamel remineralization. *J Crystal Growth* 53:135-147, 1981.
25. Ten Cate J, Jongebloed W, Arends J Remineralization of artificial enamel lesions in vitro. IV. Influence of fluorides and diphosphonates on short- and long-term remineralization. *Caries Res* 15:60-69, 1981.
26. Ogaard B, Rolla G, Arends J, Ten Cate J Orthodontic appliances and enamel demineralization. Part 2. Prevention and treatment of lesions. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1988, 94:123-128.
27. Willmot D. White lesions after orthodontic treatment: does low fluoride make a difference? *J Orthod* 2004 31:235-24,.
28. Andersson A, Sköld-Larsson K, Hallgren A, Petersson L, Twetman S. Effect of a dental cream containing amorphous creamphosphate complexes on white spot lesion regression assessed by laser fluorescence. *Oral Health Prev Dent* 2007;5(3):229-233.

29. Hay K, Thomson W. A clinical trial of the anticaries efficacy of casein derivatives complexed with calcium phosphate in patients with salivary gland dysfunction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002;93(3):271-275.
30. Schirrmester JF, Seger RK, Altenburger MJ, Lussi A, Hellwig E. Effects of various forms of calcium added to chewing gum on initial enamel carious lesions in situ (published correction in *Caries Res* 2007;41[3]:243). *Caries Res* 2007;41(2):108-114
31. Cai F, Manton DJ, Shen P, Walker GD, Cross KJ, Yuan Y, Reynolds C, Reynolds EC. Effect of addition of citric acid and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate to a sugar-free chewing gum on enamel remineralization in situ. *Caries Res*. 2007;41(5):377-83.
32. Walker G, Cai F, Shen P, Reynolds C, Ward B, Fone C, Honda S, Koganei M, Oda M, Reynolds E. Increased remineralization of tooth enamel by milk containing added casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dairy Res*. 2006 Feb;73(1):74-8.
33. Itthagarun A, King NM, Yiu C, Dawes C. The effect of chewing gums containing calcium phosphates on the remineralization of artificial caries-like lesions in situ. *Caries Res*. 2005 May-Jun;39(3):251-4.
34. Iijima Y, Cai F, Shen P, Walker G, Reynolds C, Reynolds EC. Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Caries Res*. 2004 Nov-Dec;38(6):551-6.
35. Cai F, Shen P, Morgan MV, Reynolds EC. Retention in plaque and remineralization of enamel lesions by various forms of calcium in a mouthrinse or sugar-free chewing gum. *J Dent Res*. 2003 Mar;82(3):206-11.
36. Cai F, Shen P, Morgan MV, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions in situ by sugar-free lozenges containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Aust Dent J*. 2003 Dec;48(4):240-3.
37. Shen P, Cai F, Nowicki A, Vincent J, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res*. 2001 Dec;80(12):2066-70.
38. Reynolds EC, Cai F, Cochrane NJ, Shen P, Walker GD, Morgan MV, Reynolds C. Fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res*. 2008 Apr;87(4):344-8.
39. Manton DJ, Walker GD, Cai F, Cochrane NJ, Shen P, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions in situ by the use of three commercially available sugar-free gums. *Int J Paediatr Dent*. 2008 Jul;18(4):284-90. Epub 2008 Apr 23.
40. Morgan MV, Adams GG, Bailey DL, Tsao CE, Fischman SL, Reynolds EC. The anticariogenic effect of sugar-free gum containing CPP-ACP nanocomplexes on



approximal caries determined using digital bitewing radiography. *Caries Res* 2008;42:/171\_84.

41. Cochrane NJ, Shen P, Byrne SJ, Walker GD, Adams GG, Yuan Y, Reynolds C, Hoffmann B, Dashper SG, Reynolds EC. Remineralisation by Chewing Sugar-Free Gums in a Randomised, Controlled in situ Trial Including Dietary Intake and Gauze to Promote Plaque Formation. *Caries Res*. 2012;46(2):147-55. Epub 2012 Apr 5.

42. Shen P, Manton DJ, Cochrane NJ, Walker GD, Yuan Y, Reynolds C, Reynolds EC. Effect of added calcium phosphate on enamel remineralization by fluoride in a randomized controlled in situ trial. *J dent*. 2011 Jul;39(7):518-25. Epub 2011 May 19.

43. Walker GD, Cai F, Shen P, Adams GG, Reynolds C, Reynolds EC. Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate incorporated into sugar confections inhibits the progression of enamel subsurface lesions in situ. *Caries Res*. 2010;44(1):33-40. Epub 2010 Jan 15.

44. Srinivasan N, Kavitha M, Loganathan SC. Comparison of the remineralization potential of CPP-ACP and CPP-ACP with 900 ppm fluoride on eroded human enamel: An in situ study. *Arch Oral Biol*. 2010 Jul;55(7):541-4.

45. Walker GD, Cai F, Shen P, Bailey DL, Yuan Y, Cochrane NJ, Reynolds C, Reynolds EC. Consumption of milk with added casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate remineralizes enamel subsurface lesions in situ. *Aust Dent J*. 2009 Sep;54(3):245-9.

46. Cai F, Shen P, Walker GD, Reynolds C, Yuan Y, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by chewing gum with added calcium. *J Dent*. 2009 Oct;37(10):763-8. Epub 2009 Jun 12.

47. Robertson MA, Kau CH, English JD, Lee RP, Powers J, Nguyen JT. MI Paste Plus to prevent demineralization in orthodontic patients: a prospective randomized controlled trial. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2011 Nov;140(5):660-8

48. Altenburger MJ, Gmeiner B, Hellwig E, Wrbas KT, Schirrmeyer JF. The evaluation of fluorescence changes after application of casein phosphopeptides (CPP) and amorphous calcium phosphate (ACP) on early carious lesions. *Am J Dent*. 2010 Aug;23(4):188-92.

49. Beerens MW, van der Veen MH, van Beek H, ten Cate JM. Effects of casein phosphopeptide amorphous calcium fluoride phosphate paste on white spot lesions and dental plaque after orthodontic treatment: a 3-month follow-up. *Eur J Oral Sci*. 2010 Dec;118(6):610-7. doi: 10.1111/j.1600-0722.2010.00780.x.

50. Uysal T, Amasyali M, Ozcan S, Koyuturk AE, Akyol M, Sagdic D. In vivo effects of amorphous calcium phosphate-containing orthodontic composite on enamel demineralization around orthodontic brackets. *Aust Dent J*. 2010 Sep;55(3):285-91

51. Uysal T, Amasyali M, Koyuturk AE, Ozcan S. Effects of different topical agents on enamel demineralization around orthodontic brackets: an in vivo and in vitro study. *Aust Dent J*. 2010 Sep;55(3):268-74.
52. Bröchner A, Christensen C, Kristensen B, Tranæus S, Karlsson L, Sonnesen L, Twetman S. Treatment of post-orthodontic white spot lesions with casein phosphopeptide-stabilised amorphous calcium phosphate. *Clin Oral Investig*. 2011 Jun;15(3):369-73. Epub 2010 Apr 10.
53. Bailey DL, Adams GG, Tsao CE, Hyslop A, Escobar K, Manton DJ, Reynolds EC, Morgan MV. Regression of post-orthodontic lesions by a remineralizing cream. *J Dent Res*. 2009 Dec;88(12):1148-53. Epub 2009 Nov 3.
54. Poggio C, Lombardini M, Dagna A, Chiesa M, Bianchi S. Protective effect on enamel demineralization of a CPP-ACP paste: an AFM in vitro study. *J Dent*. 2009 Dec;37(12):949-54. Epub 2009 Aug 4.
55. Behnan SM, Arruda AO, González-Cabezas C, Sohn W, Peters MC. In-vitro evaluation of various treatments to prevent demineralization next to orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2010 Dec;138(6):712.e1-7; discussion 712-3.
56. Uysal T, Amasyali M, Koyuturk AE, Ozcan S. Effects of different topical agents on enamel demineralization around orthodontic brackets: an in vivo and in vitro study. *Aust Dent J*. 2010 Sep;55(3):268-74.
57. Forrest J, Miller S. Evidence-Based Decision Making in Action: Part 1 - Finding the Best Clinical Evidence. *J Contemp Dent Pract* 2002 August;(3)3: 010-026.
58. Buzalaf M, Hannas A, Magalhães A, Rios D, Honório H, Delbem A. pH-cycling models for in vitro evaluation of the efficacy of fluoridated dentifrices for caries control: strengths and limitations. *J Appl Oral Sci*. 2010 Jul-Aug;18(4):316-34.
59. Arends J, ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res*. 1992 Apr;71 Spec No:924-8.
60. Davidson C, Hoekstra S, Arends J. Microhardness of Sound, Decalcified and Etched Tooth Enamel Related to the Calcium Content. *Caries Res* 1974;8:135-144
61. Itthagarun A, Wei SH, Wefel JS. The effect of different commercial dentifrices on enamel lesion progression: an in vitro pH-cycling study. *Int Dent J*. 2000 Feb;50(1):21-8.
62. Cury JA, Oliveira MJ, Martins CC, Tenuta LM, Paiva SM. Available fluoride in toothpastes used by Brazilian children. *Braz Dent J*. 2010;21(5):396-400.
63. Queiroz C, Hara A, Paes Leme A, Cury J. pH-Cycling Models to Evaluate the Effect of Low Fluoride Dentifrice on Enamel De- and Remineralization. *Braz Dent J* (2008) 19(1): 21-27

64. Argenta R, Tabchoury C, Cury J. A modified pH-cycling model to evaluate fluoride effect on enamel demineralization. *Pesqui Odontol Bras* 2003;17(3):241-6.
65. Toda S, Featherstone JD. Effects of fluoride dentifrices on enamel lesion formation. *J Dent Res*. 2008 Mar;87(3):224-7.
66. Featherstone JD, ten Cate JM, Shariati M, Arends J: Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res* 1983; 17: 385–391.
67. Kielbassa AM, Wrbas KT, Schulte-Mönting J, Hellwig E: Correlation of transversal microradiography and microhardness on in situ induced demineralization in irradiated and nonirradiated human dental enamel. *Arch Oral Biol* 1999; 44: 243–251.
68. Clarkson J International collaborative research on fluoride. *J Dent Res*. 2000 Apr;79(4):893-904.
69. Mickenautsch S, Leal SC, Yengopal V, Bezerra AC, Cruvinel V. Sugar-free chewing gum and dental caries: a systematic review. *J Appl Oral Sci* 2007; 15: 83-88.
70. Ana P, Tabchoury C, Cury J, Zezell D. Effect of Er,Cr:YSGG Laser and Professional Fluoride Application on Enamel Demineralization and on Fluoride Retention *Caries Res* 2012;46:441–451
71. Duckworth RM, Morgan SN, Gilbert RJ. Oral fluoride measurements for estimation of the anti-caries efficacy of fluoride treatments. *J Dent Res*. 1992 Apr;71 Spec No:836-40.
72. Hartshorne JE, Grobler SR, Louw AJ, Carstens IL, Laubscher JA. The relationship between plaque index scores, fluoride content of plaque, plaque pH, dental caries experience and fluoride concentration in drinking water in a group of primary school children. *J Dent Assoc S Afr*. 1994 Jan;49(1):5-10.
73. Lynch RJ, Navada R, Walia R. Low-levels of fluoride in plaque and saliva and their effects on the demineralisation and remineralisation of enamel; role of fluoride toothpastes. *Int Dent J*. 2004;54(5 Suppl 1):304-9.

## **APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

O Sr (a) está convidado(a) a participar de uma pesquisa científica. Este documento tem o objetivo de prestar maiores esclarecimentos sobre essa pesquisa e está escrito em duas vias, sendo uma para o(a) senhor(a) e outra para a cirurgiã-dentista pesquisadora. Por favor, leia com atenção e pergunte qualquer coisa que o(a) senhor(a) considerar necessária sobre as informações fornecidas a seguir. A pesquisadora poderá esclarecer todas as dúvidas que o(a) senhor(a) tiver a respeito deste documento e da pesquisa.

Normalmente para tratamento de lesões iniciais de cárie, durante algumas semanas o dentista aplica flúor na superfície desses dentes e acompanha o comportamento dessas manchas brancas durante determinado período. Geralmente essas lesões diminuem e até desaparecem ao final do tratamento.

Muitos estudos mostram que um novo tratamento, à base de uma proteína do leite (caseína), possui ação muito parecida e às vezes até melhor que a do flúor. Essa nova substância, chamada de CPP-ACP, tem a função de repor o mineral perdido nas lesões iniciais de cárie e impedir que se forme uma lesão de cárie efetiva.

Esse estudo no qual você será um dos participantes tem o objetivo de comparar a eficácia dessas duas substâncias e de uma substância à base de placebo, a fim de se verificar qual é a alternativa que obteve maior sucesso.

Você utilizará um aparelho móvel que não poderá ser visualizado quando você falar ou sorrir. Esse aparelho será encaixado no “céu” da sua boca e conterá 4 fragmentos dentários humanos, os quais forma devidamente limpos e esterilizados. Esses fragmentos dentários possuem lesões iniciais de cárie, criadas em ambiente laboratorial, sobre as quais você irá inserir um creme à base de CPP-ACP, por 3 minutos, 2 vezes ao dia, por 20 dias. Após esse período você ficará 1 semana sem utilizar esse aparelho e decorrido esse período, você repetirá o procedimento anterior com um creme placebo, por 20 dias novamente. Posterior a isso, você ficará novamente 1 semana sem utilizar o aparelho e depois repetirá o procedimento utilizando solução para bochecho à base de flúor, 1 vez ao dia, por 20 dias.

Você provavelmente não irá sentir nenhum desconforto quando for submetido aos três tratamentos, pois as substâncias não possuem sabor nem cheiro

desagradáveis. Entretanto, você só poderá participar dessa pesquisa se não tiver alergia e/ou intolerância ao leite, pois a nova substância que será usada nesse estudo é feita a partir do leite.

O objetivo dessa pesquisa é avaliar o quanto esse novo tratamento é melhor do que o flúor em remineralizar as lesões criadas artificialmente nas superfícies dos dentes encaixados no aparelho móvel que você usará.

A participação é voluntária, por isso o(a) senhor(a) poderá recusar ou desistir de participar. O(a) senhor(a) não pagará nenhuma quantia para participar deste estudo, como também não receberá qualquer forma de recompensa financeira.

Os resultados da pesquisa serão divulgados por meio de Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília. O paciente poderá entrar em contato com a pesquisadora Renata Faria Pereira pelo telefone: (61) 9970-2963 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina pelo telefone: (61) 3107-1918.

Eu li e entendi este documento, e minhas dúvidas foram esclarecidas. Eu \_\_\_\_\_ concordo voluntariamente em participar deste estudo e autorizo a divulgação dos resultados obtidos em publicações científicas e apresentações em eventos científicos (o paciente não será identificado, apenas os profissionais responsáveis pelo exame terão acesso à ficha com os dados de identificação da paciente).

Brasília, \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_

Assinatura do responsável:

\_\_\_\_\_

Assinatura da pesquisadora:

\_\_\_\_\_

Pesquisadora responsável: Renata Faria Pereira      Telefone: (61) 9970-2963

Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Faculdade de Medicina da Unb  
Telefone: (61) 3107-1918

**APÊNDICE B - Tabela 01** - Descrição da estratégia de busca de revisões sistemáticas

<b>Bases</b>	<b>Termos</b>	<b>Resultados</b>	<b>Estudos selecionados</b>
<i>Medline (via Pubmed)</i>	"casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate nanocomplex"[Substance] OR "CPP ACP"[All Fields] <b>AND</b> ((meta analysis[ptyp] OR meta-analysis[tiab] OR meta-analysis[mh] OR (systematic[tiab] AND review[tiab]) NOT ((case[ti] AND report[ti]) OR editorial[ptyp] OR comment[ptyp] OR letter[ptyp] OR newspaper article [ptyp])))	5	2
<i>The Cochrane Library (via Bireme)</i>	<i>CPP ACP</i>	1 protocolo de RS	-
Centre for Reviews and Dissemination	<i>CPP ACP</i>	0	0

**APÊNDICE B - Tabela 02** - Descrição da estratégia de busca de ECR

Bases	Termos	Resultados	Estudos selecionados
<i>Medline (via Pubmed)</i>	"casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate nanocomplex"[Substance] OR "CPP ACP"[All Fields] <b>AND</b> (randomized controlled trial[Publication Type] OR (randomized[Title/Abstract] AND controlled[Title/Abstract] AND trial[Title/Abstract]))	39	13

APÊNDICE C - Tabela 03 - Estudos *in vivo* e *in situ* encontrados na revisão de Azarpazhooh *et al* 2008

Autor/Ano	População	Intervenção	Período de cada intervenção	Desfecho	Tipo de estudo
<b>Andersson <i>et al</i>, 2007<sup>9</sup></b>	26 adolescentes (60 dentes, 152 lesões de mancha branca visíveis)	Grupo teste: Escovação duas vezes ao dia com creme à base de CPP-ACP por 3 meses, seguido do uso de dentífrico fluoretado por mais 3 meses. Grupo Controle: Enxaguatório bucal fluoretado uma vez ao dia adicionado ao uso diário de dentífrico fluoretado, por seis meses.	12 meses	A inspeção visual e a avaliação por meio de laser fluorescente nas lesões de mancha branca em 1, 3, 6 e 12 meses após o início da intervenção	ECR <i>in vivo</i> mono-cego
<b>Hay and Thomson, 2002<sup>10</sup></b>	124 pacientes com disfunção da glândula salivar	Grupo teste: bochecho à base de CD-CP (derivado de caseína associado ao fosfato de cálcio) 3 vezes ao dia Grupo controle: bochecho fluoretado 3 vezes ao dia	12 meses	Redução da lesão de cárie radicular (radiografia <i>bite-wing</i> ) após 12 meses	ECR <i>in vivo</i> duplo-cego (cegamento não claro)
<b>Cai <i>et al</i>, 2007<sup>11</sup></b>	10 adultos	Goma de marcar sem açúcar + 20 mg de ácido cítrico + 18,8 mg de CPP-ACP Goma de marcar + 20 mg de ácido cítrico Goma de marcar sem adição de ácido cítrico e de CPP-ACP	14 dias	Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>In situ</i> duplo-cego
<b>Schirrmeister <i>et al</i>, 2007<sup>12</sup></b>	15 adultos	Goma de marcar à base de: CPP-ACP; gluconato de Ca; lactato de Ca; fosfato de Ca; sem adição de Ca	21 dias	Redução da profundidade da lesão	ECR <i>in situ</i> mono-cego
<b>Walker <i>et al</i>, 2006<sup>13</sup></b>	10 adultos	Leite: Com adição de 2 g de CPP/ACP/ Com adição de 5 g de CPP/ACP/ Sem adição de CPP/ACP	15 dias	Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>in situ</i> duplo-cego

(Continua)



(Conclusão)

Autor/Ano	População	Intervenção	Período de cada intervenção	Desfecho	Tipo de estudo
<b>Itthagarun et al, 2005</b> <sup>14</sup>	12 adultos	Goma de marcar livre de açúcar, com: 30 mg de uréia 30 mg de uréia + 25 mg de fosfato de cálcio 30 mg de uréia + 47 mg de CPP-ACP	21 dias	Redução da profundidade da lesão (remineralização das lesões <i>in situ</i> )	ECR <i>in situ</i> duplo-cego
<b>Iijima et al, 2004</b> <sup>15</sup>	10 adultos	Goma de marcar: Com adição de CPP-ACP (18,8 mg) Sem adição de CPP-ACP	14 dias	Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>in situ</i> duplo-cego
<b>Cai et al, 2003</b> <sup>16</sup>	30 adultos	Estudo 1: Enxaguatório bucal: 2% de CPP-ACP 6% de CPP-ACP Cálcio + fosfato Placebo Estudo 2: Goma de mascar à base de CPP-ACP ou de outro composto à base de cálcio	Estudo 1: 5 dias  Estudo 2: 14 dias	Enxaguatório: Nível de fosfato e cálcio presentes na placa dentária  Goma de mascar: Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>in situ</i> duplo-cego
<b>Cai et al, 2003</b> <sup>17</sup>	10 adultos	Goma de marcar: Com adição de 18,8 mg de CPP-ACP Sem adição de 56,4 mg de CPP-ACP Sem adição de CPP-ACP	14 dias	Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>in situ</i> duplo-cego
<b>Shen et al, 2001</b> <sup>18</sup>	30 adultos	Goma de marcar: Sorbitol ( <i>'pellet gum'</i> ) + 4 diferentes doses de CPP-ACP Sorbitol ( <i>'slab gum'</i> ) + 4 diferentes doses de CPP-ACP Xilitol + 4 diferentes doses de CPP-ACP <u>4 diferentes doses:</u> 0; 0,19; 18,8 e 56,4 mg de CPP-ACP	14 dias	Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>in situ</i> duplo-cego

**APÊNDICE C - Tabela 04** - Estudos *in vivo* e *in situ* encontrados na revisão de Yengopal e Mickenautsch, 2009

<b>Autor/Ano</b>	<b>População</b>	<b>Intervenção</b>	<b>Período de cada intervenção</b>	<b>Desfecho</b>	<b>Tipo de estudo</b>
<b>Reynolds et al, 2008</b> <sup>19</sup>	14 adultos	<p><u>Estudo 1:</u>            Enxaguatório bucal à base de CPP-ACP(2%) + 450 ppm de Flúor            Enxaguatório bucal à base de flúor 450ppm            Enxaguatório bucal placebo</p> <p><u>Estudo 2:</u>            Dentifrício:            1000 ppm F, como NaF            2800 ppm F, como NaF            2%cpp-acp            2%CPP-ACP + 1100ppm F como NaF</p>	<p><u>Estudo 1:</u>            4 dias</p> <p><u>Estudo 2:</u>            14 dias</p>	<p><u>Estudo 1 :</u>            Nível de flúor presente na placa dentária</p> <p><u>Estudo 2:</u>            Grau de remineralização subsuperficial</p>	ECR <i>in situ</i> com fase <i>in vivo</i> duplo-cego
<b>Manton et al, 2008</b> <sup>20</sup>	10 adultos	<p>3 tipos de goma de mascar:            Duas gomas de marcar à base de Sorbitol/Xylitol sem adição de CPP-ACP            Goma de marcar à base de CPP-ACP</p>	14 dias	Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>in situ</i> duplo-cego
<b>Morgan et al. 2008</b> <sup>21</sup>	2720 crianças	<p>Goma de marcar à base de Sorbitol sem adição de CPP-ACP, 3 vezes ao dia (894 pacientes completaram o tratamento).</p> <p>Goma de marcar à base de CPP-ACP, 3 vezes ao dia (926 pacientes completaram o tratamento)</p>	24 meses	Progressão ou regressão de lesões de cárie, observadas por meio de radiografias interproximais	ECR <i>in vivo</i> duplo-cego

APÊNDICE C - Tabela 05 - Estudos *in vivo* e *in situ* encontrados em busca no *Pubmed*

Autor/Ano	População	Intervenção	Período de cada intervenção	Desfecho	Tipo de estudo
<b>Cochrane et al, 2012</b> <sup>22</sup>	9	Goma de mascar com adição de CPP-ACP Goma de mascar sem adição de CPP-ACP Grupo controle sem uso de goma de mascar	14 dias	Grau de remineralização	ECR <i>in situ</i> duplo-cego
<b>Shen et al, 2011</b> <sup>23</sup>	5	Creme/Mousse à base: CPP-ACP, Flúor 900 ppm associado a CPP-ACP, Flúor 1000 ppm Flúor 5000 ppm Climpro 950 ppm Placebo	10 dias	Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>in situ</i> duplo-cego
<b>Walker et al, 2010</b> <sup>24</sup>	<u>Estudo 1:</u> 10 participantes  <u>Estudo 2:</u> 14 participantes	Em ambos os estudos foram utilizados “doces” à base de CPP-ACP: <u>Estudo 1:</u> Controle (65% sacarose + 33% glicose); Açúcar + 0.5% (p/p) CPP-ACP; Açúcar + 1.0% (p/p) CPP-ACP; -ACP. Controle livre de açúcar; <u>Estudo 2:</u> Controle (65% sacarose + 33% glicose); Livre de açúcar + 0.5% (p/p) CPP Açúcar+ 1.0% (p/p) CPP-ACP; Controle livre de açúcar.	10 dias	Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>in situ</i> duplo-cego
<b>Srinivasan et al, 2010</b> <sup>25</sup>	5	Mousse à base de CPP-ACP Mousse à base de CPP-ACP e flúor a 900 ppm Mousse placebo	2 dias	Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>in situ</i> mono-cego

(Continua)

(Continuação)

Autor/Ano	População	Intervenção	Período de cada intervenção	Desfecho	Tipo de estudo
<b>Walker et al, 2009</b> <sup>26</sup>	10	100 mL de leite bovino à base de CPP-ACP (0,2%) 100 mL de leite bovino à base de CPP-ACP (0,3%) 100 mL de leite bovino sem adição de CPP-ACP	15 dias	Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>in situ</i> duplo-cego
<b>Cai et al, 2009</b> <sup>27</sup>	10	Goma de marcar com ou sem adição de CPP-ACP	14 dias	Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>in situ</i> duplo-cego
<b>Robertson et al, 2011</b> <sup>28</sup>	60	Creme à base de CPP-ACP com adição de flúor Creme placebo Em ambos os grupos o produto era aplicado 1 vez ao dia, após a escovação noturna	3 meses	Prevenção e redução de manchas brancas	ECR <i>in vivo</i> duplo-cego
<b>Altenburge et al, 2010</b> <sup>29</sup>	32	Escovação dentária com dentifrício fluoretado e uso do creme à base de CPP-ACP, por 3 minutos, 1 vez ao dia Escovação dentária com dentifrício fluoretado	3 semanas	Avaliação de lesão inicial de fissuras em molares e pré-molares antes e após o tratamento	ECR <i>in vivo</i> mono-cego
<b>Beerens et al, 2010</b> <sup>30</sup>	54	Creme à base de CPP-ACP associado ao flúor, aplicado antes de dormir Creme placebo à base de cálcio, aplicado antes de dormir	3 meses	Grau de remineralização de lesões de mancha branca e composição da placa bacteriana.	ECR <i>in vivo</i> duplo-cego
<b>Uysal et al, 2010</b> <sup>31</sup>	14	Os <i>brackets</i> foram fixados aos pré-molares com 2 tipos de cimento: <i>Aegis Ortho</i> <sup>®</sup> (composição à base de ACP) <i>Concise</i> <sup>®</sup> cimento resinoso	30 dias	Redução da desmineralização dentária ao redor dos <i>brackets</i> ortodônticos	ECR <i>in vivo</i> mono-cego
<b>Uysal et al, 2010</b> <sup>32</sup>	21 pacientes 60 dentes	Creme à base de CPP-ACP Flúor em gel Nenhum produto foi aplicado no grupo controle	60 dias ( <i>fase in vivo</i> ) 14 dias ( <i>fase in vitro</i> )	Redução da desmineralização dentária ao redor dos <i>brackets</i> ortodônticos	ECR <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> mono-cego

(Continua)

(Conclusão)

<b>Autor/Ano</b>	<b>População</b>	<b>Intervenção</b>	<b>Período de cada intervenção</b>	<b>Desfecho</b>	<b>Tipo de estudo</b>
<b>Bröchner et al, 2011<sup>33</sup></b>	60 pacientes	Escovação dentária com dentifrício fluoretado pela manhã e aplicação do creme à base de CPP-ACP à noite. Escovação dentária com dentifrício fluoretado pela manhã e à noite	4 semanas	Graus de remineralização em lesões de mancha branca	ECR <i>in vivo</i> mono-cego
<b>Bailey et al, 2009<sup>34</sup></b>	45 pacientes	Creme à base de CPP-ACP Creme placebo Em ambos a aplicação foi feita duas vezes ao dia, após a escovação dentária com dentifrício fluoretado.	12 semanas	Regressão de lesões de mancha branca	ECR <i>in vivo</i> duplo-cego

**APÊNDICE D - Tabela 06** - Descrição da estratégia de busca de estudos randomizados *in vitro*

Bases	Termos	Resultados	Estudos selecionados
<i>Medline (via Pubmed)</i>	("In Vitro"[Publication Type] OR "IN VITRO"[All Fields]) AND ("casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate nanocomplex"[Substance] OR "CPP ACP"[All Fields]) AND ((controlled[Title/Abstract] AND trial[Title/Abstract]) OR "Comparative Study"[Publication Type] OR "Evaluation Studies"[Publication Type] OR Randomized Controlled Trial [Publication Type])	12	04

**APÊNDICE E**

Área de pesquisa: Cariologia

Título: Eficácia do complexo de caseína CPP-ACP: revisão

**Autores:**

1. Renata Faria Pereira: Aluna do programa de mestrado da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

**Endereço:** Campus Darcy Ribeiro, FS, Departamento de Odontologia. Asa Norte, Brasília-DF. CEP 70910-500

**Endereço para correspondência:** QE 19 conjunto L casa 18 Guará II. Brasília, DF. CEP 71050-123

**Email:** recaxito@gmail.com

**Telefone:** 061- 9970-2963

061-3568-0846

2. Soraya Coelho Leal: Professora do Departamento de Odontologia, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília.

**Endereço:** Campus Darcy Ribeiro, FS, Departamento de Odontologia. Asa Norte, 70910-500 Brasília-DF

**Email:** sorayaodt@yahoo.com

**Telefone:** 061- 33072514

A submissão do artigo é um requisito para defesa da tese de mestrado da aluna Renata Faria Pereira, marcada para ocorrer em 06 de agosto de 2012. O título da dissertação é: "O papel do CPP-ACP no processo de remineralização dentária".

Ambas as autoras estiveram envolvidas na elaboração das estratégias de busca, seleção dos artigos e interpretação dos seus resultados. A autora Renata realizou revisão bibliográfica para elaboração da parte introdutória, sob supervisão da autora Soraya. Posteriormente, realizaram a discussão dos achados e redigiram o artigo apresentado.

**RESUMO: Eficácia do complexo de caseína CPP-ACP: revisão**

Foi conduzida revisão da literatura em busca de ensaios clínicos randomizados (ECR) *in situ* e *in vivo* que avaliassem o papel do complexo de fosfopeptídeo de caseína (CPP) - fosfato de cálcio amorfo (ACP) na prevenção de lesões de cárie. Inicialmente, buscou-se identificar na base *Pubmed* revisões sistemáticas sobre o tema. Foram identificadas duas revisões sistemáticas, que concluíram que a quantidade e qualidade dos ECR são insuficientes para recomendação do uso clínico do produto. Posteriormente, pesquisaram-se ECR *in situ* e *in vivo* que não tivessem sido incluídos nas revisões identificadas. Os estudos *in vivo* e *in situ* tiveram resultados contraditórios. Os estudos *in situ* indicaram uma maior eficácia do CPP-ACP em relação ao placebo. Já os estudos *in vivo* demonstraram diferentes conclusões: CPP-ACP apresentou desempenho ora superior, ora equivalente ao placebo; o flúor demonstrou maior eficácia que o complexo de caseína; o CPP-ACP associado ao flúor se mostrou ora melhor, ora equivalente ao placebo. Diante da evidência científica disponível, não se pode generalizar a indicação do CPP-ACP para prevenção de lesões cariosas. Palavras-chave: CPP-ACP, fluoreto de sódio, remineralização dentária, revisão acadêmica.

**ABSTRACT: Efficacy of casein derivate CPP-ACP: review**

A literature review of systematic reviews and *in situ* and *in vivo* randomized controlled trials (RCT) was conducted in order to assess the role of casein fosfopeptídeo (CPP) - amorphous calcium phosphate (ACP) in providing caries-preventive effect superior to any intervention or placebo. Initially, *Pubmed* database was searched for systematic reviews. It was identified two systematic reviews, which concluded that the quantity and quality of RCT is insufficient to recommend the clinical use of the product. Then, *Pubmed* database was searched for *in situ* and *in vivo* RCT that were not included in the reviews identified. *In vivo* and *in situ* studies have yielded mixed results. *In situ* studies indicate a greater efficacy of CPP-ACP as compared to placebo. In the other hand, *in vivo* studies demonstrated different findings: CPP-ACP had a performance equivalent or a greater efficacy than placebo; fluoride was more effective than the casein complex; CPP-ACP associated with fluoride showed better



performance or equivalence to placebo. Given the available evidence, it is not possible to generalize the statement of the CPP-ACP for preventing dental caries. Further studies on the preventive effect and longer treatment applications are recommended.

### **Cárie - Processos de remineralização e desmineralização dentária**

De acordo com a Organização Mundial de Saúde em 2003, a doença cárie constitui o maior problema de saúde pública na maioria dos países industrializados. Afeta de 60 a 90% das crianças em idade escolar e a grande maioria dos adultos.<sup>1</sup>

Sabe-se que a cárie é uma doença “multifatorial”. O desenvolvimento da lesão de cárie depende da interação entre a estrutura dentária, os microorganismos cariogênicos (principalmente o *Streptococcus mutans*,) e a presença de carboidratos fermentáveis. Dessa forma, a abordagem preventiva e terapêutica deve considerar o conjunto desses fatores.

Os microorganismos cariogênicos colonizam a superfície do dente e formam o biofilme dentário. Em condições fisiológicas, os fluidos orais (saliva e biofilme) apresentam concentração de cálcio (Ca) e fosfato inorgânico (P<sub>i</sub>) maior no meio externo ao dente (supersaturação) que na hidroxiapatita (HA), que é o integrante primário da estrutura do esmalte (forma cristalizada do fosfato de cálcio). Esses íons são continuamente depositados nas superfícies dentárias e em áreas em que ocorreram processos de desmineralização. Esse processo é conhecido como “fenômeno de defesa natural” promovido pela saliva para promover a preservação mineral do esmalte dentário.<sup>2</sup>

A perda (desmineralização) e o ganho (remineralização) de minerais na superfície de esmalte é um processo físico-químico dinâmico que ocorre quando as bactérias presentes no biofilme dentário são expostas a uma dieta composta de carboidratos fermentáveis, principalmente à sacarose. Sempre que o açúcar penetra no biofilme cariogênico, ele é convertido em ácido e o fluido do biofilme torna-se subsaturado em relação ao componente mineral do esmalte. Nessa situação, o pH possui um valor baixo crítico, em que ocorre desmineralização do esmalte. Entretanto, após certo período, o pH tem seu valor fisiológico retomado quando o consumo de açúcar é cessado, e as condições de supersaturação são restabelecidas. Nesse momento

ocorre reposição de certa quantidade mineral perdida, processo denominado remineralização dentária. Essa reposição do mineral perdido ocorre por meio dos íons de Ca e  $P_i$  presentes no fluido do biofilme e na saliva, logo após a remoção do biofilme dentário pela escovação. A quantidade de Ca e  $P_i$  reposta é menor que a perdida, de forma que ocorrem pequenas perdas minerais.<sup>2</sup>

Se os fatores responsáveis pela doença (biofilme e exposição frequente ao açúcar) não forem controlados com o passar do tempo, a perda mineral não poderá ser impedida. Dessa forma, eventos de dissolução mineral ocorrerão repetidas vezes e poderão acarretar uma desmineralização maior que a capacidade remineralizadora dos fluidos orais. Logo, um desequilíbrio nesses processos de desmineralização e remineralização pode acarretar pequenas perdas minerais, somente observadas em microscopia eletrônica ou óptica, perdas minerais observadas clinicamente (manchas brancas), até a formação de cavidades na superfície dentária, em que será necessária a realização de intervenções invasivas. Além disso, é importante ressaltar que a doença cárie progride de forma diferente entre os indivíduos, pois se trata de uma doença em que a susceptibilidade individual também é um importante fator para sua progressão.

### **Flúor**

Atualmente sabe-se que a ação do flúor (F) em interferir no processo de formação de lesões de cárie não é sistêmica, mas sim local. Para tal, o F deve estar presente no biofilme e na saliva no momento em que o biofilme é exposto ao açúcar ou após sua remoção, durante a escovação dentária.<sup>2</sup>

Nota-se que o F, mesmo em pequenas concentrações, interfere no processo de desenvolvimento da cárie. A hidroxiapatita (HA) se dissolve em pH ao redor de 5,5, enquanto a fluorapatita (FA: forma cristalizada de F, P e Ca) se dissolve em pH próximo a 4,5. Quando o pH oral fica entre 4,5 e 5,5, ocorre o processo de desmineralização da HA, em que há liberação de Ca, P e hidroxilas no ambiente bucal. Se o F está presente, esses íons reagem com ele e se forma a FA que, saturada nesse pH, deposita-se sobre a superfície dentária. Isso compensa a perda mineral ocorrida no pH entre 4,5 e 5,5.<sup>10</sup> Entretanto, essa reposição mineral ocorrida por meio da formação da FA não é considerada como uma remineralização, de fato,

mas sim como uma inibição da desmineralização, porque o componente mineral depositado é diferente do perdido. Além disso, a FA é depositada na superfície dentária, enquanto que a HA dissolve-se da região subsuperficial do dente.<sup>2</sup>

Conforme já dito, a cárie é essencialmente uma doença relacionada à desmineralização dentária. Considerável literatura estabelece o uso do F como importante agente na remineralização dentária. A interação entre os íons de Ca e de F, que formam a FA, é maior que entre os íons de Ca e OH, que forma a HA. Isso confere à FA uma maior estabilidade e uma menor solubilidade. Dessa forma, o F é o componente principal de dentifrícios e enxaguatórios bucais.<sup>3</sup>

O efeito indireto do F na redução de desmineralização dentária, quando o pH cai, é complementado pelo efeito natural do F na remineralização dentária, quando o pH se eleva, promovendo a reposição de íons de Ca e  $P_i$  presentes no fluido do biofilme. Se a superfície desmineralizada é submetida à escovação dentária, a saliva é capaz de promover a remineralização. Entretanto, se houver a presença de F esse processo é potencializado.<sup>2</sup>

Dentifrícios e soluções orais fluoretadas já demonstraram diminuir a atividade de cárie em ensaios clínicos randomizados controlados. A eficácia desses produtos se dá por sua habilidade em incorporar íons de F na placa e no esmalte dentário.<sup>4</sup> Entretanto, deve-se ressaltar o potencial toxicológico dos compostos fluoretados. Há o risco de haver uma intoxicação aguda quando há ingestão de uma grande quantidade de F, também pode haver uma intoxicação crônica quando há o consumo de uma concentração de F acima da adequada por um período maior de tempo.

### **CPP-ACP**

Diante dos desafios cariogênicos aos quais as estruturas dentárias são usualmente submetidas, nota-se que há a tentativa de se desenvolverem métodos de diagnóstico de lesões de cárie em estágios iniciais, a fim de que se evite a sua progressão e, por consequência, a necessidade de intervenção restauradora. Têm sido estudadas, também, diferentes terapias preventivas com potencial de aumentar

o grau de remineralização, reduzir o processo de desmineralização e, portanto, promover a redução da incidência de lesões ativas de cárie.<sup>5</sup>

Recentemente, muitos estudos têm centrado suas avaliações na concentração de Ca e P presente nos dentes. Esses íons são os principais componentes dentários e estão intimamente relacionados ao processo de desmineralização. Dessa forma, concentram-se muitos esforços na análise da deposição desses minerais sobre a estrutura dentária e em agentes que possam promover a disponibilização desses íons no ambiente bucal.<sup>5</sup>

Tem havido demonstrações de que o complexo de fosfopeptídeo de caseína (CPP) - fosfato de cálcio amorfo (ACP) tem uma atividade anticariogênica em experimentos laboratoriais, animais e em humanos. O potencial do CPP-ACP em inibir a desmineralização e em estimular a remineralização é baseado na habilidade do CPP estabilizar o ACP, e posterior formação do CPP- ACP. Tal complexo age como um reservatório de Ca e P que se liga à placa e à superfície dentária. Diante de um meio ácido, o CPP- ACP libera íons de Ca e P, de forma que se mantém uma supersaturação mineral no ambiente externo ao dente, e, por consequência, consegue-se reduzir o processo de desmineralização e estimular a remineralização.<sup>6,7</sup>

Além disso, o nanocomplexo de CPP-ACP tem mostrado possuir um efeito sinérgico aos compostos fluoretados. Esse efeito sinérgico deve ser atribuído à formação de nanoaglomerados de íons de Ca, F e P (CPP-ACP/F), que resulta no aumento da incorporação de íons de F na placa, juntamente com o aumento de concentração do Ca biodisponível e dos íons de P.<sup>8</sup>

A intervenção à base de CPP-ACP mais comumente utilizada em estudos *in vivo* ocorre por meio de gomas de mascar. Outros veículos de CPP-ACP incluem enxaguatórios bucais e o creme tópico, denominado *Tooth Mousse*<sup>TM</sup> (Europa e Austrália) ou *MI Paste*<sup>TM</sup> (Estados Unidos e Japão).

## **METODOLOGIA**

Revisão da literatura foi realizada com o objetivo de verificar a eficácia clínica do CPP-ACP em inibir formação de lesão de cárie.

Inicialmente foi realizada busca nas bases eletrônicas *Pubmed*, *The Cochrane Library* e *CRD* (Centre for Reviews and Dissemination) por revisões sistemáticas (RS), com ou sem meta-análises, que avaliassem a eficácia do CPP-ACP: **(TABELA I)**

Posteriormente foi realizada busca *Pubmed* por ensaios clínicos randomizados-ECR - (*in vivo* ou *in situ*) que não estivessem incluídos nas RS identificadas e que avaliassem a eficácia do CPP-ACP, em qualquer veículo de aplicação: **(TABELA II)**

Além disso, como os artigos publicados no ano 2012 ainda estavam em processo de indexação pelo *Pubmed*, foi feita busca mais sensível, por meio da utilização dos termos "casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate nanocomplex"[Substance] OR "CPP ACP"[All Fields], para o ano de 2012. Foram encontradas 9 publicações, e selecionado 1 estudo *in situ*<sup>22</sup>, de acordo com os critérios de inclusão acima mencionados.

## **RESULTADOS:**

### **Revisões sistemáticas**

Inicialmente foram identificadas 2 RS. A primeira delas, conduzida por Azarpazhooh *et al*<sup>6</sup>, reuniu estudos clínicos randomizados e quase randomizados, publicados até outubro de 2007, que testavam a eficácia de derivados de caseína (dentre eles o CPP-ACP) nas diversas formas de aplicação dental.

Nessa revisão foram selecionados 12 estudos que testaram a eficácia dos derivados de caseína na prática clínica odontológica. Esses estudos foram selecionados por meio do critério de inclusão e da mensuração da força e qualidade dos estudos de acordo o Sistema de Classificação de Evidência desenvolvido pelo *Canadian Task Force* para tratamentos preventivos. Os desfechos de interesse foram: prevenção de

cárie (10 estudos), tratamento da hipersensibilidade dentinária (1 estudo) e tratamento de xerostomia (1 estudo).

Dos dez estudos que tiveram como desfecho a prevenção de cárie, oito eram *in situ* e dois eram estudos *in vivo*. Dentre esses últimos, um<sup>9</sup> deles se relacionava à regressão de lesão de mancha branca. O outro estudo *in vivo*<sup>10</sup> avaliou a regressão ou progressão de lesões de cárie radicular com o uso de solução enxaguatória à base de derivados de caseína associados ao fosfato de cálcio (CD-CP), em comparação ao uso de solução à base de F, em indivíduos com disfunção em glândulas salivares. **(TABELA III)**

Em relação aos estudos *in situ*, os pacientes utilizaram um dispositivo de acrílico que recobria o palato, do primeiro pré-molar ao último dente do arco dentário, no qual eram encaixados fragmentos dentais humanos, que possuíam lesões desmineralizadas subsuperficiais, em 7 dos 8 estudos *in situ* identificados. Apenas no estudo de Schirrmester *et al*, 2007<sup>12</sup> foi utilizado fragmento dental bovino em dispositivos acrílicos encaixados na mandíbula.

Em relação às conclusões desses estudos, somente o estudo de Schirrmester *et al*, 2007<sup>12</sup> não observou maior taxa de remineralização das lesões subsuperficiais avaliadas, todos os outros sete estudos *in situ* observaram aumento significativo no grau de remineralização das lesões tratadas com compostos de caseína.

Foi identificado apenas um estudo *in vivo*<sup>9</sup> que testou a eficácia de compostos de CPP-ACP no processo da lesão de cárie, em relação a compostos fluoretados. Inspeção visual e a avaliação por meio de laser fluorescente foram feitas em 1, 3, 6 e 12 meses após o início da intervenção. Só houve significância estatística que beneficiasse o CPP-ACP (63%) na redução de manchas brancas em relação aos compostos fluoretados (25%) na avaliação que utilizou a inspeção visual, feita 12 meses após o início do tratamento. Já o método que utilizou o laser fluorescente não foi capaz de identificar nenhuma diferença entre os tratamentos.<sup>9</sup>

A revisão de Azarpazhooh *et al*<sup>6</sup> conclui que a qualidade e a quantidade de artigos revisados são insuficientes para gerar evidência conclusiva sobre a efetividade em longo prazo dos compostos derivados de caseína, especialmente o CPP-ACP.

A outra revisão encontrada estava associada a uma meta-análise. Nesse estudo, Yengopal e Mickenautsch<sup>7</sup> incluíram estudos clínicos (*in situ* e *in vivo*) e RS, publicados até agosto de 2008, que avaliassem a eficácia de compostos à base de CPP-ACP. Para serem selecionados, os estudos precisavam ter disponíveis informações a respeito do tamanho amostral, perda de seguimento dos pacientes e sobre o período de seguimento do estudo. Foram selecionados 11 estudos e uma RS (Azarpazhooh *et al* 2008<sup>6</sup>). Todos os 11 estudos selecionados apresentavam, em uma escala de avaliação, score A em relação à randomização, sigilo na alocação e cegamento; apenas dois estudos apresentaram score B para o parâmetro sigilo na alocação. Dentre esses 11 estudos, 5 participaram da meta-análise, pois somente eles apresentavam características que permitissem a análise estatística de seus resultados em conjunto, ou seja, eram clinicamente e metodologicamente homogêneos e apresentaram desfechos semelhantes.

Todos os cinco<sup>11,15,17,18,20</sup> estudos incluídos na meta-análise eram *in situ*, tinham curta duração de seguimento (7 a 21 dias), e a intervenção utilizada era goma de mascar que continha CPP-ACP. O resultado dessa análise mostrou maiores taxas de remineralização dentária em favor do uso de gomas de mascar à base de CPP-ACP em relação ao uso de goma de mascar sem adição de CPP-ACP, ou em relação a nenhuma intervenção. Dentre os outros 6 estudos não incluídos na meta-análise, 4<sup>13,14,16,19</sup> eram estudos *in situ*, e todos eles mostraram uma maior taxa de remineralização com o uso do CPP-ACP. Entretanto, vale ressaltar que um desses estudos<sup>19</sup> comparou o CPP-ACP adicionado ao F em relação ao CPP-ACP isolado e ao F isolado; como resultado observou-se que o CPP-ACP associado ao F foi a intervenção que obteve melhor desempenho, enquanto que a intervenção à base somente de CPP-ACP teve desempenho semelhante ao F isolado.

Os outros 2 estudos não incluídos na meta-análise eram *in vivo*. Um deles é o estudo que fora incluído da RS de Azarpazhooh *et al*<sup>6</sup>, qual seja, Anderson *et al*<sup>8</sup>. O outro estudo refere-se ao estudo de Morgan *et al*<sup>21</sup>, em que 2.720 crianças usaram

goma de mascar com ou sem adição de CPP-ACP. O seguimento do estudo foi de 24 meses e foi observada regressão de lesões de cárie por meio da análise de radiografias *bitewings*, que permitem a visualização das regiões dentárias interproximais.

Observou-se que dos nove estudos *in situ* encontrados na revisão de Yengopal e Mickenautsch<sup>7</sup>, sete estudos<sup>11,13-18</sup> coincidiram com os já selecionados pela revisão de Azarpazhooh *et al*<sup>6</sup>; os outros dois estudos encontrados somente na revisão mais recente foram publicados após o período de busca realizado por Azarpazhooh *et al*<sup>6</sup>.

Seguem, abaixo, informações sobre esses dois novos estudos *in situ* e o novo estudo *in vivo*, encontrados por Yengopal e Mickenautsch<sup>7</sup> : **(TABELA IV)**

Yengopal e Mickenautsch<sup>7</sup> observaram que apesar de a meta-análise ter sido executada apenas para estudos *in situ*, que apresentavam curto período de exposição a esse complexo, os resultados promissores dos estudos *in vivo*, um deles com grande tamanho amostral<sup>21</sup> e ambos<sup>9,21</sup> com exposição mais longa ao complexo CPP-ACP (12 a 24 meses), sugerem o efeito remineralizador do complexo CPP-ACP, em estudos de longo seguimento. Sugere-se que mais estudos randomizados *in vivo*, com metodologia adequada e com seguimentos maiores, devam ser realizados.

#### **Estudos *in vivo* e *in situ*:**

Além das duas RS citadas, conforme mencionado no item Metodologia, foi realizada nova busca na base *Pubmed* em maio de 2012, a fim de que fossem identificados ensaios clínicos randomizados *in situ* e *in vivo* que avaliassem o potencial remineralizados do CPP-ACP, publicados após a busca realizada pela ultima RS publicada sobre o tema (após o mês de agosto de 2008). Foram identificados 6 estudos *in situ* e 7 estudos *in vivo*: **(TABELA V)**

Em relação à conclusão dos 6 estudos *in situ*, todos eles mostraram uma maior taxa de remineralização com o uso do CPP-ACP isolado ou associado ao F. Entretanto, é importante ressaltar que quatro desses estudos comparam o CPP-ACP ao placebo, enquanto dois estudos<sup>23,25</sup> comparam intervenções de CPP-ACP associado ao F, em



comparação ao CPP-ACP isolado. Somente em um deles<sup>23</sup> houve a comparação com o F isolado, cujos resultados demonstraram que intervenção à base de CPP-ACP associada ao F foi a que obteve melhores resultados, seguida do CPP-ACP isolado o qual teve, por sua vez, melhor desempenho que o F isolado.

Dentre os 7 estudos *in vivo*, 2 deles<sup>28,30</sup> avaliaram o uso do CPP-ACP associado ao F, o qual se mostrou mais eficaz que o placebo apenas em um dos estudos<sup>28</sup>. No estudo de Beerens *et al*<sup>30</sup> não houve diferença significativa entre as intervenções.

Dos outros 5 artigos *in vivo*<sup>29,31-34</sup>, apenas em um deles<sup>32</sup> foi utilizada uma intervenção comparadora à base de F, a qual se mostrou tão eficaz quanto o CPP-ACP. Dentre os quatro estudos restantes, nos quais se utilizou o placebo como comparador, em três deles<sup>29,31,34</sup> o CPP-ACP demonstrou um maior potencial de remineralização. Entretanto, em um desses estudos<sup>29</sup> a maior eficácia do CPP-ACP foi observada somente quando realizadas algumas avaliações por meio de laser fluorescente, no entanto não houve diferença significativa entre os tratamentos quando realizada a avaliação visual. No estudo restante<sup>33</sup>, o CPP-ACP teve mesmo desempenho que o placebo.

### **DISCUSSÃO:**

O processo de remineralização do esmalte tem sido estudado há mais de 100 anos. Sugere-se que o tratamento não invasivo de lesões iniciais de cárie, ocorrida por meio de processos que estimulam a remineralização, constitui um dos maiores avanços no controle da doença.

Dessa forma, o aparecimento de produtos que tenham o potencial de promover a remineralização dentária é bem vindo, mas deve ser avaliado com cautela, por meio da análise da melhor evidência científica disponível.

O CPP-ACP tem sido muito estudado recentemente. Para poder avaliar melhor o seu potencial remineralizador, essa revisão da literatura foi conduzida com o objetivo de buscar resultados clínicos da eficácia desse complexo na prevenção da formação de lesões de cárie.

Ambas as meta-análises identificadas sugerem que mais estudos *in vivo*, de longo seguimento, sejam realizados a fim de ser reduzida a incerteza sobre a eficácia clínica do CPP-ACP, principalmente em comparação aos compostos fluoretados.

Em relação aos estudos *in situ* encontrados, o CPP-ACP demonstrou maior eficácia que o placebo na maioria das publicações. Também foi demonstrada maior eficácia do CPP-ACP associado ao F em relação ao CPP-ACP. Somente em um estudo verificou-se superioridade do complexo de caseína em relação ao F, considerado terapia padrão no processo de remineralização dentária.

Já em relação aos estudos *in vivo*, achados com maior nível de evidência científica, os resultados foram contraditórios: o CPP-ACP associado ao F ora se mostrou mais eficaz, ora se mostrou semelhante ao placebo; o CPP-ACP isolado ora demonstrou maior eficácia, ora demonstrou semelhança ao placebo, e quando foi comparado ao F, obteve desempenho equivalente.

Diante dos dados expostos, até o momento não foi demonstrado, de forma conclusiva, que o CPP-ACP (isolado ou em associação ao F) possui vantagens em comparação ao F na promoção da remineralização dentária. Inclusive, há dados que demonstram semelhança clínica do complexo de caseína em relação ao placebo.

Além disso, nota-se que a posologia do CPP-ACP é variável. Não foi estabelecida a melhor forma e frequência de aplicação. Esse fato influencia de sobremaneira a comparação dos resultados encontrados nos estudos, que utilizaram diferentes posologias do produto.

Apesar da maioria dos estudos comparar o CPP-ACP ao placebo, é muito importante que o comparador utilizado seja a terapia padrão, nesse caso, os compostos fluoretados. Pois, apesar de se notar o aparecimento de novos produtos com potencial remineralizador, nem sempre as novas terapias conseguem comprovar vantagens clínicas em relação as já existentes.

### **CONCLUSÃO:**

Deve haver cautela ao se fazer uma recomendação geral sobre o uso do CPP-ACP

na prevenção da cárie, uma vez que não há uma uniformidade nos resultados dos estudos de maior nível de evidência, no que diz respeito ao papel remineralizador do complexo de caseína, na prática clínica.

Sugere-se que se aguardem resultados de mais estudos in vivo, de longo seguimento, para que possa generalizar o benefício demonstrado pelo CPP-ACP em alguns pacientes.

#### I. Descrição da estratégia de busca de revisões sistemáticas

Bases	Termos	Resultados	Estudos selecionados
<i>Medline (via Pubmed)</i>	"casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate nanocomplex"[Substance] OR "CPP ACP"[All Fields] <b>AND</b> ((meta analysis[ptyp] OR meta-analysis[tiab] OR meta-analysis[mh] OR (systematic[tiab] AND review[tiab]) NOT ((case[ti] AND report[ti]) OR editorial[ptyp] OR comment[ptyp] OR letter[ptyp] OR newspaper article [ptyp])))	5	2
<i>The Cochrane Library (via Bireme)</i>	CPP ACP	1 protocolo de RS	-
Centre for Reviews and Dissemination	CPP ACP	0	0

#### II. Descrição da estratégia de busca de ECR

Bases	Termos	Resultados	Estudos selecionados
<i>Medline (via Pubmed)</i>	"casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate nanocomplex"[Substance] OR "CPP ACP"[All Fields] <b>AND</b> (randomized controlled trial[Publication	39	13

Type] OR  
(randomized[Title/Abstract]  
AND  
controlled[Title/Abstract]  
AND trial[Title/Abstract]))

### III. Estudos *in vivo* e *in situ* encontrados na revisão de Azarpazhooh *et al* 2008

Autor/Ano	População	Intervenção	Período de estudo <sup>1</sup>	Desfecho	Tipo de estudo
<b>Andersson <i>et al</i>, 2007<sup>9</sup></b>	26 adolescentes (60 dentes, 152 lesões de mancha branca visíveis)	Grupo teste: Escovação duas vezes ao dia com creme à base de CPP-ACP por 3 meses, seguido do uso de dentifício fluoretado por mais 3 meses.  Grupo Controle: Enxaguatório bucal fluoretado uma vez ao dia adicionado ao uso diário de dentifício fluoretado, por seis meses.	12 meses	A inspeção visual e a avaliação por meio de laser fluorescente nas lesões de mancha branca em 1, 3, 6 e 12 meses após o início da intervenção	ECR <i>in vivo</i> mono-cego
<b>Hay and Thomson, 2002<sup>10</sup></b>	124 pacientes com disfunção da glândula salivar	Grupo teste: bochecho à base de CD-CP (derivado de caseína associado ao fosfato de cálcio) 3 vezes ao dia  Grupo controle: bochecho fluoretado 3 vezes ao dia	12 meses	Redução da lesão de cárie radicular (radiografia bite-wing) após 12 meses	ECR <i>in vivo</i> duplo-cego (cega mento não claro)
<b>Cai <i>et al</i>,</b>	10 adultos	Goma de marcar	14 dias	Grau de	ECR <i>In</i>

<sup>1</sup> Período de cada uma das intervenções testadas

<b>2007<sup>11</sup></b>		sem açúcar + 20 mg de ácido cítrico + 18,8 mg de CPP-ACP		remineralização subsuperficial	<i>situ</i> duplo-cego
		Goma de marcar + 20 mg de ácido cítrico			
		Goma de marcar sem adição de ácido cítrico e de CPP-ACP			
<b>Schirrmeyer et al, 2007<sup>12</sup></b>	15 adultos	Goma de marcar à base de CPP-ACP	21 dias	Redução da profundidade da lesão	ECR <i>In situ</i> mono-cego
<b>Walker et al 2006<sup>13</sup></b>	10 adultos	Leite:	15 dias	Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>In situ</i> duplo-cego
		Com adição de 2g de CPP/ACP/l			
		Com adição de 5g de CPP/ACP/l			
		Sem adição de CPP/ACP			
<b>Itthagarun et al, 2005<sup>14</sup></b>	12 adultos	Goma de marcar livre de açúcar, com:	21 dias	Redução da profundidade da lesão (remineralização das lesões <i>in situ</i> )	ECR <i>In situ</i> duplo-cego
		30 mg de uréia			
		30 mg de uréia + 25mg de fosfato de cálcio dihidratado			
		30 mg de uréia + 47 mg de CPP-ACP			
<b>Iijima et al 2004<sup>15</sup></b>	10 adultos	Goma de marcar:	14 dias	Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>In situ</i> duplo-cego
		Com adição de CPP-ACP (18,8MG)			
		Sem adição de CPP-ACP			
<b>Cai et al</b>	30 adultos	Estudo 1:	<u>Estudo</u>	Enxaguatório:	ECR <i>In</i>

<b>2003<sup>16</sup></b>		Enxaguatório bucal: 2% de CPP-ACP 6% de CPP-ACP Cálcio + fosfato Placebo	<u>1:</u> 5 dias  <u>Estudo 2:</u> <u>2:</u> 14 dias	Nível de fosfato e cálcio presentes na placa dentária  Goma de mascar: Grau de remineralização subsuperficial	<i>situ</i> duplo-cego
<b>Cai et al, 2003<sup>17</sup></b>	10 adultos	Goma de marcar:  Com adição de 18,8mg de CPP-ACP  Sem adição de 56,4mg de CPP-ACP  Sem adição de CPP-ACP	14 dias	Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>In situ</i> duplo-cego
<b>Shen et al, 2001<sup>18</sup></b>	30 adultos	Goma de marcar:  Sorbitol ('pellet gum') + 4 diferentes doses de CPP-ACP  Sorbitol ('slab gum') + 4 diferentes doses de CPP-ACP  Xilitol + 4 diferentes doses de CPP-ACP  <u>4 diferentes doses:</u> 0; 0,19; 18,8 e 56,4 mg de CPP-	14 dias	Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>In situ</i> duplo-cego

## ACP

IV. Estudos *in vivo* e *in situ* encontrados na revisão de Yengopal e Mickenautsch, 2009.

Autor/Ano	População	Intervenção	Período de estudo <sup>2</sup>	Desfecho	Tipo de Estudo
<b>Reynolds et al, 2008</b> <sup>19</sup>	14	<p><u>Estudo 1:</u> Enxaguatório bucal à base de CPP-ACP(2%) + 450 ppm de Flúor</p> <p>Enxaguatório bucal à base de flúor 450ppm</p> <p>Enxaguatório bucal placebo</p> <p><u>Estudo 2:</u> Dentifrício: 1000 ppm F, como NaF 2800 ppm F, como NaF 2%cpp-acp 2%CPP-ACP + 1100ppm F como NaF</p>	<p><u>Estudo 1:</u> 4 dias</p> <p><u>Estudo 2:</u> 14 dias</p>	<p><u>Estudo 1:</u> Nível de flúor presente na placa dentária</p> <p><u>Estudo 2:</u> Grau de remineralização subsuperficial</p>	ECR <i>in situ</i> com fase <i>in vivo</i> duplo-cego
<b>Manton et al, 2008</b> <sup>20</sup>	10	<p>3 tipos de goma de mascar:</p> <p>Duas gomas de mascar à</p>	14 dias	Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>in situ</i> duplo-cego

<sup>2</sup> Período de cada uma das intervenções testadas

		base de Sorbitol/Xylitol sem adição de CPP-ACP			
		Goma de marcar à base de CPP-ACP			
<b>Morgan et al. 2008<sup>21</sup></b>	2720	Goma de marcar à base de sorbitol sem adição de CPP-ACP, 3 vezes ao dia (894 pacientes completaram o tratamento).	24 meses	Progressão ou regressão de lesões de cárie, observadas por meio de radiografias interproximais	ECR <i>in vivo</i> duplo-cego
		Goma de marcar à base de CPP-ACP, 3 vezes ao dia (926 pacientes completaram o tratamento)			

#### V. Estudos *in vivo* e *in situ* encontrados em busca no Pubmed

Autor/Ano	População	Intervenção	Período de estudo <sup>3</sup>	Desfecho	Tipo de Estudo
<b>Cochrane et al, 2012<sup>22</sup></b>	9	Goma de marcar com adição de CPP-ACP	14 dias	Grau de remineralização	ECR <i>in situ</i> duplo-cego
		Goma de mascar sem adição de CPP-ACP			

<sup>3</sup> Período de cada uma das intervenções testadas



		Grupo controle sem uso de goma de mascar			
<b>Shen et al, 2011<sup>23</sup></b>	5	<p>Creme/Mousse à base:</p> <p>CPP-ACP</p> <p>Flúor 900 ppm associado a CPP-ACP</p> <p>Flúor 1000 ppm</p> <p>Flúor 5000 ppm</p> <p>Climpro 950 ppm</p> <p>Placebo</p>	10 dias	Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>in situ</i> duplo-cego
<b>Walker et al, 2010<sup>24</sup></b>	<p><u>Estudo 1:</u> 10 participantes</p> <p><u>Estudo 2:</u> 14 participantes</p>	<p>Em ambos os estudos foram utilizados “doces” à base de CPP-ACP:</p> <p><u>Estudo 1:</u> Controle (65% sucrose + 33% glucose);</p> <p>Acúcar + 0.5% (w/w) CPP-ACP;</p> <p>Açúcar + 1.0% (w/w) CPP-ACP; -ACP.</p> <p>Controle livre de açúcar;</p> <p><u>Estudo 2:</u> Controle (65%</p>	10 dias	Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>in situ</i> duplo-cego

		sucrose + 33% glucose syrup);			
		Livre de açúcar + 0.5% (w/w) CPP			
		Açúcar+ 1.0% (w/w) CPP- ACP;			
		Controle livre de açúcar;			
<b>Srinivasan et al, 2010<sup>25</sup></b>	5	Creme/Mousse à base de CPP-ACP	2 dias	Grau de remineralização subsuperficial em dentes que sofreram erosão	ECR <i>in situ</i> mono- cego
		Creme/Mousse à base de CPP-ACP e flúor a 900 ppm			
		Creme/Mousse placebo			
		*O tratamento ocorreu 1 vez ao dia, por 3 minutos.			
<b>Walker et al, 2009<sup>26</sup></b>	10	100 mL de leite bovino à base de CPP- ACP (0,2%)	15 dias	Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>in situ</i> duplo- cego
		100 mL de leite bovino à base de CPP- ACP (0,3%)			
		100 mL de leite bovino sem adição de CPP-ACP			
<b>Cai et al, 2009<sup>27</sup></b>	10	Goma de marcar com ou sem adição de CPP-ACP	14 dias	Grau de remineralização subsuperficial	ECR <i>in situ</i> duplo- cego
<b>Robertson et al,</b>	60	). Creme à base de CPP-ACP	3 meses	Prevenção e redução de	ECR <i>in vivo</i>

2011 <sup>28</sup>		com adição de flúor		manchas brancas	duplo-cego
		Creme placebo			
		Em ambos os grupos o produto era aplicado 1 vez ao dia, após a escovação noturna			
<b>Altenburge et al, 2010<sup>29</sup></b>	32	Escovação dentária com dentifrício fluoretado e uso do creme à base de CPP-ACP, por 3 minutos, 1 vez ao dia	3 semanas	Avaliação de lesão inicial de fissuras em molares e pré-molares antes e após o tratamento	ECR <i>in vivo</i> mono-cego
		Escovação dentária com dentifrício fluoretado			
<b>Beerens et al, 2010<sup>30</sup></b>	54	Creme à base de CPP-ACP associado ao flúor, aplicado antes de dormir	3 meses	Grau de remineralização de lesões de mancha branca e composição da placa bacteriana.	ECR <i>in vivo</i> duplo-cego
		Creme placebo à base de cálcio, aplicado antes de dormir			
<b>Uysal T et al, 2010<sup>31</sup></b>	14	Os <i>brackets</i> foram fixados aos pré-molares com 2 tipos de cimento:	30 dias	Redução da desmineralização dentária ao redor dos <i>brackets</i> ortodônticos	ECR <i>in vivo</i> mono-cego
		Aegis Ortho® (composição à base de ACP)			
		Concise®			

		cimento resinoso			
<b>Uysal T et al, 2010</b> <sup>32</sup>	21 pacientes	Creme à base de CPP-ACP	60 dias (fase <i>in vivo</i> )	Redução da desmineralização dentária ao redor dos brackets ortodônticos	ECR <i>in vivo e in vitro</i> mono-cego
	60 dentes	Flúor em gel	14 dias (fase <i>in vitro</i> )		
		Nenhum produto foi aplicado no grupo controle			
<b>Bröchner A et al, 2011</b> <sup>33</sup>	60 pacientes	Escovação dentária com dentifrício fluoretado pela manhã e aplicação do creme à base de CPP-ACP à noite.	4 semanas	Graus de remineralização em lesões de mancha branca	ECR <i>in vivo</i> mono-cego
		Escovação dentária com dentifrício fluoretado pela manhã e à noite			
<b>Bailey DL et al, 2009</b> <sup>34</sup>	45 pacientes	Creme à base de CPP-ACP	12 semanas	Regressão de lesões de mancha branca	ECR <i>in vivo</i> duplo-cego
		Creme placebo			
		*Aplicação foi feita duas vezes ao dia, após a escovação dentária com dentifrício fluoretado			

#### **BIBLIOGRAFIA:**

- 1- Effective use of fluorides for the prevention of dental caries in the 21st century: the WHO approach *Community Dent Oral Epidemiol* 2004; 32: 319–21
- 2- Cury JA, Tenuta LM. Enamel remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions? *Braz Oral Res.* 2009;23 Suppl 1:23-30
- 3- Burt BA. The changing patterns of systemic fluoride intake. *J Dent Res.*1992 71:1228-1237.

- 4- E.C. Reynolds, F. Cai, N.J. Cochrane, P. Shen, G.D. Walker, M.V. Morgan, and C. Reynolds. Fluoride and Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate. *J Dent Res* 87(4):344-348, 2008.
- 5- MT Pulido, JS Wefel, MM Hernandez, GE Denehy, S Guzman-Armstrong, JM Chalmers et al. The Inhibitory Effect of MI Paste, Fluoride and a Combination of Both on the Progression of Artificial Caries-like Lesions in Enamel. *Operative Dentistry*, 2008, 33-5, 550-555
- 6- Azarpazhooh A, Limeback H et al. J Am Dent Assoc Clinical Efficacy of Casein Derivatives: A Systematic Review of the Literature. *J Am Dent Assoc* 2008;139:915-924
- 7- Yengopal V, Mickenautsch S. Caries preventive effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP): a meta-analysis. *Acta Odontol Scand*. 2009; Aug 21:1-12
- 8- E.C. Reynolds, F. Cai, N.J. Cochrane, P. Shen, G.D. Walker, M.V. Morgan, and C. Reynolds. *J Dent Res* 87(4):344-348, 2008
- 9- Andersson A, Sköld-Larsson K, Hallgren A, Petersson LG, Twetman S. Effect of a dental cream containing amorphous creamphosphate complexes on white spot lesion regression assessed by laser fluorescence. *Oral Health Prev Dent* 2007;5(3):229-233.
- 10- Hay KD, Thomson WM. A clinical trial of the anticaries efficacy of casein derivatives complexed with calcium phosphate in patients with salivary gland dysfunction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002;93(3):271-275.
- 11- Cai F, Manton DJ, Shen P, Walker GD, Cross KJ, Yuan Y, Reynolds C, Reynolds EC. Effect of addition of citric acid and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate to a sugar-free chewing gum on enamel remineralization in situ. *Caries Res*. 2007;41(5):377-83.
- 12- Schirrmeyer JF, Seger RK, Altenburger MJ, Lussi A, Hellwig E. Effects of various forms of calcium added to chewing gum on initial enamel carious lesions in situ (published correction in *Caries Res* 2007;41[3]:243). *Caries Res* 2007;41(2):108-114.
- 13- Walker G, Cai F, Shen P, Reynolds C, Ward B, Fone C, Honda S, Koganei M, Oda M, Reynolds E. Increased remineralization of tooth enamel by milk containing added casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dairy Res*. 2006 Feb;73(1):74-8.
- 14- Itthagarun A, King NM, Yiu C, Dawes C. The effect of chewing gums containing calcium phosphates on the remineralization of artificial caries-like lesions in situ. *Caries Res*. 2005 May-Jun;39(3):251-4.
- 15- Iijima Y, Cai F, Shen P, Walker G, Reynolds C, Reynolds EC. Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a sugar-free chewing gum containing

casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Caries Res.* 2004 Nov-Dec;38(6):551-6.

16- Cai F, Shen P, Morgan MV, Reynolds EC. Retention in plaque and remineralization of enamel lesions by various forms of calcium in a mouthrinse or sugar-free chewing gum. *J Dent Res.* 2003 Mar;82(3):206-11.

17- Cai F, Shen P, Morgan MV, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions in situ by sugar-free lozenges containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Aust Dent J.* 2003 Dec;48(4):240-3.

18- Shen P, Cai F, Nowicki A, Vincent J, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res.* 2001 Dec;80(12):2066-70.

19- Reynolds EC, Cai F, Cochrane NJ, Shen P, Walker GD, Morgan MV, Reynolds C. Fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res.* 2008 Apr;87(4):344-8.

20- Manton DJ, Walker GD, Cai F, Cochrane NJ, Shen P, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions in situ by the use of three commercially available sugar-free gums. *Int J Paediatr Dent.* 2008 Jul;18(4):284-90. Epub 2008 Apr 23.

21- Morgan MV, Adams GG, Bailey DL, Tsao CE, Fischman SL, Reynolds EC. The anticariogenic effect of sugar-free gum containing CPP-ACP nanocomplexes on approximal caries determined using digital bitewing radiography. *Caries Res* 2008;42:171-84.

22- Cochrane NJ, Shen P, Byrne SJ, Walker GD, Adams GG, Yuan Y, Reynolds C, Hoffmann B, Dashper SG, Reynolds EC. Remineralisation by Chewing Sugar-Free Gums in a Randomised, Controlled in situ Trial Including Dietary Intake and Gauze to Promote Plaque Formation. *Caries Res.* 2012;46(2):147-55. Epub 2012 Apr 5.

23- Shen P, Manton DJ, Cochrane NJ, Walker GD, Yuan Y, Reynolds C, Reynolds EC. Effect of added calcium phosphate on enamel remineralization by fluoride in a randomized controlled in situ trial. *J dent.* 2011 jul;39(7):518-25. Epub 2011 may 19.

24- Walker GD, Cai F, Shen P, Adams GG, Reynolds C, Reynolds EC. Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate incorporated into sugar confections inhibits the progression of enamel subsurface lesions in situ. *Caries Res.* 2010;44(1):33-40. Epub 2010 Jan 15.

25- Srinivasan N, Kavitha M, Loganathan SC. Comparison of the remineralization potential of CPP-ACP and CPP-ACP with 900 ppm fluoride on eroded human enamel: An in situ study. *Arch Oral Biol.* 2010 Jul;55(7):541-4.

26- Walker GD, Cai F, Shen P, Bailey DL, Yuan Y, Cochrane NJ, Reynolds C, Reynolds EC. Consumption of milk with added casein phosphopeptide-amorphous

calcium phosphate remineralizes enamel subsurface lesions in situ. *Aust Dent J.* 2009 Sep;54(3):245-9.

27- Cai F, Shen P, Walker GD, Reynolds C, Yuan Y, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by chewing gum with added calcium. *J Dent.* 2009 Oct;37(10):763-8. Epub 2009 Jun 12.

28- Robertson MA, Kau CH, English JD, Lee RP, Powers J, Nguyen JT. MI Paste Plus to prevent demineralization in orthodontic patients: a prospective randomized controlled trial. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011 Nov;140(5):660-8

29- Altenburger MJ, Gmeiner B, Hellwig E, Wrbas KT, Schirmer JF. The evaluation of fluorescence changes after application of casein phosphopeptides (CPP) and amorphous calcium phosphate (ACP) on early carious lesions. *Am J Dent.* 2010 Aug;23(4):188-92.

30- Beerens MW, van der Veen MH, van Beek H, ten Cate JM. Effects of casein phosphopeptide amorphous calcium fluoride phosphate paste on white spot lesions and dental plaque after orthodontic treatment: a 3-month follow-up. *Eur J Oral Sci.* 2010 Dec;118(6):610-7. doi: 10.1111/j.1600-0722.2010.00780.x.

31- Uysal T, Amasyali M, Ozcan S, Koyuturk AE, Akyol M, Sagdic D. In vivo effects of amorphous calcium phosphate-containing orthodontic composite on enamel demineralization around orthodontic brackets. *Aust Dent J.* 2010 Sep;55(3):285-91

32- Uysal T, Amasyali M, Koyuturk AE, Ozcan S. Effects of different topical agents on enamel demineralization around orthodontic brackets: an in vivo and in vitro study. *Aust Dent J.* 2010 Sep;55(3):268-74.

33- Bröchner A, Christensen C, Kristensen B, Tranæus S, Karlsson L, Sonnesen L, Twetman S. Treatment of post-orthodontic white spot lesions with casein phosphopeptide-stabilised amorphous calcium phosphate. *Clin Oral Investig.* 2011 Jun;15(3):369-73. Epub 2010 Apr 10.

34- Bailey DL, Adams GG, Tsao CE, Hyslop A, Escobar K, Manton DJ, Reynolds EC, Morgan MV. Regression of post-orthodontic lesions by a remineralizing cream. *J Dent Res.* 2009 Dec;88(12):1148-53. Epub 2009 Nov 3.

## ANEXO A – DOCUMENTO DE APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE MEDICINA  
Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos

### ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA

**Registro de Projeto:** CEP-FM 066/2011.

**Título:** "O papel do CPP-ACP no processo de remineralização dentária".

**Pesquisador Responsável:** Renata Faria Pereira.

**Documentos analisados:** Folha de rosto, carta de encaminhamento, declaração de responsabilidade, protocolo de pesquisa, termo de consentimento livre e esclarecido, cronograma, bibliografia pertinente e currículo (s) de pesquisador (es).

**Data de entrega:** 15/09/2011.

Parecer do (a) relator (a)

Aprovação

Não aprovação.

**Data da primeira análise pelo CEP-FM/UNB:** 26/10/2011.

**Data do parecer final do projeto pelo CEP-FM/UNB:** 30/11/2011.

### PARECER

Com base na Resolução CNS/MS nº 196/96 e resoluções posteriores, que regulamentam a matéria, o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília decidiu **APROVAR**, na reunião ordinária de 30/11/2011, conforme parecer do (a) relator (a) o projeto de pesquisa acima especificado, quanto aos seus aspectos éticos.

1. Modificações no protocolo devem ser submetidas ao CEP, assim como a notificação imediata de eventos adversos graves;
2. O (s) pesquisador (es) deve (m) apresentar relatórios periódicos do andamento da pesquisa ao CEP-FM, sendo o 1º previsto para 10 de junho de 2012.

Brasília, 01 de Dezembro de 2011.

  
**Prof. Elaine Maria de Oliveira Alves**  
 Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa  
 Faculdade de Medicina-UNB