

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

The image features a large, faint watermark of the coat of arms of the Universidade Federal da Paraíba. It consists of three flaming torches on top of a shield. The shield is divided into four quadrants: the top-left and bottom-right are white with a diagonal blue stripe; the top-right and bottom-left are blue with a diagonal white stripe. The center of the shield contains a white fleur-de-lis. The shield is surrounded by a border of small white dots. Below the shield is a ribbon with the Latin motto 'SAPIENTIA AEDIFICAT'.

MARIA LÚCIA OLIVEIRA VIEIRA

**ANÁLISE DA PENETRAÇÃO DA ÁGUA EM LESÕES CARIOSAS NATURAIS DE
ESMALTE EM RELAÇÃO À TRAJETÓRIA DOS PRISMAS**

SAPIENTIA AEDIFICAT

**João Pessoa
2017**

MARIA LÚCIA OLIVEIRA VIEIRA

**ANÁLISE DA PENETRAÇÃO DA ÁGUA EM LESÕES CARIOSAS NATURAIS DE
ESMALTE EM RELAÇÃO À TRAJETÓRIA DOS PRISMAS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do Curso
de Graduação em Odontologia, da
Universidade Federal da Paraíba, em
cumprimento a exigências
regulamentares.

Orientador: Prof. Dr. Frederico
Barbosa de Sousa

**João Pessoa
2017**

V658a Vieira, Maria Lúcia Oliveira.

Análise da penetração da água em lesões cariosas naturais de esmalte em relação à trajetória dos prismas / Maria Lúcia Oliveira Vieira. -- João Pessoa, 2017. 48f.: Il. -

Orientador: Frederico Barbosa de Sousa.
Monografia (Graduação) – UFPB/CCS.

1. Cárie dentária. 2. Esmalte dentário. 3. Histologia. 4. Capilaridade.
5. Permeabilidade do esmalte dentário. 6. Odontologia.

BS/CCS/UFPB

CDU: 616.314-002(043.2)

MARIA LÚCIA OLIVEIRA VIEIRA

**ANÁLISE DA PENETRAÇÃO DA ÁGUA EM LESÕES CARIOSAS NATURAIS DE
ESMALTE EM RELAÇÃO À TRAJETÓRIA DOS PRISMAS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do
Curso de Graduação em
Odontologia, da Universidade
Federal da Paraíba em cumprimento
às exigências regulamentares.

Monografia aprovada em 01/06/2012



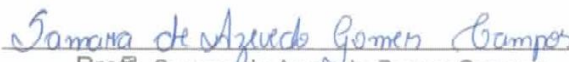
Prof. Frederico Barbosa de Sousa
(Orientador – UFPB)



Profª. Andressa Feitosa Bezerra de Oliveira
(Examinadora – UFPB)



Profª. Simone Alves de Sousa
(Examinadora – UFPB)



Profª. Samara de Azevedo Gomes Campos
(Examinadora – UFPB)

Dedico este trabalho primeiramente a **Deus**, por ser essencial em minha vida, autor de meu destino e da minha fé, meu guia, meu protetor; pois sem Ele eu nada posso fazer.

Aos **meus pais**, Daniel César De Luna Vieira e Elane Cristina Oliveira Vieira, que tornaram possível a realização de mais essa etapa da minha vida, tão sonhada por mim e por eles. Vocês tornam minha vida mais feliz e completa, além de sempre me incentivarem a ir além e conquistar os meus sonhos, vocês são preciosos para mim!

AGRADECIMENTOS

A Deus,

Por Seu amor imensurável e que não tem fim. Por permitir que eu realize os Seus sonhos para minha vida! Por ser meu conselheiro, meu refúgio e fortaleza, socorro bem presente na hora da aflição. Teu poder e a Tua graça me fazem ver que sou muito mais que vencedor. Obrigada por Tua presença constante e real em minha vida.

Aos meus pais,

Muito obrigada por me ajudarem na realização de mais um sonho, por sempre buscarem dar o melhor para mim e meus irmãos. Pela paciência e incentivo nos momentos em que precisei. E por acreditarem que posso ir sempre mais além. Vocês são a razão do meu esforço e dedicação na minha vida acadêmica e pessoal.

Aos meus irmãos,

Dani e Luquinha, vocês são meus dois amores. Desejo tanto o melhor pra vocês que muitas vezes deixo de ser só a irmã mais velha e pareço mais uma mãe chata, mas na verdade vocês sempre serão meus bebês! Obrigada pelo amor de vocês e por me verem com orgulho! Esforço-me para servir de exemplo para vocês!

À minha família,

Em especial aos meus avós, Lucinha e Careca, Expedita e Novato; que assim como toda a família torcem muito pela minha felicidade e sucesso, oram por mim e fazem com que eu me sinta muito, muito amada. Sou grata a Deus pela minha família e por Ele cuidar de todos, assim como tem cuidado de mim. Meus primos, tios, amo muito todos vocês! Obrigada por tudo!

Ao meu noivo Matheus,

Por sempre me apoiar, estar ao meu lado em todos os momentos,

sejam bons ou ruins. Por sempre usar as palavras certas e ser um instrumento nas mãos de Deus para me ajudar em tudo. Você é o melhor presente que Deus me deu! Obrigada pelo seu amor e por tudo que fez (e faz) por mim durante esses cinco anos que estamos juntos. Amo você!

Aos meus amigos,

Em especial Nay, Pri, Ju, Kainha, Bellynha e Lidi pela amizade verdadeira que construímos. Por tornarem os dias intensos e cansativos na Universidade mais leves e alegres! Pelas alegrias e tristezas que juntas vivemos. Que Deus continue abençoando nossa amizade. Da UFPB para a vida!

Ao meu orientador Prof. Dr. Frederico Barbosa de Sousa,

Pela confiança depositada em mim durante a graduação e por tantos ensinamentos. Pelo exemplo de pesquisador, de dedicação incansável à docência. Pela oportunidade de conviver com o senhor todo esse tempo, sendo sua aluna PIBIC, desenvolvendo pesquisas, aprendendo coisas novas. Como também, por me orientar em mais esse trabalho. Meu muito obrigada!

À Prof^a. Msc. Andressa Cavalcanti Pires,

Pela paciência e disponibilidade de sempre, por me ajudar da melhor forma possível; sobretudo, pela contribuição valiosa neste estudo.

Ao corpo docente do Curso de Graduação em Odontologia da UFPB,

Por todo o aprendizado durante esses anos e contribuição na formação da profissional que estou prestes a me tornar. Em especial, à Prof. Andressa Feitosa Bezerra de Oliveira e Prof. Simone Alves de Sousa, por terem aceitado compor a minha banca do TCC e terem contribuído bastante com o presente trabalho. Serei eternamente grata.

Aos funcionários,

Que, de uma forma simples, mas imprescindível, colaboraram

todos os dias na minha rotina na UFPB, tornando tudo mais fácil e agradável.

Aos companheiros(as) do Lamib,

Em especial à, hoje mestre, Samara de Azevedo Gomes Campos, por tornarem os dias de trabalho no laboratório mais alegres, pelo apoio e colaboração no desenvolvimento dos nossos estudos.


Ao CNPq,

Pelo apoio financeiro à execução desta pesquisa.


A todos os colegas da Graduação em Odontologia da UFPB, pela convivência e troca de experiências durante todo esse tempo.

A todos que contribuíram de alguma maneira e torceram para que mais essa etapa fosse concluída!

MUITO OBRIGADA!!!



“O seu Deus o ensina e o instrui acerca do que há de fazer. Até isto procede do Senhor dos Exércitos; porque é maravilhoso em conselho e grande em obra.” (Isaías 28.26,29)



RESUMO

A direção do transporte de líquidos em lesões cariosas em esmalte (LCE) influencia na distância de penetração de resinas infiltrantes e no trajeto de agentes remineralizadores. A literatura pressupõe que o transporte perpendicular aos prismas é desprezível, porém não há estudos sobre a proporção de transporte por capilaridade paralelo e perpendicular aos prismas. O objetivo desse trabalho foi testar a hipótese nula de que a proporção da área de LCE que sofre penetração de água perpendicular aos prismas é desprezível. Baseado num estudo piloto, o tamanho amostral foi de 20 LCEs (escore ICDAS 2, inativas). Foram preparados cortes histológicos por desgaste (0, 1 mm de espessura) profundidade média de LCE de $690 \text{ mm} \pm 247 \text{ mm}$), que foram desidratados (48h a 25°C e 50% de umidade relativa) e submetidos à infiltração de água destilada por 2 h a 25°C. Uma técnica de microscopia de luz polarizada independente da orientação da amostra, com resolução temporal de 5 s, foi usada para registrar a penetração da água em relação aos prismas. As áreas de infiltração paralela e perpendicular aos prismas foram medidas com software de análise de imagem. A média da proporção de penetração perpendicular aos prismas foi de 44,37% ($\pm 20,9\%$) e a hipótese nula foi rejeitada ($p = 0,00003$; teste T unicaudal; alta magnitude de efeito de 1,15, IC de 95% de 0.58 a 1.75, e poder $> 80\%$). Concluímos que durante a penetração da água por capilaridade no esmalte cariado normal seco, a proporção da área da LCE com penetração perpendicular aos prismas é consideravelmente alta.

Palavras-chave: Cárie dentária. Esmalte Dentário. Histologia. Capilaridade. Permeabilidade do Esmalte Dentário.

ABSTRACT

The direction of transport of liquids in enamel caries lesions (ECL) influences the penetration distance of resin infiltrants and the path of remineralizing agents. It is assumed in the literature that the transport perpendicular to the prisms is negligible, however there are no studies on the proportion of transport parallel and perpendicular to the enamel prisms. The aim of this work was to test the null hypothesis that the proportion of the area of ECL that undergoes water penetration perpendicular to the prisms is negligible. The sample size was of 20 inactive natural ECLs (ICDAS 2 score). Histological ground sections sections (0.1 mm thick; mean ECL depth of 690 μm \pm 247 μm) were dehydrated (48 h at 25° C and 50% of relative humidity) and submitted to the infiltration of distilled water for 2 h at 25° C. A polarized light microscopy technique independent of the orientation of the sample, with temporal resolution of 5 s, was used to map in real time the penetration of water in relation to the prism paths. Two areas of water infiltration direction, parallel-only and perpendicular directions relative to the prisms, were measured with an image analysis software. The mean proportion of penetration area with perpendicular direction was 44.37% (\pm 20.9%) and the null hypothesis was rejected ($p = 0.00003$, one-tailed T test, high effect size of 1.15, 95% CI of 0.58-1.75, and power > 80%). We conclude that during penetration of water by capillarity in dry natural ECL, the proportion of area with penetration perpendicular to the prisms is considerably high.

Keywords: Dental caries. Dental Enamel. Histology. Capillarity. Dental Enamel Permeability.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Morfologia do esmalte dentário em um corte transversal mostrando o esmalte interprismático, o prisma do esmalte e a bainha do prisma.....20
- Figura 2** – Corte por desgaste de LMB em MLP (com filtro de retardo vermelho de 540 nm) imerso em água, onde podemos observar a camada superficial (CS) e o corpo da lesão (CL), a zona escura e a zona translúcida só podem ser observadas imersas em quinolina. Barra = 200µm.....23
- Figura 3** – Dispersão da luz em esmalte natural normal (a), dispersão da luz em lesão de cárie em esmalte (b) e dispersão da luz em lesão de cárie em esmalte infiltrada por resina.....25
- Figura 4** – Amostra A20. Lesão de mancha branca inativa em face proximal, Estereomicroscopia, luz refletida. Barra de escala: 1000µm.....30
- Figura 5** – Corte do elemento dental com disco diamantado (A). Jig de lapidação (B). Verificação da espessura em microscópio óptico (C).....31
- Figura 6** – Amostra sendo submetida à infiltração de água destilada com o auxílio de uma pipeta de transferência, para avaliação durante 2 h.....32
- Figura 7** – Sistema “single polscope”, composto por gerador de funções (modelo AFG 2021 – BR, Tektronix, EUA), câmera digital (Nikon D7000, Japão) e microscópio com objetiva de 5x plana, de tubo infinito, fluorida e de luz polarizada (Carl Zeiss, Alemanha).....33
- Figura 8** – Análise das imagens de uma amostra que foi submetida à infiltração, utilizando o software de análises de imagem (Image J, NIH, EUA).....34
- Figura 9** – Montagem mostrando o acompanhamento da infiltração de água em microscopia de luz polarizada independente da orientação da amostra, com fotos de alguns momentos de uma amostra submetida à infiltração.....36

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Distribuição da área de infiltração perpendicular e paralela aos prismas para cada uma das vinte amostras.....	35
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultado das medidas calculadas no software de análise de imagem contendo a área total da LCE, a área em que houve transporte no sentido perpendicular e a área onde houve transporte apenas no sentido paralelo aos prismas do esmalte.....	37
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

nm	Nanômetro
et al.	E outros
LCE	Lesão de Cárie em Esmalte
s	Segundos
mm	Milímetro
JAD	Junção Amelo-Dentinária
µm	Micrômetro
MLP	Microscopia de Luz Polarizada
cm/s	Centímetro por segundo
CP	Coeficiente de Penetração
IR	Índice de Refração
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
LAMIB	Laboratório de Microscopia e Imagem Biológica
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
ME	Magnitude de Efeito
HULW	Hospital Universitário Lauro Wanderley
ICDAS	Sistema Internacional de Avaliação e Detecção de Cáries
h	Hora
Min	Minuto

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
~	Aproximadamente
>	Maior que
±	Mais ou menos
°C	Grau Celsius

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	19
2.1 Esmalte dentário.....	19
2.2 Porosidade e permeabilidade do esmalte dentário.....	21
2.3 Lesão Cariosa em Esmalte (LCE).....	22
2.4 Infiltrantes.....	24
3. OBJETIVOS.....	27
3.1 Geral.....	27
3.2 Específicos	27
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
4.1 Considerações éticas.....	28
4.2 Local de realização do estudo.....	28
4.3 Cálculo amostral.....	28
4.4 Seleção das amostras.....	29
4.5 Preparo dos cortes histológicos por desgaste.....	30
4.6 Infiltração e análise das imagens.....	31
4.7 Análise estatística.....	34
5. RESULTADOS.....	35
6. DISCUSSÃO.....	38
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	41
REFERÊNCIAS.....	42
APÊNDICE A.....	46
ANEXO A.....	48

1 INTRODUÇÃO

O esmalte dentário é o tecido mais duro do corpo humano, sendo composto por 92-96% de matéria inorgânica, 1-2% de matéria orgânica e 3-4% de peso em água, aproximadamente. É formado a partir de células epiteliais ectodérmicas e quando alcança sua completa formação torna-se acelular, desprovido de vasos sanguíneos, o remanescente é constituído por matéria orgânica e água (ANGMAR-MANSSON, 1971; CARLSTROM; GLAS; ANGMAR, 1963). Recobre a coroa do elemento dental e sofre os primeiros efeitos do biofilme cariogênico (DIBDIN, 1993; HE; SWAIN, 2008; SOUSA; VIANNA; SANTOS-MAGALHÃES, 2009).

Microscopicamente, é formado por cristalitos minerais finos (70 nm de largura e 30 nm de espessura) com diferentes compactações e comprimentos. Os cristalitos mais longos vão do limite com a dentina até a superfície do esmalte, têm seus eixos principais aproximadamente perpendiculares ao limite amelo-dentinário e à superfície do esmalte, e são compactados em cilindros arredondados chamados de prismas (ORAMS et al., 1974; ZAHRADNIK; MORENO, 1975).

Os prismas não são retos em toda sua extensão, seguindo um trajeto ondulado desde a junção amelo-dentinária até a uma distância variável da superfície, quando então assumem uma trajetória retilínea. Os cristalitos do esmalte são separados por dois tipos de poros interligados: pequenos poros no interior dos prismas e na região inter-prismática; e poros grandes nas bainhas dos prismas (ORAMS et al., 1974; ZAHRADNIK; MORENO, 1975).

Num corte transversal, os poros das bainhas não se interconectam lateralmente, enquanto que os poros intraprisimáticos mantêm uma conexão lateral, criando nanocanais laminares (SHELLIS; DIBDIN, 2000). O transporte de substâncias no esmalte ocorre por meio destes poros. No esmalte normal (sadio), as dimensões transversais dos poros são da ordem de poucos nanômetros (1-2 nm nos poros menores e 2-6 nm, ou até 10 nm, nos poros maiores, de acordo com evidências clássicas (ORAMS et al., 1974; ZAHRADNIK; MORENO, 1975).

O esmalte tem sua integridade comprometida quando acometido por uma lesão de cárie em esmalte (LCE), que é uma desmineralização dos tecidos dentais duros, causada por ácidos produzidos por bactérias do biofilme microbiano bucal a partir da fermentação de carboidratos (FEJERSKOV; KIDD, 2011). A primeira evidência macroscópica de cárie pode ser vista em um dente como uma pequena

área branco-opaca, que possui essa aparência devido ao aumento da porosidade dentro do corpo da lesão (PARIS; MEYER-LUECKEL, 2009; THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1995).

O processo cariioso no esmalte resulta numa complexa rede de nanocanais alargados. A porosidade da lesão, causada pela desmineralização, age como via facilitada de difusão para ácidos e minerais dissolvidos. Antes da formação de cavitação, é possível adotar tratamentos não restauradores que resultam na inativação do processo cariioso, com ou sem redução do diâmetro dos nanocanais/poros (MEYER-LUECKEL; PARIS, 2008; PARIS et al., 2007a; PARIS; MEYER-LUECKEL, 2010; PARIS; MEYER-LUECKEL; KIELBASSA, 2007).

Acredita-se que a redução do tamanho do poro de esmalte e, conseqüentemente, redução da mancha branca (MEIRA; BRITO; SOUSA, 2015), pode ser atingida pelo processo de remineralização (COCHRANE et al., 2010) ou por infiltração de resina fluida (conhecida como infiltrante de lesão cariiosa) nos poros do esmalte (MEYER-LUECKEL; PARIS, 2010a).

Na literatura, os cálculos realizados para avaliar a distância penetrada por resinas infiltrantes no esmalte dentário consideram uma distância linear da superfície do esmalte em direção à junção-amelo-dentinária (MEYER-LUECKEL; PARIS, 2008; PARIS et al., 2007a). Todavia, estudos já comprovaram que o corpo da LCE apresenta regiões com ligação lateral entre as bainhas dos prismas, indicando que o transporte de materiais pode não ser preferencialmente linear.

Devido ao alargamento dos prismas causado pelo processo cariioso, estes se interconectam e acabam gerando um transporte de líquido perpendicular aos prismas no corpo da lesão de cárie de esmalte, indicando a ocorrência de ligação lateral das bainhas dos prismas (MEIRA, BRITO; SOUSA, 2015; SHELLIS; HALLSWORTH, 1987). Dessa forma, se também ocorre transporte perpendicular aos prismas, então o tempo para completar a infiltração/remineralização é maior que o estimado nos dados atualmente disponíveis, podendo haver uma taxa maior de infiltração/remineralização a ser explorada.

A direção do transporte de líquidos em LCE influencia na distância de penetração de resinas infiltrantes e de agentes remineralizadores, e, conseqüentemente, no tempo necessário para se obter uma efetiva infiltração ou remineralização. A literatura pressupõe que o transporte por capilaridade

perpendicular aos prismas é desprezível (CAREY; VOGEL; CHOW, 1991; MEYER-LUECKEL; PARIS, 2010a), porém não há estudos sobre a proporção de transporte por capilaridade paralelo e perpendicular aos prismas.

O desenvolvimento do presente estudo é de grande relevância para a comunidade científica, uma vez que a influência do tempo de aplicação do infiltrante sobre a redução do tamanho da lesão de cárie ainda não está claramente descrita na literatura. Nesta perspectiva, justifica-se, portanto, testar a hipótese nula de que a proporção da área de LCE que sofre penetração de água perpendicular aos prismas é desprezível.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Esmalte dentário

O esmalte é o tecido mais mineralizado e mais duro do corpo humano, apresentando volume mineral de aproximadamente 92-96%, além de água estrutural (firmemente aderida ao mineral) e água adsorvida (removida com mais facilidade) e matéria orgânica. É formado a partir de células epiteliais ectodérmicas e quando alcança sua completa formação torna-se acelular e desprovido de vasos sanguíneos, (ANGMAR-MANSSON, 1971; CARLSTROM; GLAS; ANGMAR, 1963). Recobre a coroa do elemento dental e sofre os primeiros efeitos do biofilme cariogênico (DIBDIN, 1993; HE; SWAIN, 2008; SOUSA; VIANNA; SANTOS-MAGALHÃES, 2009).

Este tecido altamente mineralizado possui espessura de até 2 – 2,5 mm e tem os ameloblastos como as células responsáveis pela sua formação, que envolve os processos de secreção e maturação (PARK et al., 2007). A fase de secreção é caracterizada pela contínua sintetização e secreção de proteínas da matriz do esmalte pelos ameloblastos (amelogenina, ameloblastina, enamelina, dentre outras). Após esta etapa de deposição de matriz orgânica, ocorre a mineralização do tecido, chamada de maturação (PARK et al., 2007).

O esmalte apresenta cristais minerais alongados (que vão da junção com a dentina até a superfície do esmalte) com largura média de 70 nm e espessura média de 30 nm, compactados em colunas definidas como prismas, separadas por esmalte interprismático. O esmalte apresenta poros com diâmetros de 2-3 nm (no interior dos prismas) e 4-6 nm (nos arredores de cada prisma; bainhas) (ORAMS et al., 1974; ZAHRADNIK; MORENO, 1975).

Os cristais mais curtos são angulados cerca de 60° em relação aos cristais mais prismáticos longos, e estão localizados entre os prismas (região interprismática). Em 3/4 da circunferência de cada prisma os cristalitos longos e curtos adjacentes apresentam a maior diferença de orientação de seus eixos e é nessa região que são encontrados os maiores poros do esmalte, que se interconectam e formam a bainha do prisma. No outro 1/4 da circunferência do prisma, os cristalitos longos mudam suavemente a angulação de seus eixos até a

região dos cristalitos curtos (SHELLIS; DIBDIN, 2000; ZAHRADNIK; MORENO, 1975).

O componente mineral do esmalte é encontrado na forma de cristais alongados de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$), que percorrem toda a espessura do esmalte, desde a junção amelo-dentinária (JAD) até a superfície do esmalte. Os cristais têm largura entre 60 e 70 nm e espessura entre 25 e 30 nm, são compactados em colunas definidas como prismas, com largura de 5 μm , separadas por espaços interprismáticos de 1 μm (Figura 1) (KEREBEL; DACULSI; KEREBEL, 1979). O trajeto dos prismas é descrito como sinusoidal da JAD até aproximadamente a metade da espessura do esmalte e, em seguida, adotam uma trajetória linear até a superfície do esmalte (TAFFOREAU; ZERMENO; SMITH, 2012).

Figura 1 – Morfologia do esmalte dentário em um corte transversal mostrando o esmalte interprismático, o prisma do esmalte e a bainha do prisma.



Fonte: Elaboração da autora

Apesar de possuir uma composição majoritariamente mineral e apresentar-se como um sólido, o esmalte é poroso, e possui uma matriz de água e matéria

orgânica (em torno de 5%) envolvendo os cristais minerais de hidroxiapatita, ocupando principalmente os espaços interprismáticos. É importante considerar esta composição do esmalte e conhecer a sua disposição estrutural para compreender os mecanismos de transporte de substâncias através do tecido (YING; CHUA; HSU, 2004; ZAHRADNIK; MORENO, 1975).

2.2 Porosidade e permeabilidade do esmalte dentário

O principal processo de transporte no esmalte ocorre por difusão, pelo fato de existir uma pressão osmótica influenciada pela maior concentração de matéria orgânica nas camadas mais internas do esmalte, ocorrendo na direção da superfície às camadas mais internas (COCHRANE et al., 2010; DIBDIN, 1993; MEDEIROS et al., 2013). Isso exerce um papel na criação desse gradiente osmótico, cujo resultado é a difusão da água em direção à camada mais interna do esmalte.

Este transporte ainda depende do tamanho dos poros e da proporção de água e matéria orgânica presente nos poros, sendo a permeabilidade do esmalte diretamente proporcional a estes parâmetros (MEIRA; BRITO; SOUSA, 2015; SOUSA; SOARES; VIANNA, 2013). Sendo assim, o esmalte pode ser classificado como uma membrana semipermeável formada de poros que formam um sistema microscópico de “túbulos/cilindros” interligados em que a água é transportada para o interior do tecido sob um gradiente osmótico, podendo também haver transporte de solutos na direção oposta (SHELLIS; DIBDIN, 2000).

Esse sistema de transporte através do esmalte é importante para várias de suas propriedades físico-químicas como elasticidade, permeabilidade, reatividade, trocas iônicas e também têm papel no processo de transporte de drogas (como por exemplo, agentes clareadores), de produtos bacterianos e de materiais restauradores (SHELLIS; DIBDIN, 2000). In vivo, esse transporte ocorre da mesma forma, através da difusão (MEIRA; BRITO; SOUSA, 2015).

A permeabilidade do esmalte parece ter relação com a idade do indivíduo (ZAHRADNIK; MORENO, 1975) e pode ser interpretada através da observação do volume dos poros, desta forma é maior para indivíduos mais jovens que possui o diâmetro dos poros maior e a taxa de difusão mais alta, e para indivíduos mais velhos ocorre uma diminuição na taxa de difusão, pela incorporação de íons aos

cristais, reduzindo o tamanho do poro (TAFFOREAU; ZERMENO; SMITH, 2012). A permeabilidade também está relacionada aos processos de des/remineralização, ao desenvolvimento de lesão cariiosa (NEUHAUS et al., 2013) e do uso do laser para prevenção e detecção de cárie (FERREIRA et al., 1989; HSU et al., 2000; MAUNG; WOHLAND; HSU, 2007).

2.3 Lesão Cariiosa em Esmalte (LCE)

As lesões cariosas naturais de esmalte, denominadas lesões de mancha branca, apresentam-se como sendo a desmineralização da camada superficial do esmalte (BERGMAN; LIND, 1966). A superfície do esmalte apresenta ondulações minúsculas que coincidem com as estrias incrementais de Retzius. Esta superfície possui poros que se comunicam com os espaços existentes entre os cristais que compõem os prismas de esmalte. Nestes espaços circula o líquido que hidrata os cristais e transporta os íons da superfície do esmalte para o interior do mesmo (ESBERARD et al., 2004).

Sendo assim, os ácidos que se acumulam entre o biofilme e o esmalte infiltram nos poros e alcançam os espaços intercristalinos, tendo início a desmineralização dos cristais. À medida que o tempo passa, os ácidos continuam sua ação e os espaços intercristalinos aumentam em volume no esmalte (FRANK, 1965).

Assim, o transporte de ácido proveniente do biofilme dental se dá por difusão através do ambiente heterogêneo dos poros do esmalte. Durante o deslocamento, o ácido penetra no tecido e interage com seus componentes químicos. A formação da lesão cariiosa resulta de dois processos parcialmente independentes: penetração do ácido e desmineralização. A penetração, definida como o processo de dissolução do material nas bainhas dos prismas pela difusão rápida do ácido, ocorre com pouca perda mineral, mas com um aumento significativo dos poros das bainhas (MEIRA; BRITO; SOUSA, 2015).

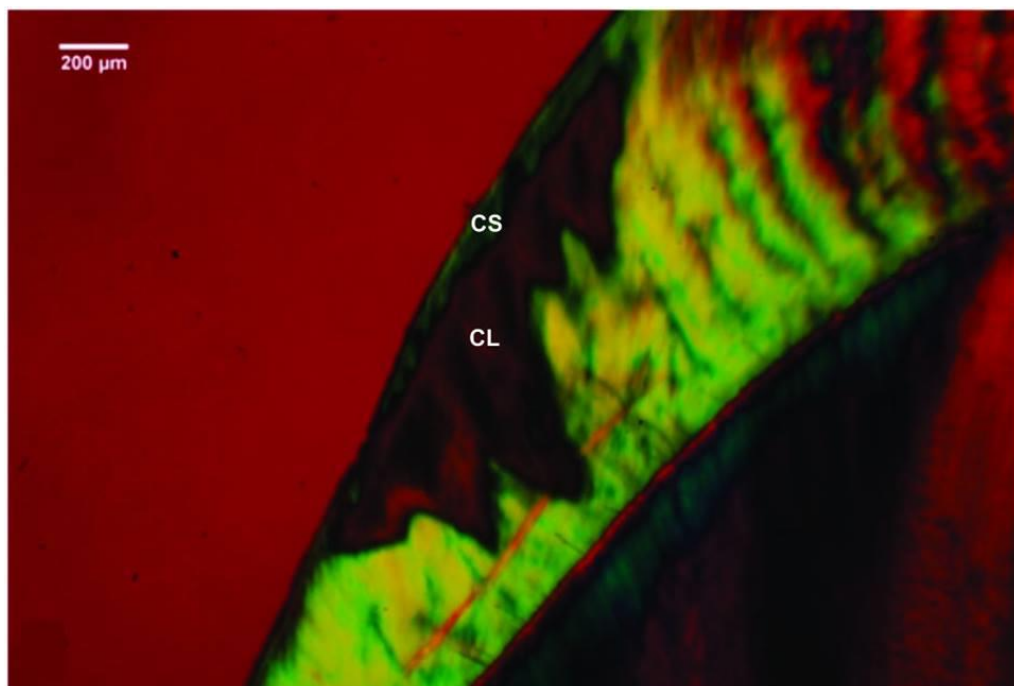
A presença da mancha branca na superfície dental indica que os cristais na subsuperfície reduziram em volume e os espaços ou poros intercristalinos aumentaram (BERGMAN; LIND, 1966). Por consequência do alargamento dos prismas, causado pelo processo carioso, estes podem se interconectar e fazendo

com que seja formado um transporte de líquido perpendicular aos prismas, no corpo da lesão, gerando a ocorrência de ligação lateral das bainhas dos prismas (MEIRA; BRITO; SOUSA, 2015; SHELLIS; HALLSWORTH, 1987).

Estas lesões de cárie incipientes podem ser detidas ou até regredirem, desde que sejam empregados métodos adequados. Porém, se não tratadas, as lesões de mancha branca podem progredir até cavitações de esmalte (FEJERSKOV; KIDD, 2011). As manchas brancas, quando ativas, se apresentam opacas e rugosas, quando inativas, apresentam aspecto brilhoso, polido e translúcido (PARIS; MEYER-LUECKEL, 2010; THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1995).

Ao observar uma lesão de cárie em esmalte em Microscopia de Luz Polarizada (MLP) podemos dividir em zonas histopatológicas (Figura 2) de porosidade relacionadas com a lesão de cárie (DARLING; 1958, 1961).

Figura 2 – Corte por desgaste de LMB em MLP (com filtro de retardo vermelho de 540 nm) imerso em água, onde podemos observar a camada superficial (CS) e o corpo da lesão (CL), a zona escura e a zona translúcida só podem ser observadas imersas em quinolina. Barra = 200µm.



Fonte: Elaboração da autora

- **Zona translúcida:** é a camada mais profunda da lesão, onde ocorre a primeira mudança visível no esmalte cariado, apresentando uma perda de ~ 1% de volume mineral e poros relativamente grandes;

- **Zona escura:** fica adjacente à zona translúcida, apresentando uma mistura de poros grandes e pequenos, sendo o volume de poros de 2-4%;

- **Corpo da lesão:** é a zona com maior perda mineral, apresentando volume de poros de 25-50%, sendo eles em sua grande maioria constituída de poros de grandes dimensões.

- **Camada superficial:** é a camada mais externa da lesão, apresentando volume de poros menor que 5 %. Por apresentar birrefringência negativa quando sob imersão em água, idêntica ao esmalte normal, foi descrita como sendo uma zona relativamente “intacta”. Esta camada persiste até a cavitação (DARLING, 1961; MARGOLIS et al., 1999; SILVERSTONE, 1968).

A camada superficial é a porta de entrada para materiais externos ao esmalte. Por isso, sua permeabilidade é relevante ao transporte de agentes remineralizadores (para promover o reparo do conteúdo mineral perdido) (COCHRANE et al., 2010) e/ou resinas infiltrantes (para interromper ou reduzir a progressão das lesões) (MEYER-LUECKEL; PARIS, 2010a), opções para o tratamento não invasivo da cárie em esmalte para os estágios intermediários.

2.4 Infiltrantes

O tratamento de lesões de cárie por meio de infiltrantes resinosos foi introduzido na odontologia no ano de 2009. O tratamento consiste na utilização de um ácido forte (ácido hidrocloreídrico 15%) para condicionar a superfície, e na posterior aplicação de uma resina com um monômero modificado, que ainda não foi claramente descrito na literatura. Estudos afirmam que esta resina é capaz de penetrar em poros de esmalte profundamente e obstruir a difusão de ácidos cariogênicos dentro do esmalte (DOMÉJEAN; LÉGER; HOLMGREN, 2015; MEYER-LUECKEL; PARIS, 2010a; MEYER-LUECKEL; PARIS, 2011; PARIS; MEYER-LUECKEL, 2009; PHARK et al., 1992).

Estudos relataram a associação positiva da profundidade de penetração com o tempo de aplicação de adesivos e selantes em inibir a cárie em diferentes estágios, afirmando que a profundidade de penetração está intimamente relacionada ao coeficiente de penetração (CP) e ao tempo de aplicação. Em particular, infiltrantes com um CP > 200 cm/s penetraram quase completamente lesões de

esmalte com uma espessura média de cerca 900 μm (MEYER-LUECKEL et al., 2006; MEYER-LUECKEL et al., 2011; MEYER-LUECKEL; PARIS, 2008; MEYER-LUECKEL; PARIS, 2010a; PARIS et al., 2006; PARIS et al., 2007b).

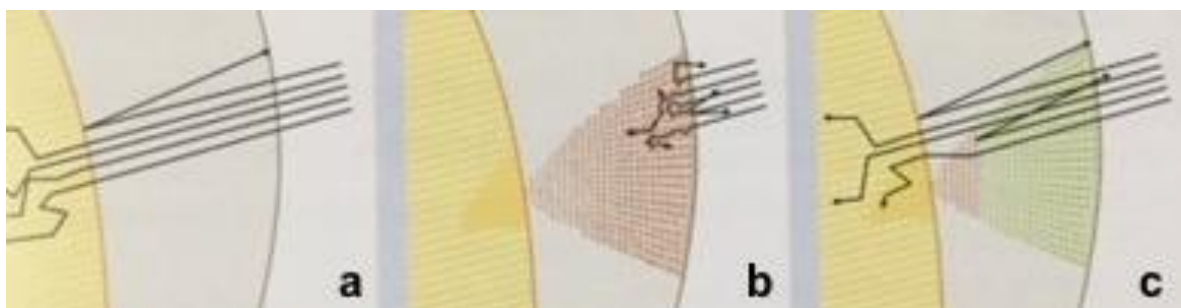
Devido à maior semelhança do índice de refração da resina infiltrante (IR = 1,52) com a hidroxiapatita do esmalte (IR = 1,62), é possível observar um mascaramento da lesão de mancha branca infiltrada por este tipo de resina, garantindo uma aparência visual similar ao esmalte natural, devido à homogeneização da dispersão e absorção de luz (Figura 3) (PARIS et al., 2013; PARIS; MEYER-LUECKEL, 2009).

Um outro ponto a ser considerado, é a ação da força de capilaridade no transporte do infiltrante, que pode ser explicado pela equação de Washburn (1921),

$$x^2 = \left(\frac{\gamma \cdot \cos \phi}{2 \cdot \eta} \right) \cdot r \cdot t \quad (1)$$

em que o deslocamento x^2 é igual ao produto do coeficiente de penetração (CP) pelo raio (r) e pelo tempo (t). O CP é dado pelo produto da tensão superficial com o cosseno do ângulo de contato entre o material e a parede do capilar dividido por duas vezes a viscosidade (η). Os infiltrantes são resinas fluidas que possuem um CP > 50 cm/s (MEYER-LUECKEL; PARIS; EKSTRAND, 2013). O deslocamento de um líquido em um capilar é diretamente proporcional ao tempo, segundo equação de Washburn.

Figura 3 – Dispersão da luz em esmalte natural normal (a), dispersão da luz em lesão de cárie em esmalte (b) e dispersão da luz em lesão de cárie em esmalte infiltrada por resina.



Fonte: (MEYER-LUECKEL; PARIS; EKSTRAND, 2013, p. 249)

Meira, Brito e Sousa (2015) relataram, segundo seus estudos, que o infiltrante

é potencialmente capaz de preencher uma área maior quando utilizado em um tempo clínico maior. Toda via, observa-se que a influência do tempo de aplicação sobre a efetividade funcional e estética das lesões infiltradas por resina ainda não está claramente elucidada na literatura, sendo necessária a avaliação da penetração do infiltrante em um tempo de aplicação maior que os relatados anteriormente.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Testar a hipótese nula de que a proporção da área de LCE que sofre penetração de água perpendicular aos prismas é desprezível.

3.2 Específicos

- Quantificar a área da LCE em que ocorre transporte de água apenas no sentido (por capilaridade) paralelo aos prismas;
- Quantificar a área da LCE em que ocorre transporte de água nos sentidos paralelo e perpendicular aos prismas;

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Considerações éticas

Os procedimentos para a realização desta pesquisa respeitaram as diretrizes e normas que regulamentam as pesquisas envolvendo seres humanos (Resolução número 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde). O trabalho foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, sendo aprovado sob o número CAAE: 38082314.0.0000.5188 (Anexo A), e os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice A).

4.2 Local de realização do estudo

O ensaio laboratorial e a análise de dados foram realizados no Laboratório de Microscopia e Imagem Biológica (LAMIB), do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – UFPB.

4.3 Cálculo amostral

A literatura considera desprezível a proporção de área da LCE com transporte de água nas duas direções (paralela e perpendicular) em relação aos prismas. De acordo com Cohen (1988), a magnitude de efeito (ME) “h” (diferença entre proporções), é classificada como baixa (de 0,2 a menor de 0,5), moderada (de 0,5 a menos de 0,8) e alta (igual ou maior que 0,8). Assim, um valor desprezível seria 10%.

Com base no estudo de Meira, Brito e Sousa (2015), previmos que entre a proporção prevista (de área da LCE com transporte de água nas duas direções em relação aos prismas) e a proporção experimental (investigada neste estudo), haveria uma grande diferença. Usando um critério conservador, escolhemos o valor mais baixo da magnitude de efeito alta (0,8). Com um nível de significância de 5%, com direcionalidade unicaudal (porque esperamos que a proporção experimental seja

apenas maior que a considerada na literatura), e um poder estatístico de 80%. Dessa forma, o tamanho amostral foi de 20 amostras.

4.4 Seleção das amostras

Elementos dentários extraídos com indicações clínicas (molares e pré-molares) pelo serviço de cirurgia buco-maxilo-facial do Hospital Universitário Lauro Wanderley – HULW/UFPB, foram obtidos por doação de pacientes maiores de 18 anos, não havendo nenhum tipo de dano ao paciente. Os elementos foram obtidos com o consentimento livre e esclarecido dos pacientes atendidos pelo serviço, por meio da assinatura do termo (Apêndice A).

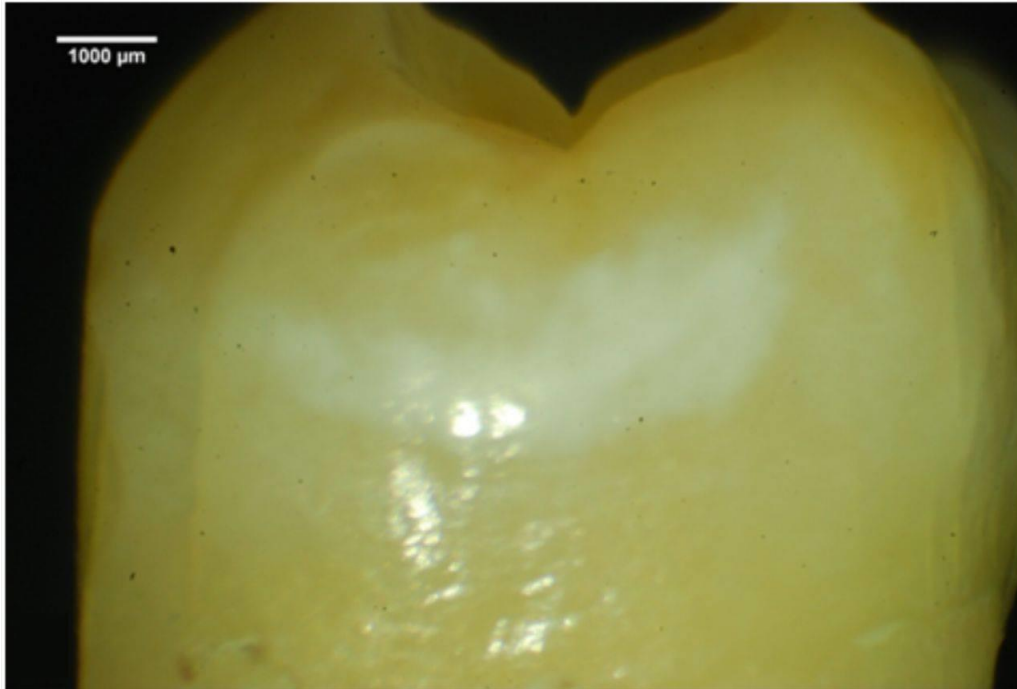
As LCE (escore ICDAS 2, inativas) em molares e pré-molares permanentes passaram por um processo de remoção de biofilme pela aplicação de uma pelota de algodão embebida em solução de hipoclorito de sódio 1% (Asfer, São Caetano do Sul, Brasil) por 30 segundos (s). Em seguida, foram enxaguados com água destilada, por 10 s, e secos com jato de ar. Posteriormente, os elementos foram acondicionados em solução de azida sódica 0,02% (MEIRA; BRITO; SOUSA, 2015).

As amostras foram analisadas por meio de estereomicroscopia (Medilux, China) e classificadas de acordo com a presença da lesão e sua respectiva atividade, por meio de um escore definido (NYVAD; MACHIULSKIENE; BAELUM, 1999). A avaliação foi realizada por dois examinadores previamente calibrados (intra e interexaminador) por meio do teste Kappa ($>0,7$), para determinar a confiabilidade. As regiões foram classificadas em hígida, lesão de mancha branca ativa, lesão de mancha branca inativa ou lesão cavitada. Cada examinador avaliou as amostras por 3 vezes em 3 dias, comparando a seus próprios resultados, e aos do segundo avaliador.

Como resultado final, após análise de todas as amostras, foi encontrada a concordância intraexaminador de 0,87 e interexaminador de 0,848, ambas consideradas concordâncias quase perfeitas (LANDIS; KOCH, 1977). Um consenso foi alcançado nos casos de discordância. Apenas as lesões de mancha branca inativas (escore ICDAS 2) foram escolhidas.

Após a calibração dos examinadores, as faces do elemento dentário foram analisadas por meio de estereomicroscopia (Medilux, China) e os dentes com lesão branca foram selecionados para o estudo (n=20) (Figura 4).

Figura 4 – Amostra A20. Lesão de mancha branca inativa em face proximal, Estereomicroscopia, luz refletida. Barra de escala: 1000µm.



Fonte: Elaboração da autora

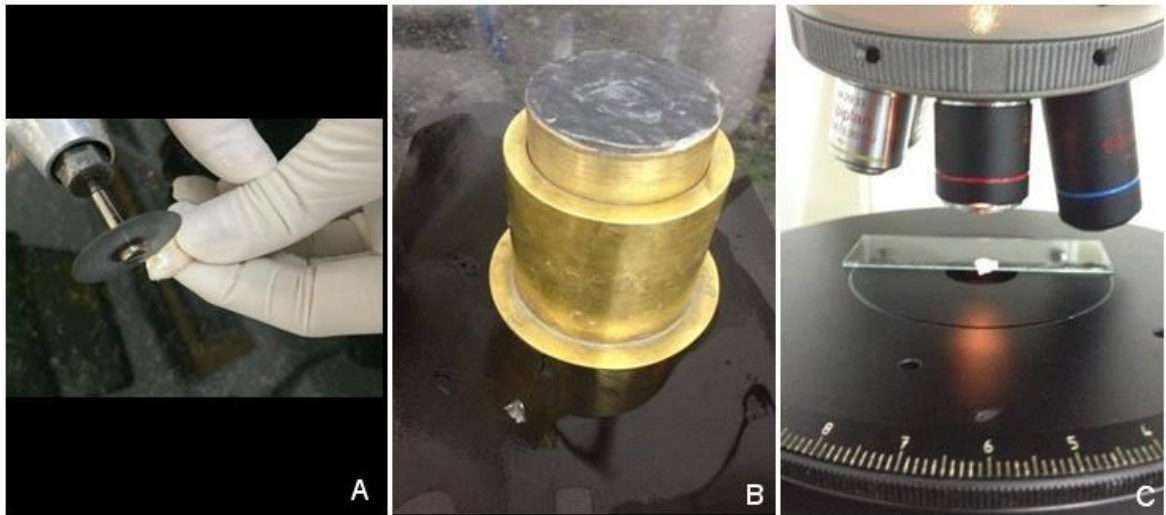
4.5 Preparo dos cortes histológicos por desgaste

Com um disco diamantado sob refrigeração foi obtida, de cada elemento dental, cortes histológicos por desgaste (profundidade média de $690 \text{ mm} \pm 247 \text{ mm}$), uma secção longitudinal da coroa dental, a partir da região central da lesão. As secções foram reduzidas, por desgaste, através de um jig de lapidação, com lixas d'água de granulações decrescente (300 - 1200), até uma espessura de aproximadamente 100 µm.

A verificação da espessura da amostra foi realizada através do posicionamento perpendicular a lâmina em um microscópio óptico e com objetiva de 20x (Figura 5). Em seguida uma reticula também foi fotografada (Nikon D80, Japão)

nas mesmas condições e com o software de análise de imagens Image J (ImageJ, NIH, USA) foi estabelecida uma relação pixel-micrômetro (μm).

Figura 5 – Corte do elemento dental com disco diamantado (A). Jig de lapidação (B). Verificação da espessura em microscópio óptico (C).

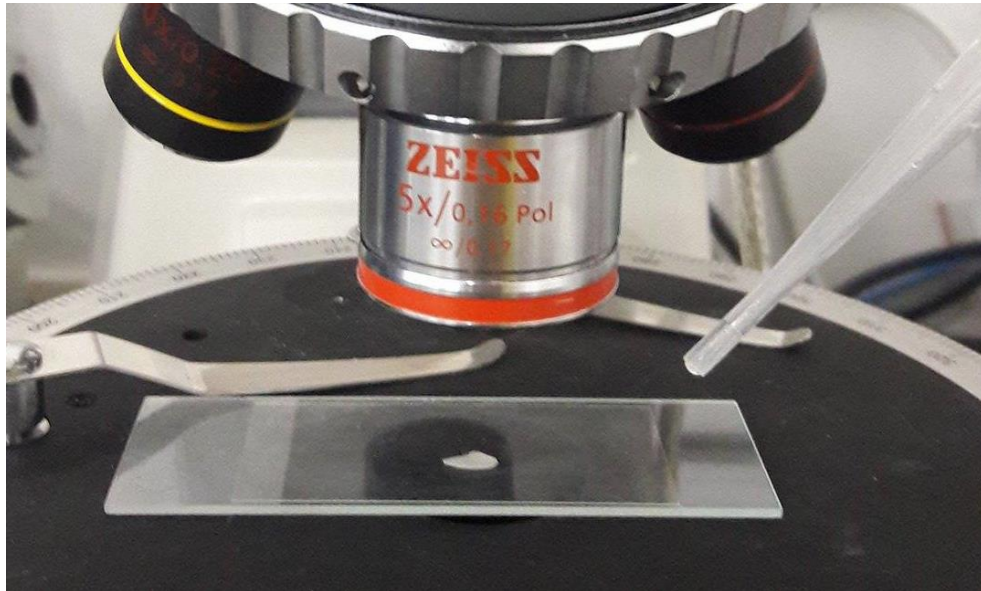


Fonte: Elaboração da autora

4.6 Infiltração e análise das imagens

As amostras preparadas foram desidratadas em temperatura ambiente de 25°C e 50% de umidade relativa durante 48 h. Após a desidratação, cada amostra foi posicionada entre lâmina e lamínula. Em seguida foi obtida uma fotografia (Nikon D80, Japão) no MLP (Zeiss, Alemanha) para analisar a amostra antes da infiltração e depois foram submetidas à infiltração de água destilada (Figura 6). A infiltração foi observada e registrada durante 2 h através do Sistema Polscope no modo automático.

Figura 6 – Amostra sendo submetida à infiltração de água destilada com o auxílio de uma pipeta de transferência, para avaliação durante 2 h.



Fonte: Elaboração da autora

O “single polscope” é a técnica de MLP que usa apenas um cristal líquido independente da orientação da amostra. Os componentes deste sistema são: dois polarizadores, dois filtros de retardo de fase de um quarto de lambda e um filtro monocromático verde. A sequência dos itens, a partir da saída de luz da base do microscópio até a ocular e obedecendo as especificações usadas neste projeto é o seguinte: filtro verde de interferência de 546 nm (largura de banda de 10nm; Edmund Optics, EUA), primeiro polarizador, cristal líquido coberto por filtro de um quarto de lambda acromático para 545nm (liquid crystal polarization rotator, Meadowlark, EUA), amostra, segundo polarizador e o segundo filtro de retardo de um quarto de lambda acromático para 545nm (Meadowlark, EUA).

Esses itens foram montados em um microscópio óptico composto vertical de luz transmitida (modelo BA310Pol, Motic, Canadá). Foi acoplado um gerador de funções (modelo AFG 2021 – BR, Tektronix, EUA) através de um cabo elétrico para aplicar tensão e permitir rotação do eixo de polarização da luz. Para completar o sistema, uma câmera digital (Nikon D7000, Japão), no modo monocromático, foi acoplada ao microscópio, as imagens foram obtidas com objetiva de 5x plana, de tubo infinito, fluorida e de luz polarizada (Carl Zeiss, Alemanha) (Figura 7).

Figura 7 – Sistema “single polscope”, composto por gerador de funções (modelo AFG 2021 – BR, Tektronix, EUA), câmera digital (Nikon D7000, Japão) e microscópio com objetiva de 5x plana, de tubo infinito, fluorida e de luz polarizada (Carl Zeiss, Alemanha).

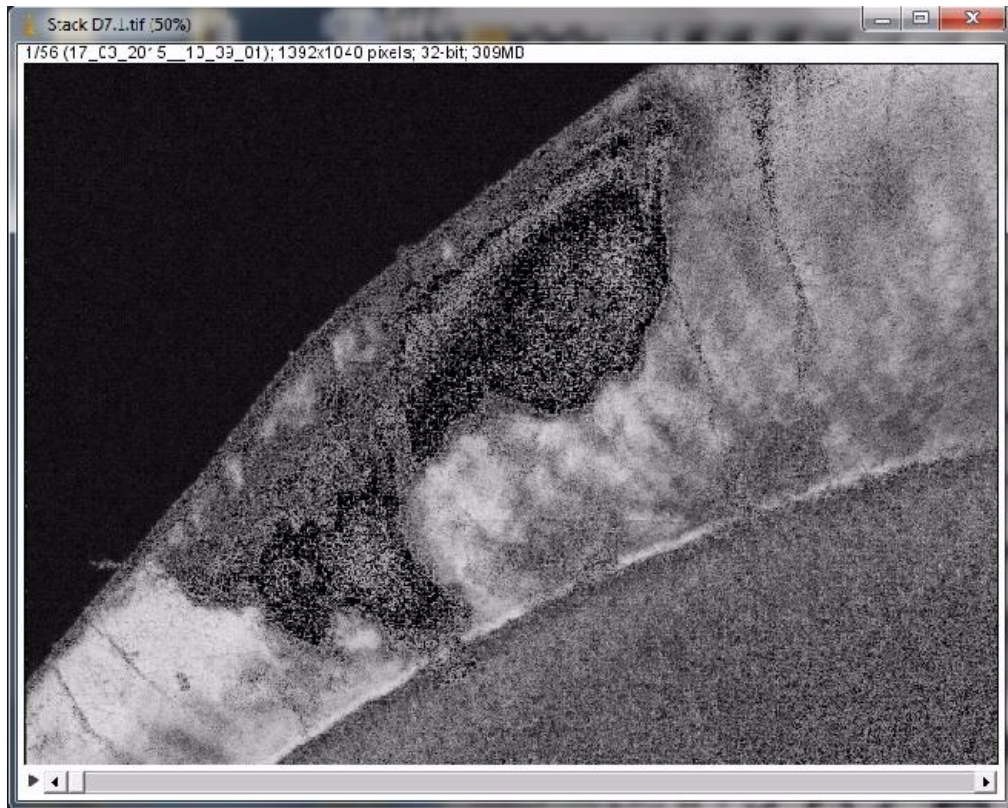


Fonte: Elaboração da autora

O sistema polscope foi programado a retirar: 37 fotos nos primeiros 3 min (de 5 em 5 s); 14 fotos nos próximos 7 min (de 30 em 30 s) e, após isso, fotos únicas nos minutos 20, 30, 60, 90 e 120. Completando, assim, a infiltração da amostra que foi registrada durante 2 horas de infiltração que totalizou em 56 fotos para cada amostra.

Uma técnica de microscopia de luz polarizada independente da orientação da amostra, com resolução temporal de 5 s, foi utilizada para registrar a penetração da água em relação aos prismas. As áreas de infiltração paralela e perpendicular aos prismas foi medida com software de análise de imagem (Image J, NIH, EUA) (Figura 8).

Figura 8 – Análise das imagens de uma amostra que foi submetida à infiltração, utilizando o software de análises de imagem (Image J, NIH, EUA).



Fonte: Elaboração da autora

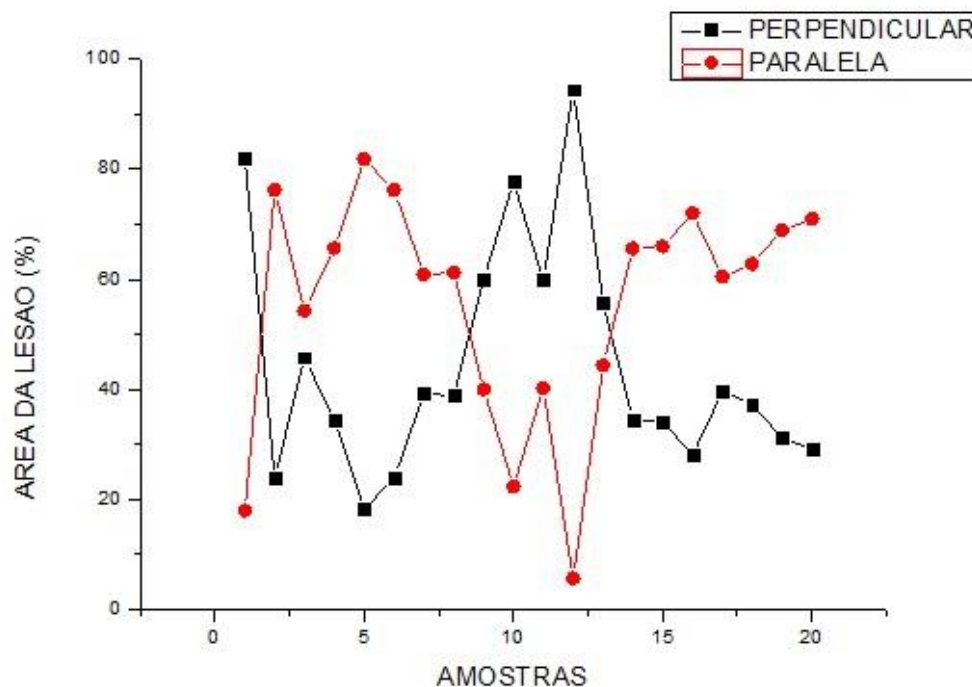
4.7 Análise estatística

Os dados das áreas de transporte de água nas duas direções passaram por um teste de normalidade (teste Shapiro-Wilk). Após a confirmação da normalidade dos dados, a significância estatística foi testada com o teste t não pareado de amostra única (usando p de 5% unicaudal), e foram calculados a magnitude de efeito h de Cohen (de diferença de proporções), seu intervalo de confiança de 95% e o poder estatístico (COHEN, 1988).

5 RESULTADOS

A distribuição das áreas de LCE onde o transporte da água destilada ocorreu apenas na direção paralela aos prismas, assim como apenas na direção perpendicular aos prismas, está descrita no Gráfico 1. A média da proporção de penetração perpendicular aos prismas foi de 44,37% ($\pm 20,9\%$) e a hipótese nula foi rejeitada ($p = 0,00003$; teste T unicaudal), diferindo da hipótese alternativa com uma magnitude de efeito (h de Cohen) de 1,15 (IC 95%: 0,58; 1,75) e poder estatístico de 99,9 %.

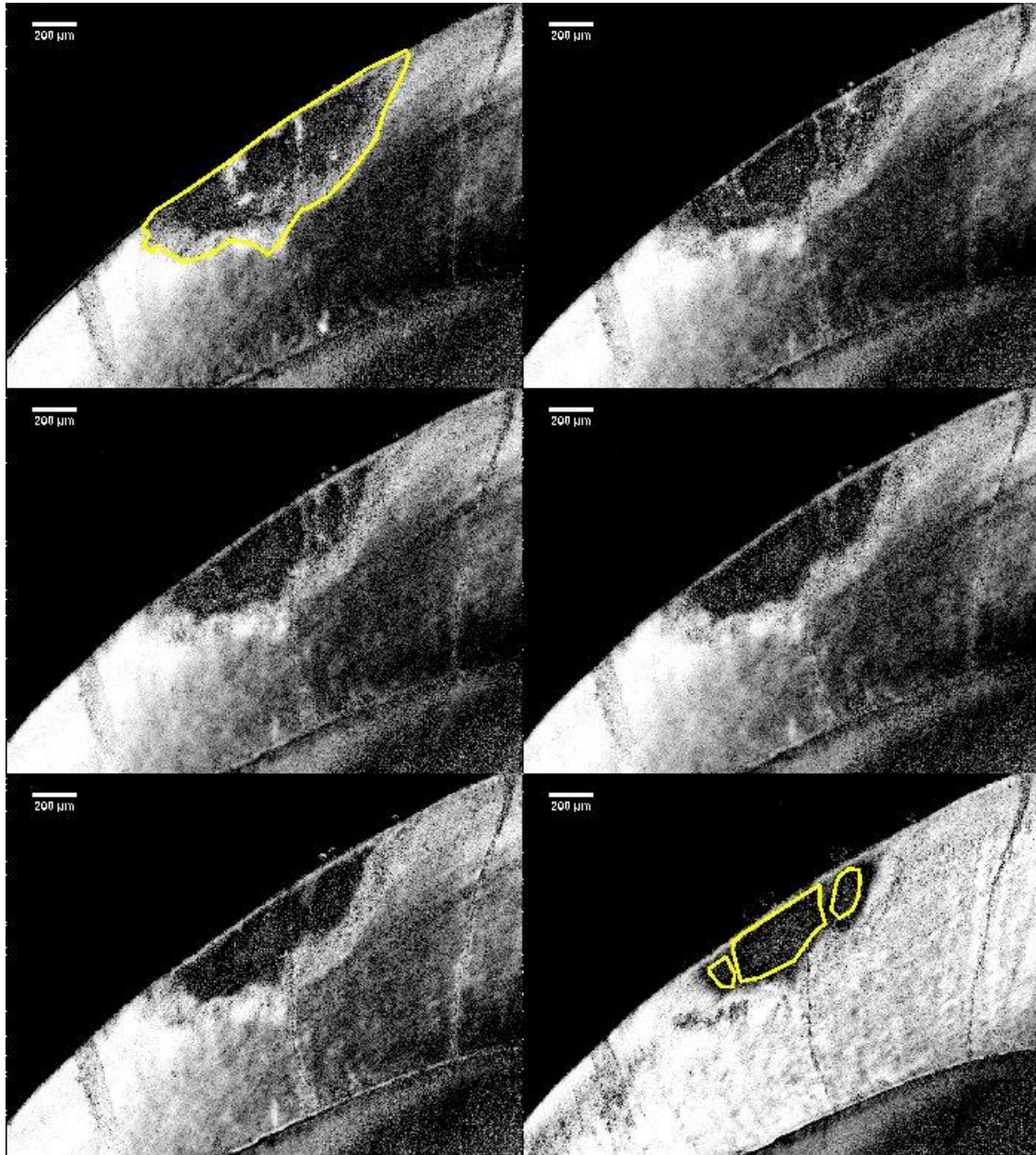
Gráfico 1 – Distribuição da área de infiltração perpendicular e paralela aos prismas para cada uma das vinte amostras.



Fonte: Elaboração da autora

Após a infiltração da água destilada por 2 h, utilizando o software de análise de imagem (Image J, NIH, EUA), as áreas onde houve infiltração paralela e perpendicular aos prismas foram marcadas, assim como as áreas onde apenas houve transporte no sentido paralelo aos prismas, com isso pudemos observar que em todas as amostras foi observado transporte no sentido perpendicular aos prismas.

Figura 9 – Montagem mostrando o acompanhamento da infiltração de água em microscopia de luz polarizada independente da orientação da amostra, com fotos de alguns momentos de uma amostra submetida à infiltração.



Fonte: Elaboração da autora

Na figura 9 observa-se na primeira imagem da montagem uma região demarcada que se refere à área da lesão onde houve transporte de água nos dois sentidos, paralelo e perpendicular aos prismas. Enquanto que na última imagem, a área demarcada se refere à área da lesão onde ocorreu apenas o transporte no sentido perpendicular aos prismas. Com isso, conseguimos calcular a área em que

houve transporte apenas no sentido paralelo aos primas.

Tabela 1 – Resultado das medidas calculadas no software de análise de imagem contendo a área total da LCE, a área em que houve transporte no sentido perpendicular e a área onde houve transporte apenas no sentido paralelo aos prismas do esmalte.

	Área total da lesão	Área perpendicular (total)	Área longitudinal
Amostra 01	218.270.466	179.129.585	39.140.881
Amostra 05	65.576.298	15.641.467	49.934.831
Amostra 06	83.612.286	38.259.169	45.353.117
Amostra 7.1	213.812.541	73.545.123	140.267.418
Amostra 12.1	265.190.311	48.359.748	216.830.563
Amostra 13.1	111.362.297	26.505.285	84.857.012
Amostra 14	124.646.456	48.779.719	75.866.737
Amostra 16M	70.999.473	27.566.226	43.433.247
Amostra 17.1	308.912.906	185.508.138	123.404.768
Amostra 18	139.476.839	108.408.827	31.068.012
Amostra 18.1	130.153.170	77.839.767	52.313.403
Amostra 19.1	162.301.869	153.163.503	9.138.366
Amostra 20	226.953.926	126.377.225	100.576.701
Amostra 20.1	255.077.582	87.929.713	167.147.869
Amostra 22	221.340.130	75.410.312	145.929.818
Amostra 24.1	116.693.579	32.757.771	83.935.808
Amostra 26.1	133.420.289	52.799.446	80.620.843
Amostra 27.1	119.846.023	44.664.303	75.181.720
Amostra 34	109.506.220	34.082.697	75.423.523
Amostra 41	206.596.323	60.145.528	146.450.795

Fonte: Elaboração da autora

6 DISCUSSÃO

A redução da prevalência de cárie em muitos países industrializados estimulou o foco de pesquisas nos estágios iniciais da doença, originando a descoberta de métodos menos invasivos, como as resinas infiltrantes e agentes remineralizadores. A aplicação de infiltrantes vem sendo uma alternativa promissora para o tratamento de lesões de mancha branca visto que os infiltrantes possuem baixa viscosidade e penetram pelas bainhas dos prismas por difusão (DOMÉJEAN; LÉGER; HOLMGREN, 2015).

A porosidade do esmalte cariado atua como via de difusão também para os ácidos, e a infiltração dessas resinas visa ocluir esse caminho, eliminando ou reduzindo drasticamente as vias de difusão mais fáceis para o ácido (MEYER-LUECKEL; PARIS; EKSTRAND, 2013), evitando a progressão da cárie (PARIS; MEYER-LUECKEL; KIELBASSA, 2007).

No esmalte cariado, há estudos de microscopia eletrônica de varredura com réplicas dos nanocanais feitas com resina (metacrilato de metila) que indicam que há uma interconexão lateral de bainhas alargadas (SHELLIS & HALLSWORTH, 1987). Estes dados sugerem que um material aplicado na superfície do esmalte pode se espalhar em profundidade e em lateralidade, corroborando com os resultados do nosso estudo.

De acordo com Meira, Brito e Sousa (2015), alguns espaços preenchidos por matéria orgânica e água permanecem presentes nos poros de esmalte mesmo após a aplicação de um infiltrante, e o volume da permeabilidade do esmalte (relacionado a água facilmente disponível por difusão) é o principal volume componente do esmalte para predizer o volume infiltrado por uma resina infiltrante em lesões de cárie em esmalte.

Meira, Brito e Sousa (2015) relataram, ainda, que as lesões infiltradas com soluções (Thoulet), de diferentes índices de refração (1,40 e 1,47) e coeficientes de penetração significativamente superiores ao da ICON[®] (DMG, Hamburgo, Alemanha) (3212 e 2297 cm/s, enquanto ICON[®] apresenta 204 cm/s), ainda se apresentam parcialmente preenchidas mesmo após a imersão das amostras por 24h. Sugere-se, então, que o infiltrante é potencialmente capaz de preencher uma área maior quando utilizado em um tempo clínico maior.

Além disso, de acordo com nossos estudos pode-se perceber que a direção do transporte de líquidos em LCE influencia na distância de penetração de resinas infiltrantes e de agentes remineralizadores, e, conseqüentemente, no tempo necessário para se obter uma efetiva infiltração ou remineralização do esmalte.

A literatura pressupõe que o transporte por capilaridade perpendicular aos prismas é desprezível (CAREY; VOGEL; CHOW, 1991; MEYER-LUECKEL; PARIS, 2010a). Porém, vimos que além de um transporte seguindo a trajetória dos prismas (paralelo), ainda existe, no esmalte cariado, um significativo transporte em lateralidade, conseqüentemente a distância para a resina infiltrante ou o agente remineralizador penetrar se torna ainda maior, necessitando-se de maior tempo para que o seu efeito seja alcançado.

Apesar da atual tendência de redução de tempo clínico para os procedimentos odontológicos em geral, ainda é aceitável a permanência de tratamentos com tempo clínico relativamente elevados, como é o caso do clareamento imediato, em que os elementos dentários são submetidos ao contato com ácidos por 30 minutos ou mais. É importante que a decisão de optar por tratamentos mais longos parta do princípio da obtenção de um resultado mais efetivo.

Apesar da metodologia aqui aplicada não ter analisado a difusão, que é o processo de transporte dos agentes remineralizadores, nossos dados também sugerem que o tempo ideal para um agente remineralizador exercer seu potencial máximo de remineralização pode ser relativamente longo. Estudos in vitro com difusão em água e quantificação do volume de agente remineralizador deveriam ser feitos para investigar se um tempo maior que o normalmente aplicado não teria um efeito remineralizador melhor.

Os dados disponíveis na literatura sobre infiltração de resinas fluidas no esmalte cariado são relacionados com a profundidade e a área de infiltração (NEUHAUS et al., 2013; PARIS; MEYER-LUECKEL, 2009). Pelos nossos dados, o transporte perpendicular aos prismas pode causar uma lenta substituição do ar por infiltrante no corpo da lesão. Como o transporte perpendicular ocorre simultaneamente com o paralelo, a substituição do ar por infiltrante pode ser concluída após alguma parte do infiltrante chegar no ponto mais profundo da lesão cariosa de esmalte. Neste contexto, o fato do infiltrante ser detectado no fundo da

lesão não indica que o corpo da lesão teve seus poros suficientemente preenchidos pelo infiltrante.

Os dois principais resultados da infiltração de resina em lesão de mancha branca inativa são a redução da permeabilidade do esmalte (com conseqüente proteção contra progressão da lesão) e a redução da opacidade do esmalte (efeito estético). O resultado máximo seria obtido no caso de haver 100% do volume de poros preenchido por resina infiltrante, para isso sugere-se que esse transporte perpendicular aos prismas deva ser considerado.

Neste trabalho, nosso foco foi avaliar a proporção de transporte por capilaridade paralelo e perpendicular aos prismas, visto que não há estudos como este na literatura. O “single Polscope” provou ser uma ferramenta valiosa para estudar a infiltração de substâncias no esmalte dentário, abrindo novos caminhos para o que poderia ser um novo âmbito de investigação: mecânica dos fluidos em esmalte. Conhecimento sobre o assunto pode fornecer explicações de mecanismos mais sofisticadas para o transporte de materiais em lesões cariosas naturais de esmalte, que é um dos pontos básicos que sustentam as melhorias na remineralização e infiltração de resina em cárie de esmalte.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio dos nossos estudos, concluímos que durante a penetração da água por capilaridade na lesão cariiosa natural de esmalte, a proporção da área da LCE com penetração perpendicular aos prismas é consideravelmente alta.

Com isso, nosso trabalho sugere que a otimização da infiltração e da remineralização de lesões cariosas de esmalte podem requerer um tempo relativamente alto para a aplicação dos materiais envolvidos no tratamento dessas lesões.

REFERÊNCIAS

- ANGMAR-MANSSON, B. A polarization microscopic and micro X-ray diffraction study on the organic matrix of developing human enamel. **Arch. Oral Biol.**, v. 16, n. 2, p. 147-156, Feb. 1971.
- BERGMAN, G.; LIND, P.O. A quantitative microradiographic study of incipient enamel caries. **J Dent Res.**, v. 45, n. 5, p. 1477-1484, Sep. 1966.
- CAREY, C.M.; VOGEL, G.L.; CHOW, L.C. Permselectivity of Sound and Carious Human Dental Enamel as Measured by Membrane Potential. **J Dent Res**, v. 70, n. 12, p. 1479-1485, December 1991.
- CARLSTROM, D.; GLAS, J.E.; ANGMAR, B. Studies on the ultrastructure of dental enamel: V. The state of water in human enamel. **J. Ultrastruct. Res.**, v. 8, n. 1-2, p. 24-29, Feb. 1963.
- COCHRANE, N.J.; CAI, F.; HUQ, N.L.; BURROW, M.F.; REYNOLDS, E.C. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. **J Dent Res.**, v. 89, n. 11, p.1187-1197, Nov. 2010.
- COHEN, J. **Statistical power analysis for behavioral sciences**, 2a ed. Nova Iorque: Lawrence Erlbaum; 1988.
- DARLING, A.I. Studies of the early lesion of enamel caries. **Br. Dent. J**, v. 105, p. 119-135, 1958.
- DARLING, A.I. The selective attack of caries on the dental enamel. **Ann R Coll Surg Enge**, v. 29, n. 6, p. 354-369, 1961.
- DIBDIN, G.H. The water in human dental enamel and its diffusional exchange measured by clearance of tritiated water from enamel slabs of varying thickness. **Caries Res.**, v. 27, n. 2, p. 81-86, 1993.
- DOMÉJEAN, R; LÉGER, S; HOLMGREN, C. Resin infiltration of non- cavitated caries lesions: a systematic review. **Med Princ Pract.**, v. 24, n. 3, p. 216-221, Feb. 2015.
- ESBERARD, R.R.; CONSOLARO, A.; ESBERARD, R.M.; BONETTI FILHO, I.; ESBERARD, R.R. Efeitos das técnicas e dos agentes clareadores externos na morfologia da junção amelocementária e nos tecidos dentários que a compõem. **R Dental Press Estét**, v. 1, n. 1, p. 58-72, 2004.
- FEJERSKOV, O.; KIDD, E. **Cárie: A doença e seu tratamento clínico**. Segunda edição, Ed. Saraiva. São Paulo: Santos; 2011.
- FERREIRA, J.M.; PALAMARA, J.; PHAKEY, P.P.; RACHINGER, W.A.; ORAMS, H.J. Effects of continuous-wave CO2 laser on the ultrastructure of human dental enamel.

Arch. Oral Biol, v. 34, n. 7, p. 551-62, 1989.

FRANK, R.M. **The ultrastructure of the caries-resistant teeth**. London: Ciba Foundation; p. 169-191, 1965.

HE, L.H.; SWAIN, M.V. Understanding the mechanical behavior of human enamel from its structural and compositional characteristics. **J. Mech Beh of Biomed**, v. 1, n. 1, p. 18-29, 2008.

HSU, C.S.; JORDAN, T.J.; DEDERICH, D.N.; WEFEL, J.S. Effects of CO₂ laser and organic matrix on enamel demineralization. **J. Dent. Res**, v. 79, n. 9, p. 1725-30, 2000.

KEREBEL, B.; DACULSI, G.; KEREBEL, L.M. Ultrastructural studies of enamel crystallites. **J. Dent. Res.**, v. 58(B), p. 844-851, May 1979.

LANDIS, J.R.; KOCH, G.G. The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. **Biometrics.**, v. 33, n. 1, p. 159-174, May 1977.

MARGOLIS, H.C.; ZHANG, Y.P.; LEE, C.Y.; KENT, R.L.; MORENO, E.C. Kinetics of enamel demineralization in vitro. **J Dent Res**, v. 78, n. 7, p. 1326-1335, 1999.

MAUNG, N.L.; WOHLAND, T.; HSU, C.Y.S. Enamel diffusion modulated by Er : YAG laser (Part 1) – FRAP. **J Dent**, v. 35, n. 10, p. 787-93, 2007.

MEDEIROS, R.C.G.; DE LIMA, T.; GOUVEIA, C.R.; SOUSA, F.B. Water loss at normal enamel histological points during air drying at room temperature. **J Microsc**, v. 250, n. 3, p. 218-227, 2013.

MEIRA, K.R.; BRITO, C.S.; SOUSA, F.B. Predicting infiltration of the surface layer of natural enamel caries. **Arch Oral Biol.**, v. 60, n. 6, p. 883-893, June 2015.

MEYER-LUECKEL, H. CHATZIDAKIS, A.; NAUMANN, M.; DOFER, C.E.; PARIS, S. Influence of application time on infiltrant penetration into natural enamel caries. **J dent.**, v. 39, n. 7, p. 465-469, July 2011.

MEYER-LUECKEL, H.; PARIS, S.; EKSTRAND, K.R. Caries management – science and clinical practice. New York: Thieme, p. 246-255, 2013.

MEYER-LUECKEL, H; PARIS, S. Kariesinfiltration in der Kinder und Jugendzahnheilkunde. **Oralprophylaxe & Kinderzahnheilkunde.**, v. 32, p. 113-121, 2010a.

MEYER-LUECKEL, H; PARIS, S. Kariesinfiltration, Zahnmedizin update 4. Stuttgart: Thieme; p. 232-246, 2011.

MEYER-LUECKEL, H.; PARIS, S.; MUELLER, J.; COLFEN, H.; KIELBASSA, A.M. Influence of the application time on the penetration of different dental adhesives and a fissure sealant into artificial subsurface lesions in bovine enamel. **Dent Mater.**, v. 22, n. 1, p. 22-28, Jan. 2006.

- MEYER-LUECKEL, H. PARIS, S. Progression of artificial enamel caries lesions after infiltration with experimental light curing resins. **Caries Res.**, v. 42, n. 2, p.117-124, Feb. 2008.
- NEUHAUS, K.W.; SCHLAFER, S.; LUSSI, A.; NYVAD, B. Infiltration of natural caries lesions in relation to their activity status and acid pretreatment in vitro. **Caries Res.**, v. 47, n. 3, p. 203-210, Dec. 2013.
- NYVAD, B.; MACHIULSKIENE, V.; BAELUM, V. Reliability of a new caries diagnostic system differentiating between active and inactive caries lesions. **Caries Res.**, v.33, n. 4, p. 252-260, July 1999.
- ORAMS, H.J.; PHAKEY, P.P.; RACHINGER, W.A.; ZYBERT, J.J. Visualization of micropore structure in human dental enamel. **Nature.**, v.252, p. 584-585, Dec. 1974.
- PARIS, S.; MEYER-LUECKEL, H.; COLFEN, H.; KIELBASSA, A.M. Penetration coefficients of commercially available and experimental composites intended to infiltrate enamel carious lesions. **Dent Mater.**, v. 23, n. 6, p. 742-748, June 2007b.
- PARIS S.; MEYER-LUECKEL, H.; COLFEN, H.; KIELBASSA, A.M. Resin infiltration of artificial enamel caries lesions with experimental light curing resins. **Dent Mater J.**, v. 26, n. 4, p. 582-588, July 2007a.
- PARIS S.; MEYER-LUECKEL, H. Infiltrants inhibit progression of natural caries lesions in vitro. **J Dent Res.**, v. 89, n. 11, p. 1276-1280, Nov. 2010.
- PARIS S.; MEYER-LUECKEL, H.; KIELBASSA, A.M. Resin infiltration of natural caries lesions. **J Dent Res.**, v. 86, n. 7, p. 662-666, July 2007.
- PARIS S; MEYER-LUECKEL, H. Masking of labial enamel white spot lesions by resin infiltration – A clinical report. **Quintessence Int.**, v. 40, n. 9, p. 713-718, Oct. 2009.
- PARIS, S.; MEYER-LUECKEL, H.; MUELLER, J.; HUMMEL, M.; KIELBASSA, A.M. Progression of sealed initial bovine enamel lesions under demineralizing conditions in vitro. **Caries Res.**, v. 40, n. 2, p. 124-129, 2006.
- PARIS, S.; SCHWENDICKE, F.; KELTSCH, J. DORFER, C.; MEYER-LUECKEL, H. Masking of white spot lesions by resin infiltration in vitro. **J Dent.**, v. 41, n. 5, p. 28-34, Nov. 2013.
- PARK, J.C.; PARK, J.T.; SON, H.H.; KIM, H.J.; JEONG M.J.; LEE, C.S.; DEY, R.; CHO, M.I. The amyloid protein APin is highly expressed during enamel mineralization and maturation in rat incisors. **Eur. J. Oral Sci.**, v. 115, n. 2, p. 153-160, Apr. 2007.
- PHARK, J.H.; DUARTE, S.; MEYER-LUECKEL, H.; PARIS, S. Caries infiltration with resins: a novel clinical caries status of posterior approximal surfaces in primary and permanent teeth. **Caries Res.**, v. 26, n. 2, p. 146-152, 1992.

SHELLIS, R.P.; DIBDIN, G.H. Enamel microporosity and its functional implications. In: Teafor MF, Smith MM, Ferguson MWJ. **Development, function and evolution of teeth**. New York: Cambridge University Press, p.242-251, 2000.

SHELLIS R.P., HALLSWORTH A.S. The use of scanning electron microscopy in studying enamel caries. **Scanning Microsc**, v.1, n. 3, p.1109-1123, 1987.

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

SOUSA, F.B.; SOARES, J.D.; VIANNA, S.S. Natural enamel caries: a comparative histological study on biochemical volumes. **Caries Res.**, v. 47, n. 3, p. 183-192, Dec. 2013.

SOUSA, F.B.; VIANNA, S.S.; SANTOS-MAGALHÃES, N.S. Dental enamel birefringence for a wide mineral content range and for different immersion media's refractive indexes: an improved mathematical interpretation. **J. Microsc.**, v. 233, n. 1, p. 69-75, Jan. 2009.

TAFFOREAU, P.; ZERMENO, J.P.; SMITH, T.M. Tracking cellular-level enamel growth and structure in 4D with synchrotron imaging. **J. Hum. Evol.**, v. 62, n.3, p. 424-428, Mar. 2012.

THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Cariologia básica**. Segunda edição. São Paulo: Editora Santos; 1995.

WASHBURN, E.W. The Dynamics of Capillary Flow. **Phys Rev.**, v. 17, n. 3, p. 273-283, Mar. 1921.

YING, D.; CHUAH, G.K.; HSU, C.S. Effect of Er: YAG laser and organic matrix on porosity changes in human enamel. **J Dent.**, v. 32, n. 1, p. 41-46, Jan. 2004.

ZAHRADNIK, R.T.; MORENO, E.C. Structural features of human dental enamel as revealed by isothermal water vapour sorption. **Arch. Oral Biol.**, v.20, n. 5-6, p. 317-325, May 1975.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Prezado voluntário, esta pesquisa tem como título “ANÁLISE DO VALOR PREDITIVO DOS COMPONENTES VOLUMÉTRICOS DO ESMALTE CARIADO NO VOLUME INFILTRADO POR RESINA” e está sendo desenvolvida pela cirurgiã-dentista ANDRESSA CAVALCANTI PIRES, mestranda em Odontologia da Universidade Federal da Paraíba, sob orientação de FREDERICO BARBOSA DE SOUSA, professor doutor do Departamento de Morfologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba.

Considerando que o esmalte cariado possui os poros aumentados em relação ao esmalte normal. O objetivo deste estudo laboratorial é verificar a proporção dos poros infiltrados por uma resina, com a finalidade de contribuir para melhorias no tratamento não invasivo, sem broca e sem anestesia, da lesão cariosa de esmalte.

A sua colaboração na pesquisa consistirá em doar um dente extraído por razões de saúde identificadas pelo cirurgião-dentista que lhe prestou assistência odontológica. Todas as partes moles (que contêm células, sangue e material genético) dos dentes serão descartadas e não serão usadas. O dente doado ficará guardado com o pesquisador até 3 anos a contar da data de assinatura deste documento. Solicitamos sua autorização para usar, durante o período de 3 (três) anos, o material doado em outros estudos que sejam importantes para desenvolver o tratamento mencionado acima. Após este período de 3 anos, o dente será aquecido a 900° C por duas horas, em seguida triturado até formar um pó e desprezado no sistema de esgotamento sanitário da cidade. Os procedimentos para a realização desta pesquisa respeitarão as diretrizes e normas da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

Sua participação é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisador(a). Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano, nem haverá modificação na

assistência que vem recebendo na Instituição (quando for o caso). Nesta pesquisa, o(a) senhor(a) não poderá se certificar pessoalmente de todas as análises a serem feitas nos laboratórios com o material doado.

Solicito sua permissão para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de saúde e publicar em revista científica. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo.

O(s) pesquisador(es) estará(ão) à sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa, inclusive para informar as conclusões finais.

Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido(a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

Assinatura do Participante da Pesquisa
ou Responsável Legal

Assinatura do(a) Pesquisador(a) Responsável

Assinatura do(a) Pesquisador(a) Participante
Em caso de analfabeto, acrescentar:

Assinatura da Testemunha

Endereço (Setor de Trabalho) do Pesquisador Responsável: Andressa Cavalcanti Pires (matrícula UFPB/2014104922), Laboratório de Microscopia e Imagem Biológica (LAMIB), Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, Campus I, João Pessoa, Paraíba. Telefone para contato: (0xx83) 32167200 – Ramal 8814.

Endereço (Setor de Trabalho) do Pesquisador Participante: Frederico Barbosa de Sousa (matrícula UFPB/Siape 2196437), Departamento de Morfologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, Campus I, João Pessoa, Paraíba. Telefone para contato: (0xx83) 32167254 (Depto de Morfologia/CCS/UFPB).

Qualquer dúvida, entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba Campus I - Cidade Universitária - 1º Andar – CEP 58051-900 – João Pessoa/PB , telefone: 3216-7791.E-mail: eticaccsufpb@hotmail.com

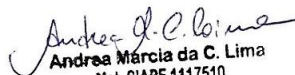
ANEXO A – CERTIDÃO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

CERTIDÃO

Certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – CEP/CCS aprovou por unanimidade na 1ª Reunião realizada no dia 19/02/2015, o Projeto de pesquisa intitulado: **“ANÁLISE DO VALOR PREDITIVO DOS COMPONENTES VOLUMÉTRICOS DO ESMALTE CARIADO NO VOLUME INFILTRADO POR RESINA INFILTRANTE”**, da pesquisadora Andressa Cavalcanti Pires. Protocolo 0589/14. CAAE: 38082314.0.0000.5188.

Outrossim, informo que a autorização para posterior publicação fica condicionada à apresentação do resumo do estudo proposto à apreciação do Comitê.


Andrea Márcia da C. Lima
Mat. SIAPE 1117510
Secretária do CEP-CCS-UFPB