

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

LUDMILA GALINDO FRANÇA GURGEL

**REMINERALIZAÇÃO COM FOSFOPEPTÍDEO DA CASEÍNA FOSFATO DE
CÁLCIO AMORFO DO ESMALTE DENTÁRIO MICROABRASIONADO -
AVALIAÇÃO POR TOMOGRAFIA POR COERÊNCIA ÓPTICA E MICROSCOPIA
ELETRÔNICA DE VARREDURA**

Recife-PE

2015

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

LUDMILA GALINDO FRANÇA GURGEL

**REMINERALIZAÇÃO COM FOSFOPEPTÍDEO DA CASEÍNA FOSFATO DE
CÁLCIO AMORFO DO ESMALTE DENTÁRIO MICROABRASIONADO -
AVALIAÇÃO POR TOMOGRAFIA POR COERÊNCIA ÓPTICA E MICROSCOPIA
ELETRÔNICA DE VARREDURA**

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor em Odontologia com área de concentração em Clínica Integrada. Orientador: Prof. Dr. Cláudio Heliomar Vicente da Silva

Recife-PE

2015

Catálogo na Fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

G979r Gurgel, Ludmila Galindo França.
Remineralização com fosfopeptídeo da caseína fosfato de cálcio amorfo do esmalte dentário microabrasionado - avaliação por tomografia por coerência óptica e microscopia eletrônica de varredura / Ludmila Galindo França Gurgel. – 2015.
43 f.: il.; 30 cm.

Orientador: Cláudio Heliomar Vicente da Silva.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Pós-graduação em Odontologia. Recife, 2015.
Inclui referências e anexos.

1. Microabrasão dentária. 2. Esmalte dentário. 3. Remineralização dentária. I. Silva, Cláudio Heliomar Vicente da (Orientador). II. Título.

617.6 CDD (22.ed.) UFPE (CCS2017-202)

**Remineralização com fosfopeptídeo da caseína fosfato de cálcio amorfo do
esmalte dentário microabrasionado - avaliação por tomografia por coerência
óptica e microscopia eletrônica de varredura**

Ludmila Galindo França Gurgel

TESE APROVADA EM: 31/08/2015

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA:

Prof^o. Dr. Anderson Stevens Leonidas Gomes

Prof^a. Dr^a. Renata Pedrosa Guimarães

Prof^a. Dr^a. Andrea dos Anjos Pontual

Prof^o. Dr. Paulo Fonseca de Menezes Filho

Prof^a. Dr^a. Marcia Maria Fonseca da Silveira

RECIFE – PE

2015

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
REITOR**

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof Dr. Francisco de Souza Ramos

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

COORDENADORA

Profa. Dra. Alessandra Albuquerque Tavares Carvalho

COLEGIADO - MEMBROS PERMANENTES

Profa. Dra. Alessandra Albuquerque Tavares Carvalho

Prof. Dr. Anderson Stevens Leônidas Gomes

Prof. Dr. Arnaldo de França Caldas Junior

Prof. Dra. Bruna de Carvalho Farias Vajgel

Prof. Dr. Carlos Menezes Aguiar

Prof. Dr. Danyel Elias da Cruz Perez

Profa. Dra. Flávia Maria de Moraes Ramos Perez

Prof. Dr. Gustavo Pina Godoy

Prof. Dr. Jair Carneiro Leão

Profa. Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro

Prof. Dr. Luiz Alcino Monteiro Gueiros

Profa. Dra. Maria Luíza dos Anjos Pontual

Profa. Dra. Renata Cimões Jovino Silveira

SECRETARIA

Oziclere Sena de Araújo

Dedico este trabalho à minha família, a motivação maior para que eu busque o meu melhor, e sem dúvida a maior obra de Deus.

AGRADECIMENTOS

À **Universidade Federal de Pernambuco**, na pessoa do Magnífico Reitor Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado, e à Pró-reitoria para Assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação (PROPESQ) da Universidade Federal de Pernambuco, por subsidiar a estrutura necessária à realização deste trabalho.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pelo financiamento deste projeto.

À **Pós-Graduação de Odontologia**, professores e funcionários, pelo empenho em proporcionar uma melhor qualidade ao ensino e ao programa.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Cláudio Heliomar Vicente da Silva**, pela amizade, confiança, apoio e incentivo desde a minha graduação.

Ao meu marido, **Marcelo Viana Gurgel**, meu espelho profissional, meu primeiro amor, companheiro de todas as horas.

Às minhas filhas, **Láís** e **Marcela Galindo França Gurgel**, por ensinarem diariamente o que a ciência não ensina e nem explica.

À minha mãe, **Marluce Galindo França de Oliveira**, por ser um exemplo de pessoa dedicada à família, o seu amor e equilíbrio me inspiraram em minha caminhada.

Ao meu pai, **Jaques França de Oliveira**, por suas palavras de incentivo, suas ricas citações e confiança em meu potencial.

Aos meus irmãos, **Yuri, Anibal e Priscilla** por sua torcida e participação em todas as etapas da minha vida.

Às minhas queridas, **Vó Lai, Tia Glorinha e Tia Iêda**, por todo amor que me dedicam.

À **Família Gurgel** sempre presente e participativa na minha trajetória.

Às amigas da graduação, **Manoela Figueira, Juliana Souto Maior, Joanna Barbosa Imisch e Elizabeth Galamba**, pela amizade, conhecimentos compartilhados, e por serem exemplos de profissionais que dignificam e enaltecem a odontologia.

Às amigas da pós-graduação, **Daene Tenório Salvador e Luana Osório**, pela amizade, conhecimentos compartilhados, e participação fundamental na realização deste trabalho.

Ao hoje cirurgião-dentista **Edgar de Souza Cruz**, outrora aluno de graduação desta instituição, ao qual tive a oportunidade de co-orientar em seu TCC, por sua colaboração nesta pesquisa.

Aos demais **Familiares e Amigos** que sempre entenderam meus momentos de ausência, mas nunca deixaram de estar presentes.

Ao Prof. Dr. **Anderson Gomes Stevens Leônidas**, pelo desprendimento e por permitir o uso dos equipamentos do Departamento de Física.

Aos meus **Colegas do Doutorado**, deste Programa de Pós-Graduação, pelos momentos de ciência e engrandecimento pessoais e profissionais, em especial, **Keila Raposo e Raquel Balaban**.

À **Oziclere Sena de Araújo** e à **Tânia Maria Esteves** pela atenção, carinho, disponibilidade e torcida.

A todos que, de algum modo, contribuíram para a realização desta pesquisa.

RESUMO

As manchas brancas do esmalte dentário são alterações estéticas importantes e as possibilidades conservadoras para eliminá-las são assunto de grande interesse da comunidade odontológica e da população em geral. O objetivo deste estudo foi avaliar a remineralização do esmalte microabrasionado com fosfopeptídeo da caseína fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP), através da tomografia por coerência óptica (OCT) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). A amostra foi composta por 35 terceiros molares humanos hígidos, seccionados ao meio no sentido axial (n=70), distribuída da seguinte forma: G1, controle (n=10), G2, microabrasão com ácido fosfórico 37% (n=30) e G3, microabrasão com ácido hidrocloreídrico 6,6% (Opalustre, Ultradent) (n=30). G2 e G3 foram subdivididos em subgrupos, G2A/G3A, sem agente remineralizante (n=10), G2B/G3B, aplicação de solução remineralizante acetato-flúor (n=10), e os G2C/G3C, com aplicação do gel de fosfopeptídeo da caseína-fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) (n=10). Os resultados mostraram que o OCT detectou as mudanças da superfície dentária microabrasionada e registrou um maior retroespalhamento da luz nas amostras tratadas com ácido hidrocloreídrico 6,6%. G2C se assemelhou ao esmalte dentário hígido. As imagens de MEV confirmaram este achado, exibindo a preservação da morfologia dos prismas do esmalte dentário. Isto sugere que a microabrasão com ácido fosfórico 37% /CPP-ACP é o protocolo mais indicado.

Palavras-chave: Microabrasão dentária. Esmalte dentário. Remineralização dentária.

ABSTRACT

The enamel changes, as well as the possibilities to eliminate them, are subject of great interest to the dental community and the general population. These are important aesthetic changes that deserve attention to establish conservative and efficient protocols. The aim of this study was to compare the remineralization in microabraded enamel by casein phosphopeptide - amorphous calcium phosphato CPP-ACP through by optical coherence tomography (OCT) and scanning electron microscopy (SEM) four microabrasion / remineralization protocols. Therefore, a total of 35 intact human third molars were sectioned in the axial direction, resulting in 70 test specimens. The sample was distributed as follows: G1- control group (n = 10), G2- microabrasion with 37% phosphoric acid (n = 30) and G3- microabrasion with 6.6% hydrochloric acid (Opalustre, Ultradente) (n = 30). G2 and G3 were subdivided into three subgroups: the first without remineralizing agent (n = 10), the second with the application of remineralizing solution containing fluoride (n = 10), and the third application of the CPP-ACP gel (n = 10). The results showed that the OCT was able of registering changes in the optical profile of the tooth surface subjected to microabrasive action, and that 6.6% hydrochloric acid induced optical change, increasing the scattering. The image of the sound enamel resembles those obtained for the group submitted to microabrasion with phosphoric acid, followed by remineralization with CPP-ACP. Electron microscopy confirmed this finding, once exhibited a more regular surface. The results suggest that the microabrasion with 37% phosphoric acid followed by remineralization with CPP-ACP is the safest protocol.

Keywords: Dental microabrasion. Dental enamel. Dental remineralization.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Eletromicrografia do esmalte dentário	15
Figura 2 - Eletromicrografias de varredura de padrões de condicionamento ácido no esmalte	17
Figura 3 - Organograma representativo da distribuição da amostra	23
Figura 4 - Imagens OCT	26
Figura 5 - Eletromicrografias do esmalte hígido e após os protocolos de microabrasão/ remineralização	27

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	O esmalte dentário	15
2.2	Técnicas de microabrasão	17
2.3	Agentes remineralizantes	19
2.4	Tomografia por coerência óptica	20
3	OBJETIVO	21
4	MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1	Considerações éticas	22
4.2	A amostra	22
4.3	Grupos experimentais	22
4.4	Avaliação em OCT	24
4.5	Avaliação em MEV	24
5	RESULTADOS	24
6	DISCUSSÃO	28
7	CONCLUSÕES	31
	REFERÊNCIAS	32
	ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	37
	ANEXO B - Normas para publicação	39

APRESENTAÇÃO

As manchas brancas do esmalte dentário configuram um problema estético de grande impacto no desenvolvimento psicossocial dos indivíduos, merecendo especial atenção. Objetivando reduzi-las ou eliminá-las inúmeras técnicas foram propostas. Dentre elas, a técnica de microabrasão do esmalte destaca-se por atender ao conceito de Odontologia minimamente invasiva que norteia a prática odontológica atual. Os protocolos de microabrasão preconizam o uso de agentes remineralizantes após o procedimento e o flúor é o agente mais comumente empregado. A CPP-ACP é um composto promissor no processo de remineralização e vem sendo extensivamente estudado. O método de OCT para a avaliação dos métodos disponíveis para diagnóstico, prevenção, remineralização e remoção destas manchas se destaca por ser um método de não contato e não destrutivo permite que a mesma amostra seja utilizada e assim viabiliza ensaios clínicos futuros, auxiliando no estabelecimento de protocolos seguros e eficazes.

INTRODUÇÃO

O esmalte dentário é uma estrutura que pode sofrer algumas mudanças patológicas de acordo com fatores sistêmicos de má formação, como a displasia ectodérmica e a hypoplasia; ou fatores de ordem ambiental, como a fluorose. O que todas essas patologias têm em comum é a diminuição do conteúdo mineral do esmalte, originando a chamada mancha branca do esmalte dentário.

Porém, pequenas manchas e defeitos na superfície dentária, independentemente de sua etiologia, podem ser removidas com ação local de materiais ácidos e/ou abrasivos. Para lesões incipientes de cárie, a técnica da remineralização do esmalte pode ser realizada empregando substâncias contendo cálcio e flúor. Apesar da recuperação estrutural, alguns autores relataram que a cor dificilmente volta ao normal; portanto, a reconstituição estética não é atingida (BALDISSERA et al., 1987; SUNDFELD et al., 1990).

Em 1986, Croll; Cavanaugh propuseram a remoção de manchas no esmalte pelo emprego de uma mistura de ácido hidrocloreídrico a 18% com pedra-pomes, para aplicação ativa sobre a área afetada com o auxílio de uma espátula de madeira. Desta forma, pela ação química da solução ácida combinada com o efeito abrasivo da pedra-pomes, a camada mais superficial do esmalte dental era removida, restabelecendo-se a sua coloração. Posteriormente, vários autores relataram sucesso clínico com a utilização dessa técnica (RUSSO et al., 1988; CROLL, 1989; KENDEL, 1989; PAIXÃO et al., 1990; SUNDFELD et al., 1991; CROLL, 1992).

Apesar do sucesso clínico, verificou-se que a concentração do ácido até então utilizado era alta, podendo causar injúrias aos pacientes e/ou profissionais. Neste contexto, foram desenvolvidos materiais e técnicas utilizando agentes ácidos em concentrações mais baixas (SUNDFELD et al., 1991; DONLY et al., 1992). Sundfeld et al. (1990) consideraram que o desgaste com Prema Compound, composto por ácido clorídrico 10%, era mínimo quando comparado com à espessura total de esmalte dentário. Segundo Donly et al. (1992), o uso do Prema Compound proporcionou uma superfície de esmalte excepcionalmente polida e compactada, mais lisa que antes do procedimento. Além dessa característica, quando flúor é

aplicado sobre a superfície submetida à microabrasão o esmalte torna-se menos propenso à desmineralização e à colonização por *S. mutans* (CROLL et al., 1993).

Através de um mínimo desgaste superficial no esmalte, as técnicas de microabrasão são capazes de promover a recuperação estética, atendendo as exigências da Odontologia minimamente invasiva. Este fato vem motivando a realização de estudos com vista à análise da estrutura dental após a realização da técnica, e das alterações relacionadas ao tipo de substância utilizada a fim de promover a remineralização desta estrutura, como o flúor e a caseína fosfato de cálcio. A última é derivada da proteína do leite que estabiliza os íons cálcio e fosfato em solução aquosa e deixando-os biodisponíveis pode promover a remineralização, além de impedir a desmineralização.

REVISÃO DE LITERATURA

O esmalte dentário

O esmalte é a matriz calcificada mais dura do corpo. Quando completamente formado consiste em aproximadamente 96% de componente mineral e 4% de material orgânico e água. O conteúdo inorgânico do esmalte é constituído por cristais de fosfato de cálcio (hidroxiapatita) (NANCI, 2013). É formado, predominantemente, por unidades estruturais em forma de barra denominadas prismas. As zonas periféricas dessas barras, chamadas regiões interprismáticas, completam a estrutura cristalina do esmalte (FIGURA 1). Os cristais de hidroxiapatita densamente empacotados dispõem-se mais ou menos seguindo o longo eixo do prisma (KATCHBURIAN; ARANA, 2004).

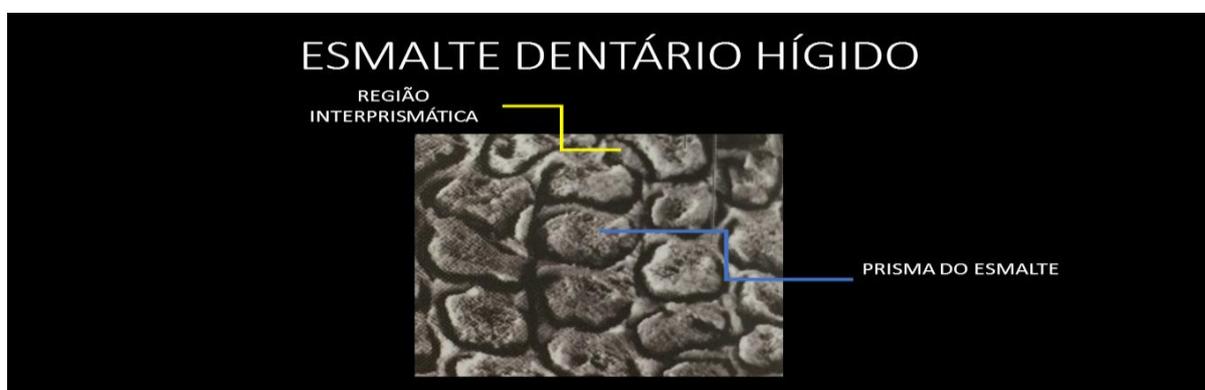


Figura 1 - Eletromicrografia do esmalte dentário destacando o prisma do esmalte e a região interprismática (adaptado do livro Kierszbaum; Tres, 2012).

A suscetibilidade destes cristais à dissolução por ácidos fornece as bases químicas para as cáries dentárias, (NANCI, 2013). No ambiente oral, a estrutura dentária sofre processos de desmineralização e remineralização contínuos. Se esse equilíbrio é rompido, a desmineralização progride, levando a perda estrutural (YAMAGUCHI et al., 2006). Inicialmente, caracteriza-se por uma lesão de mancha branca que está associada à desmineralização da subsuperfície do esmalte dentário, através da perda de cálcio e fosfato dessa região resultando na formação da lesão (REYNALDS, 2006). Nesse estágio, a lesão de cárie é reversível pelo processo de remineralização que envolve a difusão de íons cálcio e fosfato na subsuperfície da lesão para restaurar a perda de estrutura dental (REYNALDS, 2006; GUIRADO et al., 2006).

No entanto, a suscetibilidade desses cristais à dissolução por ácidos, tornou-se uma importante técnica na prática clínica, o condicionamento ácido do esmalte. O uso de selantes para fissuras, a união de materiais de restauração ao esmalte, a colagem de acessórios ortodônticos e a microabrasão envolvem o condicionamento ácido. Ele aumenta a porosidade das superfícies expostas mediante a dissolução seletiva dos cristais. Predominam três padrões de condicionamento. O mais comum é o tipo I, caracterizado pela remoção preferencial da cabeça dos prismas. No tipo II, pelo contrário a região interprismática é preferencialmente removida, e os prismas permanecem intactos. Raramente ocorre o tipo III, o qual é irregular e indiscriminado. Ainda se discute porque os condicionamentos ácidos produzem diferentes padrões de superfície. A opinião mais comum é que o padrão de condicionamento ácido depende da orientação dos cristais (NANCI, 2013) (Figura 2).

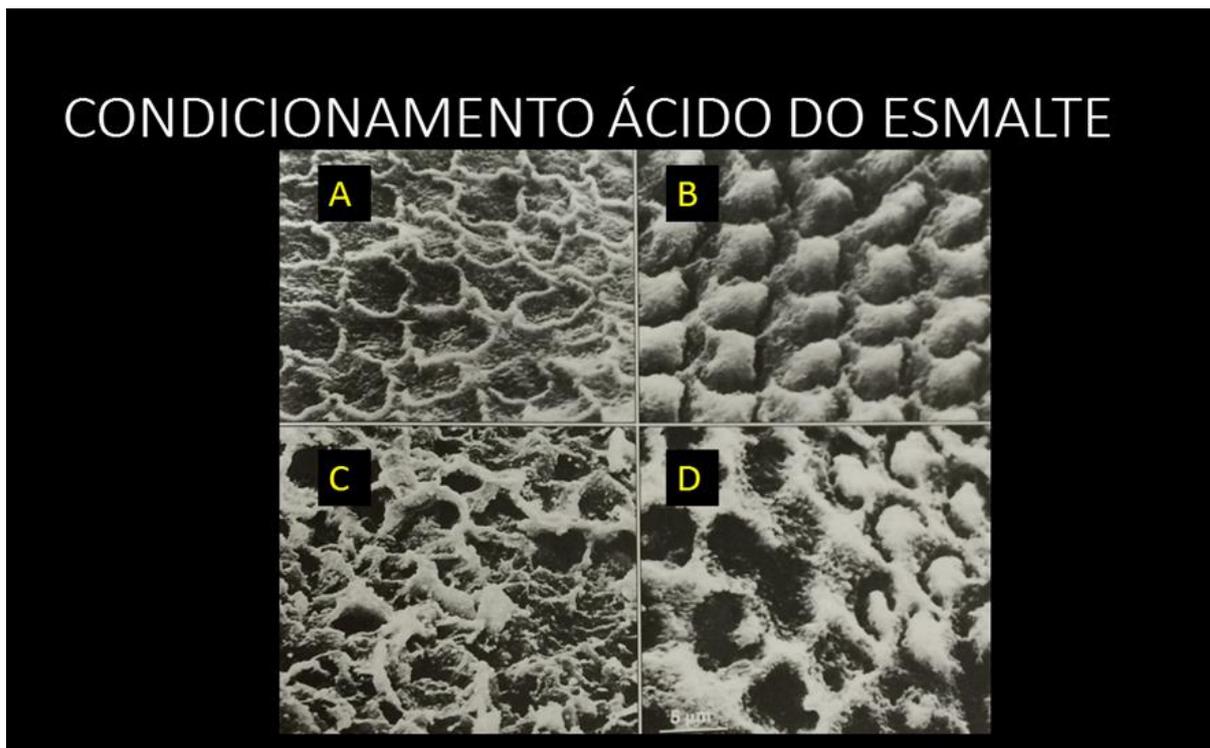


Figura 2 - Eletromicrografias de varredura de padrões de condicionamento ácido no esmalte. A, padrão tipo I: prismas preferencialmente erodidos. B, padrão tipo II: limite entre prismas e esmalte interprismático preferencialmente erodido. C, padrão tipo III: erosão indiscriminada. D, junção entre as zonas de condicionamento tipo I e tipo II. (Cortesia de L. Silverstone apud Nanci, 2013).

Técnicas de microabrasão

A microabrasão consiste na aplicação de um composto ácido e abrasivo na superfície do esmalte, já previamente consagrada como de sucesso para reduzir ou eliminar lesões de mancha branca do esmalte (MURPHY et al., 2007).

Em 1984, McCloskey propôs o uso do ácido hidrocloreídrico 18% para o tratamento das lesões por fluorose. Posteriormente, a técnica de microabrasão do esmalte, descrita por Croll (1986) se propôs eliminar as manchas brancas do esmalte, assim como manchas marrons, amarelas e roxas, independente de sua etiologia. A técnica envolve a aplicação sobre pressão da pasta de pedra pomes com ácido hidrocloreídrico 18% no esmalte descolorido, com controle cuidadoso do procedimento. O processo fundamenta-se na perda de uma quantidade insignificante e irrelevante de esmalte, sempre que a mancha se limitar a uma camada delgada da superfície do dente. A técnica consiste na aplicação da pasta ácido-abrasiva

com auxílio de um mandril e um contra ângulo em baixa rotação, no qual são feitas até 10 aplicações de 20 segundos cada e posterior lavagem abundante entre as aplicações. Depois da microabrasão, é feito um polimento com pasta profilática, contendo flúor em sua composição, seguida da aplicação por 4 minutos do flúor neutro em gel.

Kamp (1989) afirmou que o emprego do ácido fosfórico associado a pedra pomes na forma de uma pasta espessa, tem como vantagens o fato de estar disponível no consultório odontológico, ser menos cáustico que outras soluções ácidas e promover resultados estéticos semelhantes aos de outros ácidos utilizados na técnica de microabrasão.

Chan et al. (1995) procuraram esclarecer o mecanismo deste tratamento. Os autores avaliaram a superfície do esmalte microabrasionado, através da mineralização e a densidade da camada superficial do esmalte, sob a microscopia de luz polarizada após várias aplicações do Prema Compound, ácido clorídrico 10%, além da perda do esmalte no método manual e mecânico. Os resultados revelaram que não houve diferença significativa entre a perda do esmalte na técnica manual ou mecânica. Nenhuma das secções mostrou a região negra ou altamente mineralizada. O que foi confirmado através de microradiografias, nas quais a zona hipermineralizada deveria aparecer mais radiopaca na superfície.

Posteriormente, o ácido fosfórico a 37% foi recomendado com considerável sucesso (KAMP, 1989; MONDELLI et al., 1995; MENDES, 1999). Salientaram que a técnica de microabrasão utilizando pasta composta por ácido fosfórico a 37% e pedra-pomes alcança resultados clínicos satisfatórios, é uma substâncias mais disponível nos consultórios odontológicos, além de promover um menor desgaste do esmalte (TONG et al., 1993).

Tong et al. (1993) verificaram que a utilização apenas do ácido clorídrico a 18% promovia um desgaste de $100 \pm 47 \mu\text{m}$, e que a associação com pedra-pomes aumentava esse valor para $360 \pm 130 \mu\text{m}$. O desgaste proporcionado pelo ácido fosfórico a 37% ou mesmo por agentes clareadores, como o peróxido de hidrogênio, é em torno de $5,5 \pm 1,5 \mu\text{m}$, contrastando com os valores citados anteriormente.

Bassir; Bagheri (2013) compararam duas técnicas de microabrasão: uma com ácido fosfórico e pedra pomes e outra utilizando ácido hidrocloreídrico e pedra pomes. Os autores observaram que ambas as técnicas são efetivas e seguras no tratamento do esmalte desmineralizado e na melhora da aparência dos dentes, no entanto os resultados mais rápidos são obtidos com o composto de ácido hidrocloreídrico e pedra pomes. Todos os sujeitos relataram muita satisfação após a finalização do procedimento de microabrasão.

Agentes remineralizantes

Desde o início, as técnicas de microabrasão, independente do ácido empregado e sua concentração, envolvem a utilização de um agente remineralizante (CROLL, 1986, KAMP, 1989), sendo o fluoreto de sódio neutro o mais descrito na literatura (KAMP, 1989; CROLL, 1990; SUNDFELD et al., 1995; CELIK et al., 2014)

Al-Mulla et al. (2010) compararam o efeito da desmineralização do esmalte e retenção de fluoretos em dois diferentes regimes de escovação – enxágue. A combinação do uso de dentifrício fluoretado 5000ppm F sem enxágue com água tem um melhor potencial anti-cáries e resulta em uma elevada retenção de fluoreto comparado ao dentifrício 1450ppm F com três sessões de enxágue com água após a escovação.

O estudo de Bansal et al. (2011) avaliou o efeito in vivo da remineralização de lesões cáries artificiais do esmalte usando colutório enriquecido em ureia e dentifrícios fluoretados. Observou que em todos os grupos houve remineralização, entretanto o colutório enriquecido em ureia proporcionou o efeito completo, isto é, tanto na superfície quanto na subsuperfície, houve ganho mineral (67% da amostra), enquanto o grupo do dentifrício fluoretado 43% da amostra evidenciou ganho mineral em ambas as zonas. No grupo dos dentifrícios não-fluoretados também ocorreu remineralização, no entanto, foi limitada igualmente a superfície ou a subsuperfície.

A aplicação do CPP-ACP é um método extensamente estudado de remineralização, devido a característica de proporcionar o depósito de baixas concentrações de cálcio e flúor. O complexo CPP-ACP age como um reservatório de cálcio e fosfato ajudando a manter o estado de supersaturação destes minerais, o

qual pode aumentar a remineralização (REYNOLDS, 1997). Atualmente, essa substância está disponível em vários géis, cremes e mousses e pode ser também incorporado em chicletes (PLISKA et al., 2012).

O conceito do CPP-ACP como agente remineralizante foi primeiramente postulado em 1998. São compostos nanocomplexos derivados da proteína do leite bovino, caseína, cálcio e fosfato. Estudos subsequentes demonstraram que CPP-ACP tem atividade anticariogênica em experimentos laboratoriais, em animais e em humanos *in situ*. Estudos modernos sobre a progressão requerem a mensuração de pequenas alterações no conteúdo mineral do esmalte, principalmente em uma lesão de cárie isolada (REYNALDS, 2006).

Pithon et al. (2015) avaliaram a efetividade do verniz com CPP-ACP para prevenir lesões de cáries ao redor dos braquetes utilizando a técnica de OCT e concluíram que a aplicação do verniz contendo CPP-ACP independentemente de ser associado a escovação ou enxaguatórios reduz a profundidade das cáries ao redor dos braquetes.

Alves et al. (2008) investigaram a eficácia do fosfopeptídeo de caseína estabilizador do fosfato de cálcio amorfo após o tratamento ortodôntico e observaram a redução dos valores e das áreas das lesões após 4 semanas. No entanto a melhora não foi superior a regressão natural com o uso diário do dentífrico fluoretado.

O estudo de Beerens et al. (2010) comparou *in vivo* os efeitos do dentífrico CCP-ACP versus o dentífrico controle na remineralização de lesões de manchas brancas do esmalte e na composição da placa e não observaram vantagens no uso do dentífrico com CCP-ACP para suplementar a higiene oral normal durante 12 semanas.

Tomografia por coerência óptica

A Tomografia de Coerência Óptica (OCT - Optical Coherence Tomography) é uma nova modalidade de diagnóstico utilizada para produzir imagens seccionais em cortes de alta resolução, através de um método de não-contato das estruturas de subsuperfície (FERCHER et al., 2003; YUN et al., 2003). Vem sendo aplicada no diagnóstico de diferentes doenças, como na área de Oftalmologia e Dermatologia.

Segundo Fujimoto (2003), o OCT possui uma capacidade de penetração em profundidade de até 3mm, resultando em uma imagem de resolução de 1 a 20 μm , com uma ou duas ordens de magnitude maior que o ultrassom convencional (FUJIMOTO, 2003; WOJTKOWSKI, 2010). Além disso, a técnica permite que imagens sejam adquiridas de forma não invasiva, em secções transversais de alta resolução, mostrando detalhes microestruturais dos tecidos vivos in situ, através da medição da luz refletida ou transmitida por meio de um tecido biológico (HUANG, 1991).

O valor clínico das imagens do OCT depende de fatores óbvios, tais como alta resolução, alta velocidade de obtenção da imagem e contraste adequado para discriminar as diferenças teciduais (WESSELS et al., 2014). Na Odontologia, as técnicas de monitoramento óptico são métodos promissores que muito tem contribuído nas áreas de periodontia e cariologia. A característica não-invasiva do método permite o monitoramento óptico da perda mineral dentária, de forma mais específica e sensível, antes mesmo da detecção da cárie pelos métodos tradicionais. Além disso, resguarda a estrutura do esmalte dentário essencial a remineralização de lesões cáries incipientes, quando o desafio cariogênico é reequilibrado por medidas como orientação de higiene oral e fluoroterapia, sendo também utilizado no monitoramento da remineralização por ações preventivas no tratamento da cárie (NEERMANN, 2009).

O início da lesão de cárie ocorre porque há um desequilíbrio do desafio cariogênico, ocorrendo maior perda mineral na camada externa de esmalte, que é birrefringente devido à organização dos cristais de hidroxiapatita. As medidas iniciais do esmalte dental sadio, através da técnica de OCT, enfatizam a caracterização da birrefringência do tecido. O aumento nas mudanças de polarização e retroespalhamento causadas pela desmineralização do esmalte dental têm sido documentados por vários autores que estudam a aplicação da técnica de OCT em dentes, embora os princípios teóricos dos efeitos de despolarização e espalhamento da luz polarizada incidente não estejam bem definidos (JONES; FRIED, 2006).

OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi avaliar a remineralização do esmalte microabrasionado por fosfopeptídeo da caseína fosfato de cálcio amorfo,

empregando a tomografia por coerência óptica (OCT) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

MATERIAL E MÉTODOS

Considerações éticas

A pesquisa foi iniciada após aprovação no Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos (CEP), (CAAE: 02285012.8.0000.5208) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

A amostra

A amostra foi composta por 35 dentes humanos, terceiros molares, hígidos, cedidos pelo Banco de Dentes da UFPE. Os dentes foram seccionados no sentido gerando 70 corpos de prova. Após a secção, os corpos de prova foram fixo em sua parte seccionada, separadamente, em pequenas bases planas de resina acrílica incolor, autopolimerizável, JET de modo que facilitasse o manuseio das amostras durante a técnica de microabrasão do esmalte. Dentes com fraturas, defeitos no esmalte e irregularidades macroscópicas graves foram excluídos.

Grupos experimentais

A amostra foi dividida em 03 grupos sendo: G1 (n=10), o grupo controle, esmalte íntegro; G2 (n=30), o grupo submetido à microabrasão com ácido fosfórico à 37% associada à pedra pomes de granulação extra fina na proporção de 1:1 e o G3 (n=30) grupo submetido à microabrasão com ácido Hidroclorídrico a 6,6% (Opallustre - Ultradent). Em ambos os grupos teste as pastas foram aplicadas às superfícies do esmalte de forma mecânica com pontas de borracha abrasiva em baixa velocidade por 10 segundos, e em seguida lavada por 20 segundos com jatos de ar e água e seca posteriormente. Foram realizadas 10 aplicações (BAYSAL, 2012).

Os grupos teste G2 e G3 foram divididos em 3 subgrupos representados por G2A (n=10) e G3A (n=10), grupo microabrasionado e sem remineralização posterior, mantido em água destilada G2B n=10), G3B (n=10) ambos microabrasionados e posteriormente mantido em solução remineralizante (solução tampão de acetato –

flúor (1,5 mmol/L Ca^{2+} + 0,9 mmol/L fosfato + 150 mmol/L KCl+ 20 mmol/L cacodylate) pH 7, 37°C + 2 ppm F (NaF), por 11 dias, e o terceiro subgrupo G2C (n=10), G3C (n=10) grupo microabrasionado com posterior remineralização com fosfopeptídeo de caseína - fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP). Nesse grupo o gel CPP-ACP I GC Tooth Mousse da Recaldent (GC Corp, Tokyo, Japan) foi aplicado à superfície desmineralizada. Nos dois subgrupos G2c e G3c o agente foi deixado em repouso na superfície do esmalte por 5 minutos e depois lavados com água destilada. Após 6 horas o agente foi reaplicado de forma tópica usando o mesmo método. Esse procedimento foi repetido 10 vezes para remineralização. Durante esses ciclos os dentes foram mantidos em saliva artificial (BAYSAL et al., 2012) (Figura 3).

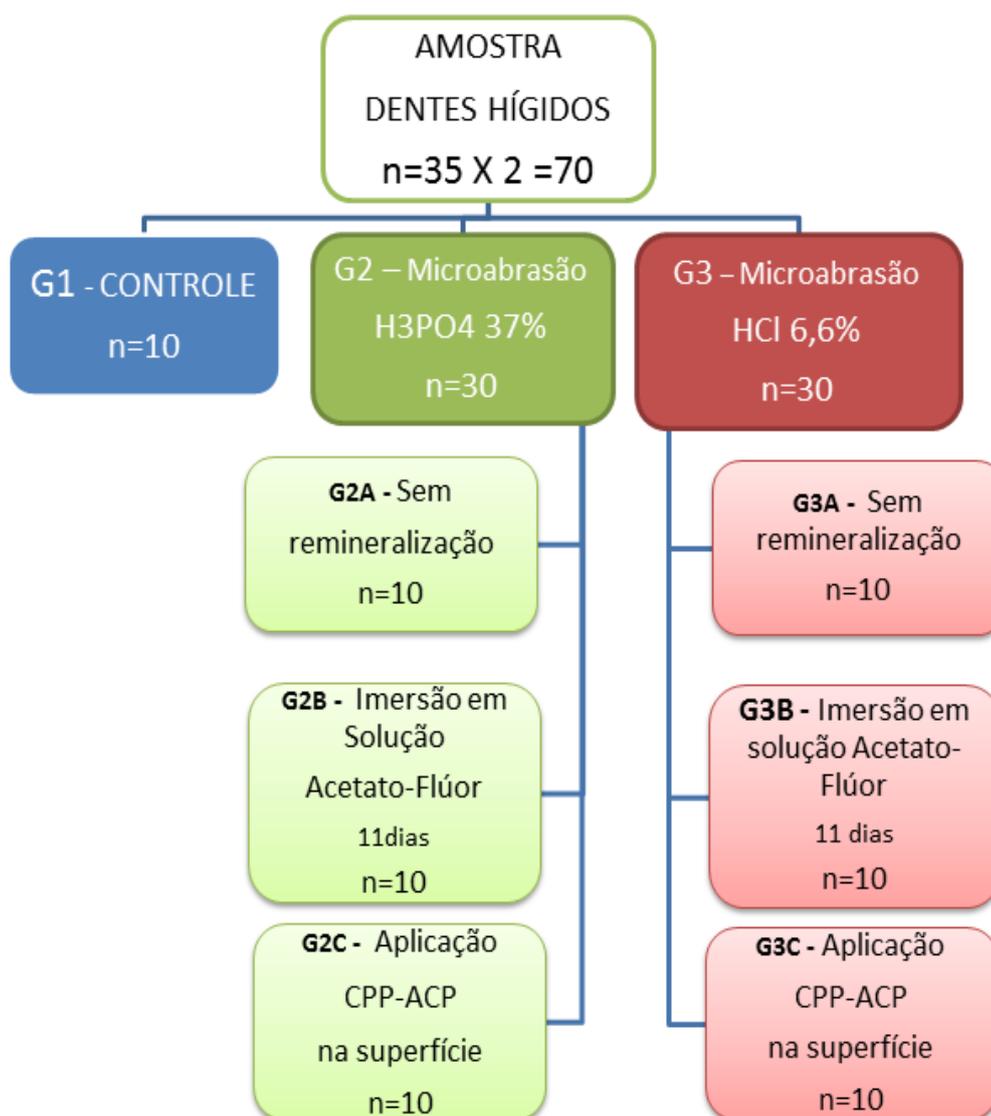


Figura 3 - Organograma representativo da distribuição da amostra.

Avaliação em OCT

Para a análise com o OCT, as amostras foram preparadas da seguinte forma: as amostras com superfície ligeiramente umedecidas foram colocadas na bandeja do aparelho, o ângulo de incidência da luz do OCT foi mantido em aproximadamente 90°. Desta forma, evitou-se que as diferenças na morfologia de superfície e no ângulo de incidência interferissem na refletividade e na profundidade de penetração da luz (KATO, 2009). Para a análise de imagem, um código personalizado no software de análise de imagens foi usado para ler os dados brutos da OCT (modo 2D imaging setup, 1200 X pixels, 6.00 X width, 512 Z pixels, 1.77 Z depth). O controle do feixe de varredura: X shift (mm) 5.0, Y shift (mm) 5.0 e orientation (degret) 0.0. O contraste estabelecido foi 0,5 e o brilho -70.

Avaliação em MEV

O método de preparação das amostras para serem analisadas no MEV consistiu da passagem das mesmas por uma estufa biológica para que pudessem estar totalmente secas, e posteriormente foram metalizadas à ouro, em uma espessura de 20 nm. Após a metalização, as amostras foram fixadas numa bandeja de metal para análise em microscópio eletrônico de varredura JSM 5900, JEOL, 12 mA, 30KV.

RESULTADOS

As imagens de OCT detectaram a desmineralização do esmalte após as duas técnicas de microabrasão. Observou-se diferença no contraste entre as cores branco e preto nas imagens obtidas após o processo de alteração mineral promovido pela microabrasão nas amostras. A diferença do sinal retroespalhado nas amostras pôde ser observada pelas cores branca, que representa um sinal de maior intensidade, e preta corresponde a um sinal de menor intensidade.

A imagem A da figura 4 corresponde ao esmalte hígido. Nesta imagem foi observado um sinal intenso na interface ar/esmalte e uma rápida diminuição do sinal à medida que a luz se propaga em camadas mais profundas da amostra.

Após a microabrasão (imagens B e C da figura 4), notou-se uma reflexão

intensa na interface, similar ao esmalte hígido; porém a intensidade do sinal nas camadas abaixo da superfície das amostras de ambos os grupos aumentou indicando perda mineral. Em ambas as técnicas houve esta redução, no entanto, a microabrasão com o ácido clorídrico 6,6%% o retroespalhamento ficou mais evidente.

Os espécimes posteriormente submetidos à remineralização apresentaram comportamento contrário, um aumento da refletividade da luz, o que se justifica pelo depósito de minerais na superfície do esmalte, que voltou a se comportar semelhante ao esmalte sadio.

Os agentes remineralizantes, flúor e CPP-ACP, foram eficientes em promover a remineralização do esmalte. Houve um ganho, discretamente maior, dos espécimes tratados com a microabrasão utilizando a pasta de ácido fosfórico 37% e a remineralização com o gel de CPP-ACP (imagem G, Figura 4).

Quando analisadas, as eletromicrografias mostram uma maior desorganização do esmalte, comparado ao esmalte hígido (figura 5), quando a superfície foi tratada com a pasta microabrasiva à base de ácido hidrocloreídrico 6,6% (Figura 5).

O padrão de mineralização também se comportou de forma diferente apontando uma superfície mais regular quando o ácido hidrocloreídrico foi empregado, com um maior depósito mineral em ação combinada com a caseína.

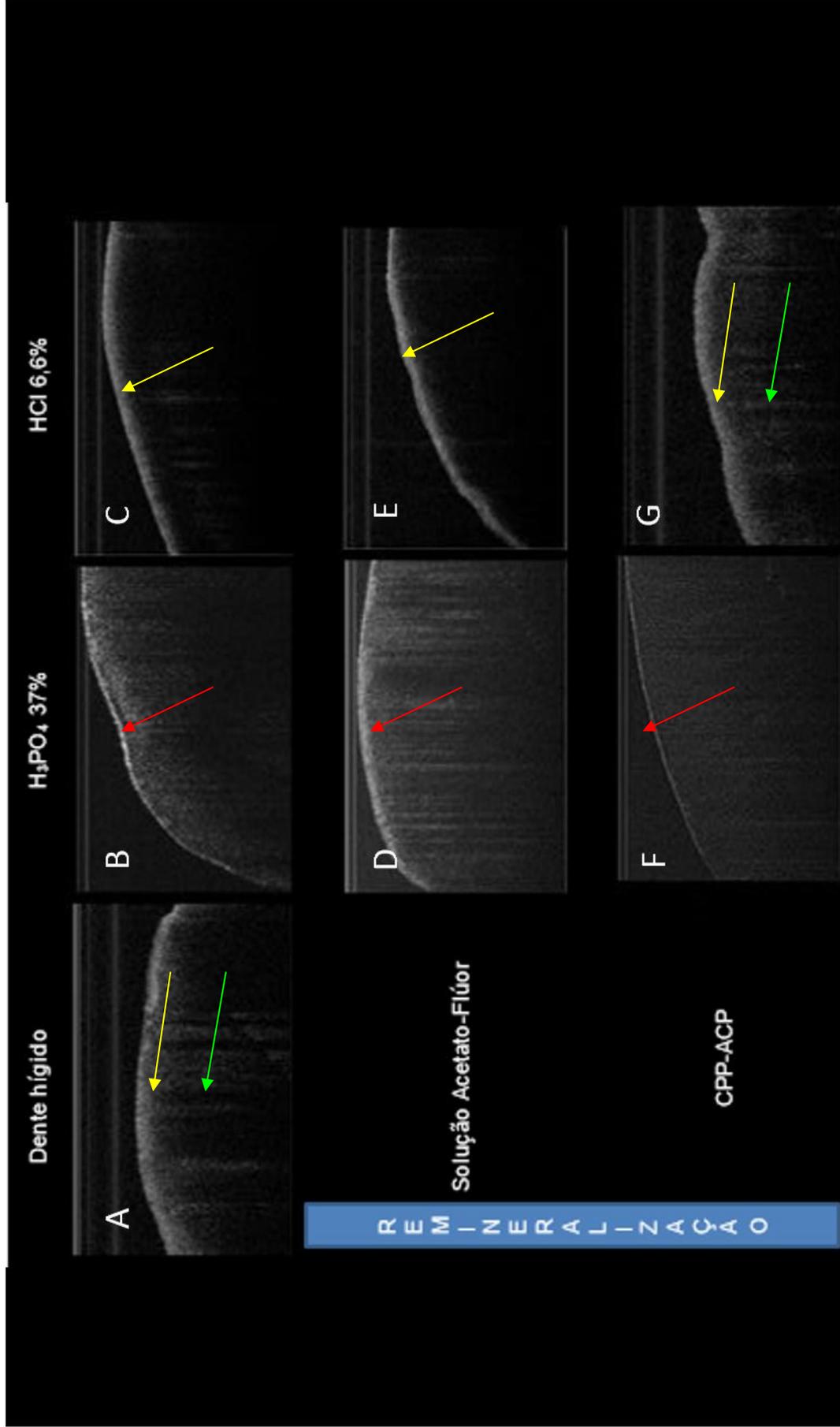


Figura 4 – Em A a caracterização do esmalte hígido, com penetração do feixe de luz e visualização da dentina subjacente, após a microabrasão em B com HCl 6,6%, uma maior refletividade óptica, em C com H₃PO₄ 37%, um maior retroespalhamento, diminuindo a penetração do feixe e a nitidez dos tecidos subjacente. D e E, solução acetato-flúor, diminuiu a refletividade óptica com o aumento da largura da zona de superfície. F diminuiu a refletividade da luz, sem aumento da largura da zona de superfície. G exibe uma refletividade semelhante à observada em A.

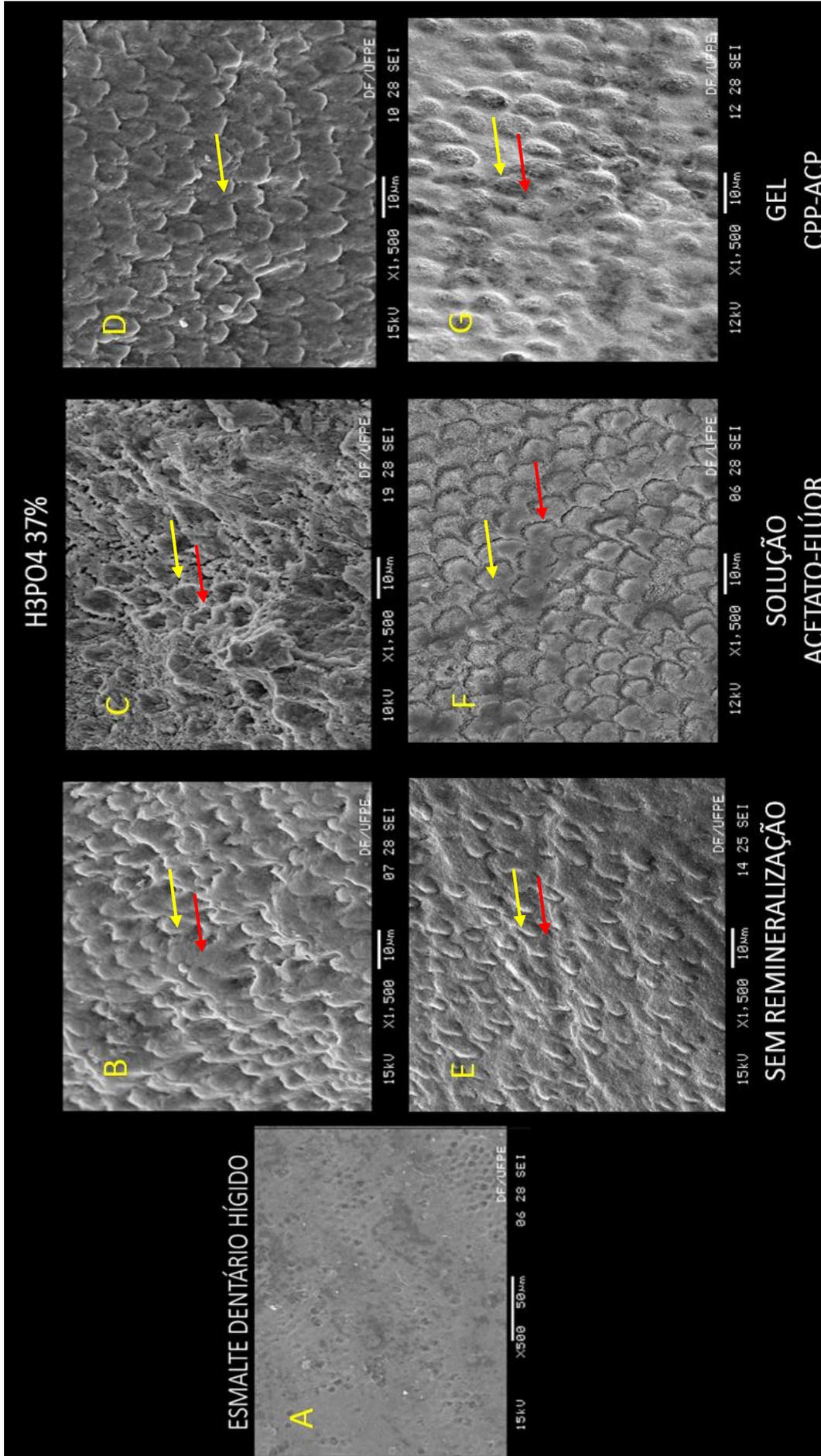


Figura 5 – Eletreomicrografias do esmalte hígido (A) e após os protocolos de microabrasão/ remineralização do esmalte nos grupos tratados com pasta de ácido fosfórico 37% (B) o padrão erosivo agindo preferencialmente na região interprismática, no grupo tratado com pasta de HCl 6,6% (E) houve uma ação indiscriminada nos prismas e região interprismática. Após a imersão em solução remineralizante Acetato-Fluór (C, D) o depósito mineral provomendo uma superfície mais regular em D e a aplicação do gel CPP-ACP (F, G), os grupos D e F o depósito ocorreu reestruturando o esmalte e no grupo tratado com pasta de ácido hidroclorídrico 6,6%/ CPP-ACP depósito foi generalizado nos prismas e região interprismática, proporcionando uma superfície homogênea.

DISCUSSÃO

É um desafio simular o complexo processo de desmineralização e remineralização que ocorre na cavidade oral em um simples modelo *in vitro*. Acredita-se que o processo de remineralização *in vitro* não é uma simples deposição mineral superficial que leva a interrupção da lesão. Suspeita-se que se deva, principalmente, ao reparo existente dos cristais do esmalte remanescente (SILVERSTONE et al., 1981).

Os resultados DE Jones, Fried (2006), Louie et al. (2010), Lee et al. (2014) indicaram que o PS-OCT é capaz de medir, de modo não destrutivo, a desmineralização inicial do esmalte nas superfícies vestibular e oclusais *in vitro* e *in vivo*, bem como a remineralização. De forma similar neste estudo, o aparelho de OCT também se mostrou eficaz em identificar a desmineralização do esmalte, promovida pela microabrasão e alterações do esmalte advindas do emprego dos agentes remineralizantes.

As formas de análise dos sinais gerados em cada momento e a interpretação dos resultados obtidos basearam-se nas alterações que ocorrem no retro-espalhamento da luz e, portanto, na intensidade do sinal detectado após a desmineralização e remineralização (KATO, 2009). Em lesões de desmineralização de esmalte o coeficiente de espalhamento é relativamente maior que em esmalte sadio. Quanto maior refletividade do esmalte menor a birrefringência e menor espalhamento (FRIED, 2002). A microabrasão promoveu um efeito erosivo na superfície do esmalte, mostrando imagens com aumento do espalhamento e uma menor refletividade da lesão (Imagens B e C Figura 4).

Em concordância com os achados desse estudo Louie et al. (2010) quantificaram a correlação da atenuação das medidas ópticas no esmalte desmineralizado em 1,310 nm em função da perda mineral, a perda de 5% do volume mineral percentual produz um aumento de 20 vezes no espalhamento da luz, enquanto que a perda de 10-15% dá um aumento máximo de espalhamento da luz de 50 vezes.

Os espécimes posteriormente submetidos à remineralização apresentaram comportamento contrário, uma diminuição do espalhamento da luz, o que se justifica

pelo depósito de minerais na superfície do esmalte, devido ao preenchimento dos poros como relatado previamente por Fried (2002).

Jones; Fried (2006) observaram que o aumento no volume mineral proveniente da melhora pela solução remineralizadora com Flúor diminuiu a refletividade óptica das lesões artificiais com o aumento da largura da zona de superfície. Entretanto, a refletividade não diminuiu significativamente no corpo subjacente a lesão após a remineralização. Isto é importante para considerar que o corpo da lesão não remineraliza nos mesmos níveis que a zona de superfície. Houve uma dramática redução do espalhamento entre as regiões de 70-86% do nível volume mineral, a qual foi similar às mudanças vistas próximas à zona de superfície. Em contraste, o esmalte desmineralizado, com perda entre 30 e 70% do volume mineral, não teve diferença significativa na intensidade do espalhamento, deste modo explicando a refletividade similar ao corpo da lesão após o tratamento. O provável mecanismo é que o volume de poros pode ter diminuído no corpo da lesão por uma redução em todos os tamanhos dos poros, mas o número dos poros permanece alto. Também, o corpo da lesão pode não ter sido reparado por um arranjo de cristais organizados, devido ao volume de perda da desmineralização. Estes achados explicam os resultados observados nas imagens de OCT, onde a perda mineral é melhor evidenciada no grupo submetido à microabrasão com ácido hidrofosfórico 6,6%, por sua ação erosiva maior e também por promover uma superfície mais regular gerando maiores alterações nas propriedades ópticas do esmalte.

As eletromicrografias ajudaram a elucidar esses achados mostrando que as superfícies do esmalte microabrasionado com ácido fosfórico 37% exibiu uma seletividade de ação pela região interprismática, enquanto o ácido clorídrico 6,6% agiu de forma indiscriminada sobre os prismas e a região interprismática, proporcionando uma superfície mais regular. Em concordância com os resultados de DONLY et al. (1992) ao avaliar, através de microscopia eletrônica de varredura, dentes hígidos submetidos à microabrasão com Prema compound, ácido clorídrico 10% apresentaram superfície mais lisa que antes desse procedimento.

O protocolo com ácido fosfórico 37%/ CPP-ACP evidenciou uma superfície semelhante ao esmalte sadio com preservação dos prismas e a da região

interprismática, esse arranjo do depósito mineral gerou imagens OCT desse grupo experimental muito próximas à do imagem do dente hígido.

O estudo de Pliska et al. (2012) avaliou in vitro os efeitos da aplicação da pasta de CPP-ACP e do tratamento de microabrasão na remineralização de lesões de mancha branca do esmalte artificiais induzidas em dentes bovinos utilizando o método de Quantificação da Fluorescência induzida por Luz (QLF) e concluiu que a pasta de CPP-ACP sozinha não aumenta significativamente o valor de fluorescência. Contrariamente, apesar das limitações do estudo in vitro, demonstrou que a microabrasão com ou sem CPP-ACP, aumenta fluorescência e também reduz a mancha branca do esmalte, o presente estudo observou que a CPP-ACP quando empregada após a microabrasão com ácido hidroclorídrico 6,6% levou ao depósito de minerais maior e de forma generalizada e proporcionou um superfície mais regular.

CONCLUSÕES

As imagens obtidas no OCT, indicam que o protocolo de microabrasão com ácido fosfórico 37% seguido da aplicação do gel de caseína é capaz de devolver ao esmalte um retroespalhamento similar ao esmalte hígido, enfatizado pela presença de uma superfície mais regular constatada na avaliação em MEV. A capacidade do OCT para detectar a desmineralização e a remineralização do esmalte promovida pela microabrasão e CPP-ACP respectivamente, viabiliza a realização de estudos *in vivo* para comparação entre as técnicas.

REFERÊNCIAS

1. B. A. BALDISSERA, J. C. DIAS, A. L. S. BUSATO, Remineralização de cáries incipientes. RGO, 35 (5) 388-391(1987).
2. R.H. SUNDELD, J. KOMATSU, M. RUSSO, C. HOLLAND JUNIOR, M.A.M. CASTRO, L.P.A.S. QUINTELLA et al. Remoção de manchas no esmalte dental. Estudo clínico e microscópico. Rev Bras Odontol. 47(3), 29-34, (1990).
3. T.P. CROLL, R.R. CAVANAUGH, Enamel color modification by controlled hydrochloric acid-pumice abrasion. I. Technique and examples. Quintessence Int. 17(2), 157-64, (1986).
4. MCCLOSKEY, R. J. A Técnica for removal of fluorosis stains. J. Am. Dent. Assoc. 109, 63-64 (1984).
5. M.C. RUSSO, J.N. ANDRIONI, C. PERCINOTO, R.F. CUNHA. Descoloração de dentes vitais: remoção de esmalte com alteração de cor por abrasão/descalcificação. RGO. 36(4), 278-80, 1988.
6. T.P. CROLL, Enamel microabrasion: the technique. Quintessence Int.; 20(6), 395-400 (1989).
7. R.L. KENDELL, Hydrochloric acid removal of Brown fluorosis stains: clinical and scanning electron micrographic observations. Quintessence Int. 20(11), 837-9 (1989).
8. R.F. PAIXÃO, S.M. PAIVA, D.L. CARCERERI, L.F. CAPELLA, R.H.H. SILVA, Clareamento de dentes manchados pela fluorose. RGO. 38(2), 83-6 (1990).
9. SUNDFELD RH, KOMATSU J, MESTRENER SR, HOLLAND JUNIOR C, QUINTELLA LPAS, CASTRO MAM et al. Remoção de manchas e de irregularidades superficiais no esmalte dental. Ambito Odontol. 1991; 1(3/4): 63-6.
10. T.P. CROLL, Enamel microabrasion followed by dental bleaching cases reports. Quintessence Int. 23(5), 317-21 (1992).

11. K.J. DONLY, M. O'NEILL, T.P. CROLL, Enamel microabrasion: a microscopic evaluation of the "abrasion effect". *Quintessence Int.* 23(3), 175-9 (1992).
12. T.P. CROLL, Hastening the enamel microabrasion procedure. Eliminating defects, cutting treatment time. *J Am Dent Assoc.* 124(4), 87-90(1993).
13. A.NANCI, Ten Cate *Histologia Oral*, pp. 122-164, Esmalte: composição estrutura e formação, Elsevier, Rio de Janeiro (2013).
14. KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. *Histologia e Embriologia Oral*, pp.235-274, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro (2004).
15. A.L. KIERSZEMBAUM, L.L.TRES, *Histologia e Biologia Celular*, pp. 447-454, Elsevier, Rio de Janeiro (2012).
16. K. YAMAGUCHI, M. MIYAZAKI, T. TAKAMIZAWA, H. INAGE, B.K. MOORE, Effect of CPP-ACP paste on mechanical properties of bovine enamel as determined by an ultrasonic device. *J Dent.* 34, 230–6 (2006).
17. E. C. REYNOLDS, Casein phosphopeptide – amorphous calcium phosphate and the remineralization of enamel. *US DENTISTRY*, 51–54 (2006).
18. T. GUIRADO, F. MENDES, A. BENGTSON, S. PINHEIRO, Contagem de *Streptococcus mutans* do tecido cariado de dentes decíduos e permanentes. *Revista APCD*, 60(3), 212 (2006).
19. T.C.MURPHY, D.R. WILMOT, H.D. RODD, Management of postorthodontic desmineralized white lesions with microabrasion: a quantitative assessment. *Am J Orthod Dentofacial*, 131, 27-33 (2007).
20. A.A. KAMP, Removal of White Spot lesions by controlled acid-pumice abrasion. *J. Clin.Orthod*, 23(10), 690-3 (1989).
21. D.C. CHAN, M.L. HOWELL, K.B. CARRAWAY, F. GARCIA-GODOY. Polarized and transmitted light microscopic study of enamel after microabrasion. *Quintessence Int*, 26(1), 57-62 (1995).
22. J. MONDELLI, R.F.L. MONDELLI, M.T.A.A. BASTOS, E.B. FRANCO,

- Microabrasão com ácido fosfórico. *Rev Bras Odontol*, 52(3), 20-2 (1995).
23. R.F. MENDES, Avaliação da quantidade de desgaste, da textura e da morfologia do esmalte dental submetido à técnica de microabrasão . [tese de doutorado em Dentística Restauradora]. Bauru: Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, 1999.
 24. L. S. M.TONG, M. K. M. PANG, N. Y. C MOK, N. M. KING, S. H. Y. WEI, The effects of etching, micro-abrasion and bleaching on surface enamel. *J Dent Res*, 72(1), 67-71 (1993).
 25. M.M. BASSIR, G. BAGHERI, Comparison between phosphoric acid and hydrochloric acid in microabrasion technique for the treatment of dental fluorosis, *J Conserv Dent*, 16(1), 41–44 (2013).
 26. E.U.CELIK, G. YILDZ, B.YASKAN, Comparision of enamel microabrasionwith combined approach to the esthetic management of fluorose teeth. *Oper Dent*, 38(5) E-134- E-143 (2013).
 27. K. BANSAL, K.GAUBA, A.TEWARI, H.S.CHAWLA, A.SAHNI, In vivo remineralizationof artificial enamel carious lesions using a mineral enriched mouthrinse and fluoride dentifrice: a polarized light microscopic comparative evaluation. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, 28(4), 264-70 (2010).
 28. E.C. REYNOLDS, Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res*, 76(9), 1587-95 (1997).
 29. B. T. PLISKA, G. A. WARNER, D. TANTBIROJN, B. E. LARSON,. Treatment of White spot lesions with ACP paste and microabrasion. *Angle Orthod*, 82(5), 765-769 (2012).
 30. P. V. M. ALVES, W. S. ALVIANO, A. M. BOLOGNESE, L.I.NOJIMA, Treatment protocol to control *Streptococcus mutans* level in an orthodontic patient with high caries risk. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 133(1), 91- 94 (2008).
 31. BEERENS M.W., VAN DER VEEN M.H., VAN BEEK H., TEN CATE J.M.

- 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.* 118(6), 610-7, 2010.
32. PITHON, M.M., DOS SANTOS, M.J., ANDRADE, C.S., LEÃO FILHO, J.C., BRAZ, A.K., DE ARAUJO, R.E., TANAKA, O.M., FIDALGO, T.K., DOS SANTOS, A.M., MAIA, L.C.. Effectiveness of varnish with CPP-ACP in prevention of caries lesions around orthodontic brackets: an OCT evaluation. *Eur J Orthod.* 37(2):177-82 (2015).
 33. A. F. Fercher, W. Drexler, C. K. Hitzenberger , T.Lasser. Optical coherence tomography—principles and applications. *Rep. Prog. Phys.* 66, 239–303 (2003).
 34. M.S.YUN, D. T. Frayer, E. I. Robson ,R. P. J. Tilanus, Multiwavelength Observations of the Gas-rich Host Galaxy of PDS 456: A New Challenge for the ULIRG-to-QSO Transition Scenario. *The Astrophysical Journal*, 601, 723-734 (2003).
 35. J. G. FUJIMOTO, Optical coherence tomography for ultrahigh resolution in vivo imaging. *Nature Biotechnology*, 21, 1361 - 1367 (2003).
 36. M. WOJTKOWSKI, High-speed optical coherence tomography: basics and applications. *Applied Optics*, 49 (16), D30-D61(2010)
 37. D. HUANG, E.A. SWANSON, C.P. LIN, J.S. SCHUMAN, W.G. STINSON, W. CHANG, M.R. HEE, T. FLOTTE, K. GREGORY, C.A. PULIAFITO, et al. Optical coherence tomography. *Science.* 254 (5035), 1178-1181 (1991).
 38. R. WESSELS , D.M. DE BRUIN , D.J. FABER , T.G. VAN LEEUWEN , M. VAN BEURDEN , T.J. RUERS, Optical biopsy of epithelial cancers by optical coherence tomography (OCT). *Lasers Med Sci.* 29(3),1297-305 (2014).
 39. V.F.G.NEERMAN, Caracterização do processo de desmineralização em esmalte humano através da tomografia por coerência óptica, [dissertação de mestrado Mestre Profissional na área de LASER em Odontologia. São Paulo: Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, 2009.

40. (2009) Universidade de São Paulo.
41. I. T. KATO, Avaliação dos efeitos promovidos pela radiação azul na remineralização do esmalte dentário in vitro, [tese de doutorado em Ciências na área de Tecnologia nuclear-materiais. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2009.
42. R. S. JONES, D. FRIED, Remineralization of enamel caries can decrease optical reflectivity. *J Dent Res*, 85(9) 804-807 (2006).
43. T. LOUIE, C. LEE, D. HSU, K. HIRASUNA, S. MANESH, M. STANINEC, C.L. DARLING, D.C. FRIED, Clinical assessment of early tooth demineralization using polarization sensitive optical coherence tomography, *Lasers Med Surg*. 42(10), 738-745 (2010).
44. R.C. LEE, H. KANG, C.L.DARLING, D. FRIED, Automated assessment of the remineralization of artificial enamel lesions with polarization – sensitive optical coherence tomography. *Opt. Express*. 5(9):2950-2962 (2014).
45. D. FRIED, J. XIE, S. SHAFI, T.M.FEATHERSTONE, Imaging caries lesions and lesions progression with polarization-sensitive optical coherence tomography, *J Biomed Opt*, 7(4), 618-627 (2002).

ANEXO A

Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa

Plataforma Brasil - Ministério da Saúde

Universidade Federal de Pernambuco Centro de Ciências da Saúde / UFPE-CCS

PROJETO DE PESQUISA

Título: Avaliação da superfície do esmalte microabrasionado através de imagens de OCT.

Área Temática:

Pesquisador: CLAUDIO HELIOMAR VICENTE DA SILVA

Versão: 1

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

CAAE: 02285012.8.0000.5208

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 67214

Data da Relatoria: 01/08/2012

Apresentação do Projeto:

Introdução: Devido ao seu caráter óptico, muitas vezes irreversível, as manchas brancas do esmalte (hipoplásicas ou por cárie) merecem especial atenção. A avaliação dos métodos disponíveis para diagnóstico, prevenção, remineralização e remoção destas manchas são importantes para o estabelecimento de protocolos seguros e eficazes.

Amostra: Será composta por 35 dentes humanos posteriores hígidos cedidos pelo Banco de Dentes da Universidade Federal de Pernambuco que serão seccionados sentido mesio-distal gerando 80 corpos de prova.

Procedimentos: dois tipos de procedimentos de abrasão do esmalte em dois grupos diferentes e comparados com um grupo sem abrasão.

Avaliações: Determinação da profundidade da lesão por tomografia de coerência ótica.

Objetivo da Pesquisa:

Comparar as alterações sofridas pelo esmalte com emprego de dois diferentes métodos de microabrasão através da técnica de tomografia por coerência óptica e microscopia eletrônica de varredura.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não se aplica

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de pesquisa in vitro para avaliar procedimento terapêutico

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados

Recomendações:

Nenhuma

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.



Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado aprova o parecer do protocolo em questão para início da coleta de dados. Projeto foi avaliado e sua APROVAÇÃO definitiva será dada, por meio de ofício impresso, após a entrega do relatório final ao Comitê de Ética em Pesquisa/UFPE

RECIFE, 05 de Agosto de 2012



Assinado por:

GERALDO BOSCO LINDOSO COUTO

Dr.ª Prof.ª Valéria Pinheiro Ramos
vice-coordenadora do Comitê de Ética
em Pesquisa CCS/UFPE

ANEXO BNormas para publicação *Biomedical Optics EXPRESS*

The Optical Society presents

PUBLISHING YOUR MANUSCRIPT

an author's guide to the OSA publishing process

OSA

The cover features a dark blue background with a large, light blue, abstract shape resembling a stylized 'A' or a manuscript page. The text is in white and yellow. At the bottom, there is a horizontal strip of four images: a close-up of a hand holding a pen over a document, a woman wearing glasses working at a desk with a laptop, a close-up of hands typing on a keyboard, and a man in a white lab coat looking at a tablet device.

INTRODUCTION

Communication of original research results may be one of the most important components of the scientific research enterprise, yet in many cases, aspects of the publication process might be unfamiliar. This brochure is intended to provide authors, particularly young researchers, with an overview of this process. General information and best practices for article preparation, submission, and peer review are outlined in each section. This brochure is not meant to be an exhaustive list of all aspects of the publication process, but rather a useful starting point. For more information, please visit www.opticsinfobase.org/author

ETHICAL GUIDELINES

OSA maintains guidelines for the publication process that conform to accepted ethical principles in publishing. Primary ethical considerations are listed below. Additionally, authors should read OSA's full Ethical Guidelines at www.opticsinfobase.org/ethics.

- Obtain necessary clearances from co-authors, institutions, and funding agencies prior to submission.
- Do not submit a paper to more than one journal simultaneously
- Declare any conflicts of interest to the editor at submission.
- Give proper attribution to work that was previously published.
- Word by word copying of text from a published work is strongly discouraged, but if necessary, it must be treated as a quotation and given proper attribution.
- Obtain permission from authors and publishers to reproduce figures from previously published articles and give proper attribution.
- Do not fabricate data.
- Comply with internationally recognized principles for the use of animal and human subjects in research.

DEFINING AUTHORSHIP

Defining who will be included as an author of the paper is a very important aspect of the publication process and involves careful consideration. Generally the order of the author list in a paper reflects the importance of contribution (i.e. most significant contribution first, next most significant contribution second, etc.), however practices vary. Consider these issues when defining authorship:

- Authorship reflects significant involvement in the paper
 - Creating basic physical ideas and/or discussion
 - Undertaking laboratory experiments
 - Performing detailed analytical/numerical calculations
- List the affiliations of each author (e.g. department, university, town, country, postal code)
- Minor contributions, such as helpful discussions, suggestions, etc., can be noted in the Acknowledgements section of the paper.
- All authors should be informed of the submission of the manuscript and given a chance to comment.



Be sure to support the journals where you
publish by serving as a peer reviewer:
Review two papers for every one submission.

SECTIONS OF AN ARTICLE

Listed below are the standard sections of a research article, along with suggestions of what each section should contain. A well-organized manuscript will make it easier for reviewers to understand your work and to appreciate its impact. Practices may differ by type of publication (e.g. letters). Always review the style guide of the journal you select prior to submitting your article.

Title

- Informative, accurate, and concise description of your manuscript

Abstract

- Problem and objectives
- Methodology used
- Findings and conclusions
- Research's effects on broader scientific issues
- *Note:* often journals have specific requirements for abstract length and creation

Introduction

- Problem to be addressed
- Background and literature review
- New developments and principal results
- Research purpose and method

Main Body of Paper

- Problem, assumptions, and limitations
- Theory and experiment including analysis, derivation, and solution
- Results of the study/experiment
- Figures and multimedia

Discussion

- Discussion of results and how findings can be viewed in the larger context of the research field
- Comparison of results with other related work
- Significance of results

Conclusion

- Summary of principal information (no new material introduced)
- Statement of specific conclusions
- Relevant issues for future consideration

References

- References numbered in order of appearance
- Follow journal's style guide
- *Note:* reference management programs can be useful (e.g. EndNote & Biotex)

Appendices

- Supplementary material for completeness which could detract from the logical presentation of work
- Material that may be omitted for understanding, but could be valuable to specialists

Acknowledgments

- Technical assistance and useful comments (e.g. of colleagues, reviewers, etc.)
- Financial support and other relevant disclosures

TIP: Give proper attention to the manuscript title, abstract and keywords because this metadata helps make your paper discoverable by search engines.



BEFORE YOU SUBMIT - LANGUAGE REVIEW

Successfully articulating research findings can be a major challenge for authors, especially when English is not your native language. Articles are sometimes rejected with little review of the scientific merit because the editor or reviewer has difficulty understanding the article. This can be quite frustrating for all involved. OSA has launched a Language-Editing Service to help. Through this service, native English speakers certified to edit optics and photonics content will edit articles, prior to journal submission, at a discounted price to the author. For more information, visit <http://languageediting.osa.org>.

PEER REVIEW PROCESS

- OSA's policy is to obtain two reviews per paper, however, papers first undergo an initial quality/relevance assessment by the editor upon receipt.
- Editor selects a topical/associate editor overseeing the appropriate technical subfield of your manuscript, who then sends your manuscript to anonymous reviewers.
 - When submitting to an OSA journal, you will be instructed to suggest three potential suitable reviewers.
 - Editor selects reviewers who are experts in the field of your manuscript.
- Reviewers are allowed time to complete their review and submit comments to the editor.
- Reviewers provide comments aimed to help create a better manuscript. Reviewers will recommend that:
 - The manuscript is acceptable for publication.
 - The manuscript requires further revisions.
 - The manuscript is not acceptable for publication.
 - The manuscript is more appropriate for another journal.
- Editor makes a publication decision based on the reviews and sends out a decision letter.
- If your manuscript needs modifications:
 - You may resubmit after revisions have been made (use a response letter to explain each change, point by point).
 - Editor decides whether to accept revised manuscript or refer it back to reviewers for further comment.
 - Editor makes final decision.
- If your manuscript is rejected:
 - Before submitting elsewhere, act on the reviewers' reports as this will lead to a better paper.
 - OSA editors filter submissions and strongly discourage resubmitting rejected manuscripts to other OSA journals, except by invitation from the editors.

Basic Acceptance Criteria for Research Journal Articles

- Work is relevant to the scope of the journal.
- Results are significant to the field.
- Many journals discourage incremental work.
- Discussion and conclusions are supported by the data presented.
- Work is placed in proper context.
- Related work is adequately referenced.
- Equations, figures, tables, and multimedia contribute to the research presentation.
- Manuscript is well-written and logically organized.



JOURNAL SELECTION AND SUBMISSION

Selecting the appropriate journal for your submission is an important step in the publication process.

When choosing where to submit your manuscript, consider these factors:

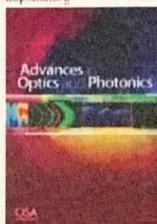
- Is your manuscript more suited to a specialized journal or a journal with broad scope across sub-disciplines?
- Is your manuscript theoretical, experimental or applied?
- Is your manuscript full-length or a letter?
- Should you submit to a subscription journal vs. open access?
- Is your manuscript time-sensitive?
- Does the journal have a good reputation in your field?
- Do you understand the journal's procedures for online submission?

OSA JOURNALS – UNDERSTANDING THE DIFFERENCE

Visit each journal's website for complete journal scope descriptions.

www.opticsinfobase.org

aop.osa.org



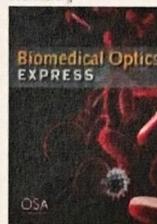
Comprehensive review articles and tutorials

ao.osa.org



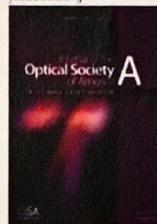
Applications-centered research

boe.osa.org



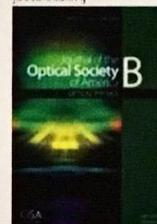
Open access, biomedical optics

josaa.osa.org



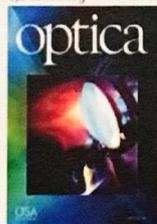
Classical optics, image science, and vision

josab.osa.org



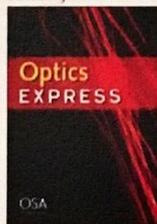
Interaction of light with matter

optica.osa.org



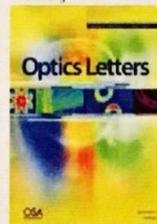
Open access, rapid dissemination of high-impact results in all areas of optics and photonics

oe.osa.org



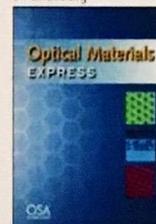
Open access, scientific innovations in all fields of optics

ol.osa.org



Letters format, rapid dissemination of new results—general optics

omex.osa.org



Open access, advances in optical materials

TIP: Review the publisher's style guide for your selected journal to understand criteria and manuscript preparation requirements.