

Efeito remineralizador da caseína fosfato de cálcio fosfopeptídeo amorfo em dentes decíduos e permanentes *in vivo*

Recebido em: jul/2015

Aprovado em: ago/2015

Loyane Franio Batista de Melo – Mestre em Ciências da Saúde pela Universidade de Brasília – Odontopediatra Clínica

Tatiana Degani Paes Leme Azevedo – Doutora pela Universidade de Brasília – Professora doutora da Faculdade de Odontologia da Universidade Católica de Brasília Odontopediatra da Secretaria de Saúde do Distrito Federal

Jair Francisco Melo – Especialista em Implantodontia – Clínica Privada

Stella Maris de Freitas Lima – Mestre e doutoranda em Ciências Genômicas e Biotecnologia pela Universidade Católica de Brasília – Professora da Faculdade de Odontologia da Universidade Católica de Brasília

Ana Cristina Barreto Bezerra – Doutora pela Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo USP – Professora Associada Orientadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde Universidade de Brasília

Orlando Ayrton de Toledo – Professor Titular – Professor orientador da Pós-Graduação em Ciências da Saúde Universidade de Brasília

CEP-FM/UNB nº 020/2011

Autor de correspondência:
Orlando Ayrton de Toledo
Condomínio Quintas do Sol Qd 7 conj. 16 casa 1
Setor Habitacional Jardim Botânico - Brasília - DF
71680-370
Brasil
ayrtontoledo@gmail.com

Remineralizing effect of casein fosfopeptideo amorphous calcium phosphate in primary and permanent teeth in vivo

RESUMO

O presente estudo *in vivo* avaliou o efeito remineralizador da caseína fosfato de cálcio fosfopeptídeo amorfo (CPP-ACP) tooth mousse em lesões de mancha branca em dentes decíduos e permanentes. Dezoito crianças de 4 a 8 anos apresentaram 81 lesões de mancha branca, as quais foram divididas de maneira randômica. Estas foram tratadas com verniz de flúor 2,26% (controle) e CPP-ACP mousse (teste), duas vezes por semana, durante seis e quatro semanas, respectivamente. Um examinador cego avaliou as lesões de mancha branca no período inicial (T0) e após 3 (T1) e 12 (T2) semanas de tratamento. Os dados de índice de placa visível, índice de sangramento gengival, índice ICDAS foram coletados. Em adição, foram realizadas tomadas fotográficas das lesões em todos os períodos analisados. Os dados foram analisados por testes qui-quadrado e t de Student. Resultados não demonstraram diferença entre os grupos controle e teste durante os períodos, a partir do índice ICDAS ($p > 0,05$). No entanto, a partir do mesmo índice, o grupo teste demonstrou diferença significativa entre os períodos analisados ($p < 0,05$). A área das manchas brancas, em pixels, dos grupos controle e teste não demonstrou diferença estatística de cada grupo, em qualquer dos períodos analisados ($p > 0,05$). Dessa forma, concluiu-se que a terapia de remineralização de lesões de manchas brancas foi efetiva em ambos os grupos. No entanto, devido ao número amostral reduzido e o curto período de análise do presente estudo, são necessários maiores esclarecimentos em relação a este efeito.

Descritores: remineralização dental; cárie; dente decíduo; dente permanente

ABSTRACT

This *in vivo* study was conducted to evaluate the remineralization effects of CPP-ACP Tooth Mousse on white-spot lesion in primary and permanent teeth. Eighteen children (age from 4-8) exhibiting 81 white-spot lesions sites were randomly divided into two different treatments protocols: test group received applications of the remineralizing mousse twice a week for six weeks; control group received applications of a 2.26% fluoridated coating once a week for four weeks. A blind examiner evaluated the children at baseline, 3 and 12 weeks after the first visit, recorded visible plaque, gingival bleeding, ICDAS index and photographed the lesions. Data was analyzed with chi-square and Student t-test. According to ICDAS index, the control group was not statistically different from the treated group ($p > 0.05$), in each time. However, results from treated group demonstrated that ICDAS index was statistically different from times ($p < 0.05$). The area of the white spots (in pixels) of samples from control and treated groups were not statistically different from each group in any time ($p > 0.05$). It was concluded that the remineralizing therapy of white spot lesions was efficient in the two groups. Nevertheless, due to the small sample size and the brief time for conducting the study, new research is necessary to increase the findings.

Descriptors: tooth remineralization; dental caries; dentition, primary; dentition, permanent

RELEVÂNCIA CLÍNICA

Potencial remineralizador do CPP-ACP mousse em lesões de mancha branca de dentes decíduos e permanentes.

INTRODUÇÃO

A doença cárie é o principal problema de saúde bucal no Brasil, apesar do declínio da sua incidência e prevalência nos últimos anos. Dados recentes de levantamento epidemiológico nacional demonstraram um índice CEO-D de 2,3, para crianças de 5 anos, e 2,1, para crianças de 12 anos.¹

A cárie dental é estabelecida por um processo dinâmico que envolve fatores básicos ou determinantes (biológico), além de fatores de alteração, como formação educacional, nível econômico e estilo de vida.² Em adição, esta é uma doença multifatorial, com biofilme dependente de açúcar, no qual necessita dessas condições para iniciar o processo patológico. Fisiologicamente, as estruturas dentais mineralizadas interagem com os fluidos orais. A hidroxipatita presente no esmalte pode apresentar condição saturada ou não saturada de cálcio e fosfato, oriundos dos fluidos orais, que depende da variação de pH. Esse processo desencadeia os eventos de remineralização e desmineralização. A desmineralização ocorre em pH ácido, crítico (abaixo de 5,5). Em seguida, o metabolismo bacteriano contribui para a perda de íons do esmalte, na presença de carboidratos fermentáveis. No entanto, a saliva possui uma capacidade tamponante, capaz de aumentar o pH e favorecer a reposição de cálcio e fosfato no esmalte. Ressalta-se que a reposição de cálcio e fosfato é menor, comparado ao que foi perdido anteriormente. Tal processo culmina na perda mineral reduzida em relação a situação em ambiente ácido.

A frequente ocorrência do processo de desmineralização eventualmente supera a capacidade tamponante da saliva e reparadora dos fluidos orais. Portanto, o desenvolvimento de lesões de cárie tem seu início com manchas brancas na superfície do esmalte. A progressão desta é variável e os estágios que envolvem ou não cavitação são complexos. De acordo com a lesão, diferentes estratégias de controle da progressão da doença devem ser considerados.³

O processo de remineralização de esmalte é amplamente relatado na literatura e diversas estratégias foram sugeridas ao longo dos anos.⁴ O flúor é capaz de estimular a remineralização de lesões cáries precoces.¹ Entretanto, tem-se a busca por novos materiais para o tratamento precoce de lesões cáries. Recentemente uma nova perspectiva de tratamento não invasivo de lesões iniciais de cárie foi adotada. A caseína, uma proteína do leite, demonstrou atividade anticariogênica. Tal proteína possui a capacidade de estabilizar cálcio e fosfato na superfície dentária, aumentando o gradiente destes íons e, consequentemente, promovendo a remineralização.⁵⁻⁷

O fosfopeptídeo caseína se liga ao fosfato de cálcio amorfo, constituindo o complexo CPP-ACP. O fosfato de cálcio amorfo é capaz de liberar íons de cálcio e fosfato, mantendo um estado supersaturado, otimizando o processo de remineralização.⁸⁻¹⁰ Em adição, o CPP-ACP pode interagir com o flúor, produzindo um efeito anticariogênico aditivo pela formação de fluoreto de fosfato de cálcio, em fase amorfa estabilizada. Assim, a adição de flúor ao CPP-ACP é uma opção no tratamento remineralizador.^{8,11}

O complexo CPP-ACP possui formulações em produtos como enxaguante bucal, dentífrico, creme e goma de mascar.^{5,12-14} Aplicações tópicas são realizadas com o creme remineralizante Tooth Mousse (GC Corporation, Itabashi-Ku, Tokyo, Japan). Testes clínicos randomizados *in situ* demonstraram resultados positivos na remineralização de esmalte pelo CPP-ACP tanto em goma mascar¹⁵, quanto em leite de vaca.¹⁶ Estudos *in vitro* reportaram maior potencial remineralizador de lesões cáries, a partir da pasta dental com CPP-ACP.^{4,18} Em contra partida, tem-se poucos estudos *in vivo*, os quais demonstram resultados positivos com o uso da pasta dental com CPP-ACP¹⁹ e aplicações tópicas de Tooth Mousse.^{3,20,21} Dessa forma, a realização de estudos *in vivo* são necessários para comprovar a eficácia de produtos à base de CPP-ACP. O presente estudo objetivou avaliar o efeito do CPP-ACP Tooth Mousse em lesões de mancha branca em dentes decíduos e permanentes *in vivo*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Participantes

Um grupo de crianças saudáveis com idade de 4 a 8 anos, estudantes de escola pública de Brasília, DF, Brasil, foi voluntário no estudo. Todas as crianças com lesões de mancha branca, em face vestibular ou oclusal, em dentes decíduos ou permanentes, foram incluídas no estudo. Os critérios de exclusão englobaram crianças com cárie em dentina, uso crônico de medicações que causam xerostomia ou que possuem alergia ao leite. Um total de 28 crianças foram incluídas no estudo, no entanto, somente 18 retornaram o termo de consentimento livre e esclarecido assinado pelos pais (Figura 1).

Randomização

Dezoito crianças foram divididas em dois grupos (controle e teste), com 9 indivíduos em cada. Tal método assegurou a randomização da formação dos grupos por loteria. Dessa forma, cada indivíduo possuía chances iguais de participar de ambos os grupos.

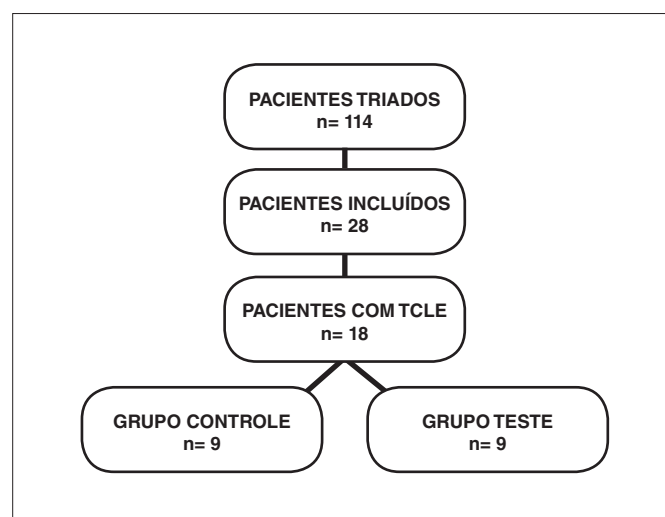


FIGURA 1
Fluxograma da triagem de indivíduos do estudo

Intervenções

A partir do exame inicial (T0), os indivíduos de ambos os grupos foram instruídos em relação a cuidados de higiene bucal e recomendações sobre a escovação diária. Nesta ocasião, foi usada escova de dente com dentífrico fluoretado, na presença de um supervisor adulto. Em seguida, o grupo teste recebeu aplicação profissional de CPP-ACP Tooth Mousse (GC Tooth Mousse Recalldent™ Louven, Belgium). Os pacientes foram instruídos sobre a maneira de espalhar o produto nas superfícies dentárias com a língua, de acordo com as instruções do fabricante.

O grupo controle foi tratado com aplicações de verniz de flúor a 2,26% (Fluorniz, S.S. White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, Brazil) semanalmente, por quatro semanas. Todas as crianças incluídas no estudo nasceram e residiam em regiões com água fluoretada (0,7 ppm). Todas as crianças foram tratadas e avaliadas no início do estudo, após 6 (T1) e 12 semanas (T2), seguindo a aplicação dos produtos.

Registros clínicos

Um examinador cego, previamente calibrado, avaliou as crianças de ambos os grupos nos três períodos do estudo (T0, T1 e T2), analisando índice de placa visível (IPV) e índice de sangramento gengival (ISG). O índice ICDAS também foi usado no estudo para analisar o status das lesões cariosas nos três períodos (ICDAS 0 – sem lesão de mancha branca visível; ICDAS 1 – lesão de mancha branca visível após secagem por cinco segundos; ICDAS 2 – lesão de mancha branca visível em condição úmida). O mesmo examinador cego avaliou clinicamente todas as superfícies dentárias no início do estudo (T0), analisando 81 superfícies afetadas por lesões iniciais de cárie, distribuídas da seguinte maneira: 40 no grupo controle e 41 lesões no grupo teste (Figura 2).

Todas as superfícies foram fotografadas em todos períodos (T0, T1 e T2) com uma câmera fotográfica digital (Canon EOS Rebel T1i, Canon Inc., USA) na velocidade 1/160, diafragma F11

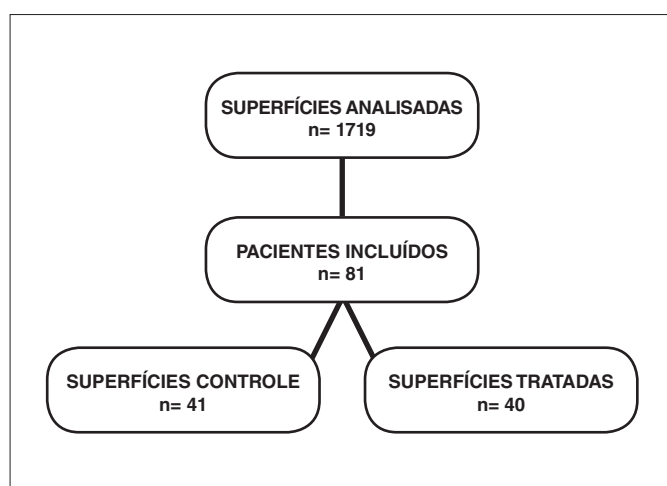


FIGURA 2
Distribuição das superfícies analisadas

e ISO 400, usando uma lente macro (Canon EF-S 60 mm 1:2.8) com lente focal de 0.2m, artificialmente iluminado com um flash circular (Canon macro Ring Lite MR-14 EX) em ambiente com luz natural. As tomadas fotográficas foram realizadas no mesmo período do dia, com o paciente na mesma posição, na intenção de obter imagens padronizadas. Em adição, o software Adobe Fireworks CS3 (Adobe Systems, CA, USA) foi usado para padronizar as imagens por superposição e transparência, em todos os tempos. A iluminação das imagens foi otimizada pelo efeito "níveis automáticos". O software Corel Draw X5 program (Corel Corporation, Ottawa, Canada) foi usado para o contraste e vetorização das imagens, destacando as áreas de manchas brancas. Por fim, o software Image J (NIH, Bethesda, MD, USA) foi usado para gerar os valores, em pixels, de cada superfície das manchas brancas.

Análises estatísticas

Os dados de IPV, ISG e ICDAS dos três períodos (T0, T1 e T2) foram analisados estatisticamente usando o teste t de Student. As análises comparativas entre as manchas brancas de ambos os grupos, em todos os tempos, foram realizadas pelos testes t de Student e qui-quadrado, com correção de Yates. Todos os testes foram baseados em um nível de significância de 5%.

RESULTADOS

A partir de 28 crianças, 81 lesões de manchas brancas foram testadas. As crianças foram divididas em dois grupos: controle e teste. As superfícies dentárias foram analisadas no período inicial (T0) e após 6 (T1) e 12 semanas (T2) de tratamento. O período T0 incluiu 40 e 41 superfícies dos grupos controle e teste, respectivamente. O período T1 incluiu 40 superfícies em cada grupo. O período T2 incluiu 26 e 33 superfícies dos grupos controle e tratado, respectivamente. A análise de dados foi estabelecida por exames IPV, ISG e ICDAS, além da quantificação da área de manchas brancas tratadas com CPP-ACP.

Resultados demonstraram que os exames de IPV e ISG não demonstraram diferença significativa em cada grupo, em qualquer período ($p > 0,05$). De acordo com o índice ICDAS, os grupos controle e teste não demonstraram diferença significativa entre si ($p > 0,05$), em cada tempo. No entanto, resultados do grupo teste demonstraram diferença significativa entre o período T0 e os períodos T1 e T2, em relação ao índice ICDAS ($p < 0,05$) (Figura 3).

Portanto, a quantificação das áreas de mancha branca tratadas com CPP-ACP foi avaliada com o intuito de demonstrar seu efeito remineralizante nos períodos T1 e T2, comparada ao período T0. A área das manchas brancas (em pixels) das superfícies dos grupos controle e teste não demonstraram diferenças entre si, em nenhum dos períodos ($p > 0,05$) (Figura 4).

DISCUSSÃO

O fosfato de cálcio amorfo presente no complexo CPP-ACP é capaz de liberar íons de cálcio e fosfato. Este mantém um estado supersaturado, otimizando o processo de remineraliza-

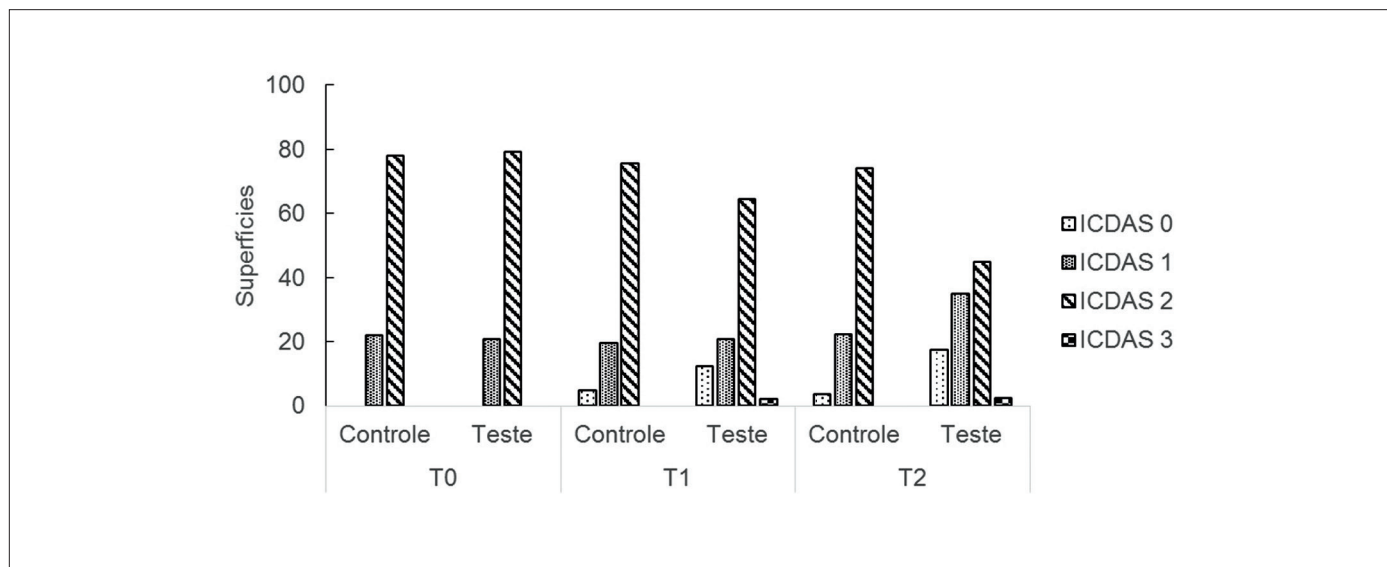


FIGURA 3

Número de superfícies de lesões de mancha branca nas divisões ICDAS 0, 1, 2 e 3 nos períodos T0, T1 e T2

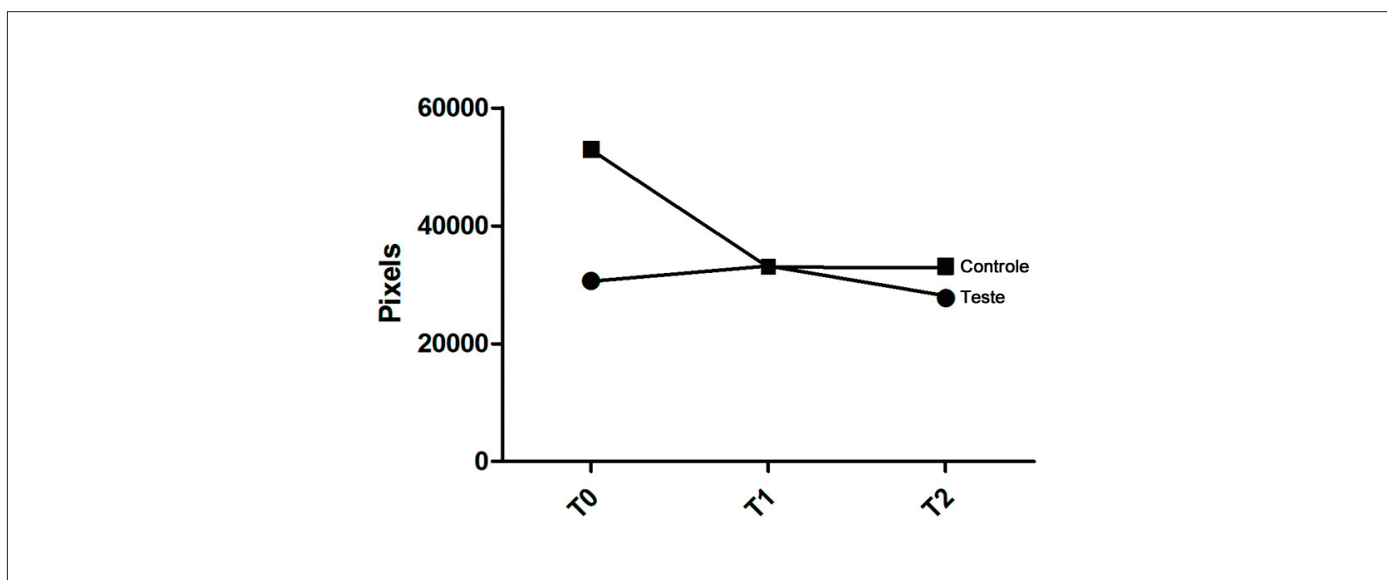


FIGURA 4

Distribuição das áreas de mancha branca (pixels) dos grupos teste e controle, nos períodos T0, T1 e T2

ção.⁸⁻¹⁰ Portanto, produtos à base de CPP-ACP são indicados para a remineralização de lesões iniciais de cárie.

O presente estudo objetivou analisar o efeito remineralizador do mousse CPP-ACP, comparado ao verniz de flúor em dentes decíduos ou permanentes, em escolares de 4 a 8 anos. Os tratamentos foram realizados em 81 superfícies, randomicamente divididas em grupos controle e teste (tratado com CPP-ACP).

Os exames IPV e ISG foram analisados nos períodos T0, T1

e T2, para ambos os grupos controle e teste. Como não foram encontradas diferenças significantes entre os grupos, ambos os tratamentos podem ter interferido na saúde bucal das crianças, com efeito similar durante os períodos. O presente desenho experimental foi sugerido, ao invés da técnica da boca dividida (splitmouth), a fim de evitar viés, devido à liberação de flúor, cálcio ou fosfato por agentes no esmalte. A severidade das lesões de mancha branca foi avaliada pelo índice ICDAS. O sistema possibilitou a quantificação das cáries dentárias e pode ser

aplicado em estudos comparativos.²²

De acordo com este índice, resultados do grupo teste demonstraram que a frequência ICDAS 2 (lesões de mancha branca visualizadas em condição húmida) foi reduzido, ao longo do tempo, enquanto ICDAS 1 e 0 aumentaram (Figura 3). Tal relação apresentou diferença estatisticamente significativa. Portanto, tem-se fortes evidências científicas que o CPP-ACP é capaz de remineralizar superfície de lesões de esmalte.^{14,24,25}

Todas as lesões de mancha branca foram fotografadas em todos os períodos. A área das manchas brancas (em pixels) dos grupos controle e teste não demonstraram diferença significativa entre si, em todos os períodos ($p > 0,05$) (Figura 4). Ambos os tratamentos realizados resultaram em otimização significativa na redução do tamanho das manchas brancas, em comparação ao período inicial. No entanto, não foi observada diferença entre os grupos controle e teste. Salienta-se que tal observação não indica que ambos os tratamentos são iguais. A determinação dessa equivalência necessita da análise de um grupo amostral maior. Existe uma clara, no entanto, não significativa, tendência para maior redução de lesões de mancha branca no grupo controle. Essa situação pode ser parcialmente explicada pelo fato das áreas de mancha branca serem maiores, e possivelmente mais severas, no período inicial do estudo.

É importante salientar que, no presente estudo, o grupo place-

bo não foi usado no grupo controle e que a influência relativa da presença de flúor, pasta dental e água fluoretada, não está clara no grupo teste. Portanto, o mecanismo de ação no grupo teste pode ser resultante de uma combinação de CPP-ACP e flúor.

CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram que o CPP-ACP apresenta propriedades de remineralização de lesões iniciais de cárie, confirmando os achados de estudos prévios *in vitro*^{4,18} e *in vivo*^{13,14,16}. Por fim, considerando as limitações deste estudo *in vivo*, pode-se concluir que a terapia remineralizadora de lesões de mancha branca foi eficiente em ambos os grupos, teste e controle. No entanto, devido ao reduzido número amostral e curto período de tempo para análise, novos estudos são necessários para maiores esclarecimentos do efeito do CPP-ACP.

APLICAÇÃO CLÍNICA

A terapia de lesões de mancha branca associada com CPP-ACP mousse pode ser igual ou melhor, comparada à terapia com flúor.

AGRADECIMENTO

Baseado em tese submetida à Universidade de Brasília (UnB), como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde.

REFERÊNCIAS

- Ministério da Saúde. Projeto SB Brasil 2003: Condições de saúde bucal da população brasileira 2002-2003-resultados principais. Brasília: Coordenação de Saúde Bucal; 2004.
- Reynolds EC. Calcium phosphate-based remineralization systems: scientific evidence? Aust Dent J 2008;53(3):268-73.
- Bailey DL, Adams GG, Tsao CE, Hyslop A, Escobar K, Manton DJ, Reynolds EC, Morgan MV. Regression of post-orthodontic lesions by a remineralizing cream. J Dent Res 2009;88(12):1148-53.
- Zhang Q, Zou J, Yang R, Zhou X. Remineralization effects of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate creme on artificial early enamel lesions of primary teeth. Int J Paediatr Dent 2011;21(5):374-81.
- Schweigert BS, Shaw JH, et al. Dental caries in the cotton rat; the effect of the amount of protein, fat and carbohydrate in the diet on the incidence and extent of carious lesions. Journal of Nutrition 1946;31:439-47.
- Shaw JH, Ensfield BJ, Wollman DH. Studies on the relation of dairy products to dental caries in caries-susceptible rats. Journal of Nutrition 1959;67(2):253-73.
- Rose RK. Effects of an anticariogenic casein phosphopeptide on calcium diffusion in streptococcal model dental plaques. Archives of Oral Biology 2000;45(7):569-75.
- Reynolds EC. Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. Special Care in Dentistry 1998;18(1):8-16.
- Tantbirojn D, Huang A, Ericson MD, Poolthong S. Change in surface hardness of enamel by a cola drink and a CPP-ACP paste. Journal of Dentistry 2008;36(1):74-9.
- Adebayo OA, Burrow MF, Tyas MJ. Dentine bonding after CPP-ACP paste treatment with and without conditioning. Journal of Dentistry 2008;36(12):1013-24.
- Cochrane NJ, Saranathan S, Cai F, Cross KJ, Reynolds EC. Enamel subsurface lesion remineralisation with casein phosphopeptide stabilised solutions of calcium, phosphate and fluoride. Caries Research 2008;42(2):88-97.
- Cai F, Shen P, Morgan MV, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions in situ by sugar-free lozenges containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. Australian Dental Journal 2003;48(4):240-3.
- Iijima Y, Cai F, Shen P, Walker G, Reynolds C, Reynolds EC. Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. Caries Res 2004;38(6):551-6.
- Reynolds EC, Cai F, Shen P, Walker GD. Retention in plaque and remineralization of enamel lesions by various forms of calcium in a mouthrinse or sugar-free chewing gum. J Dent Res 2003;82(3):206-11.
- Shen P, Cai F, Nowicki A, Vincent J, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. Journal of Dental Research 2001;80(12):2066-70.
- Walker G, Cai F, Shen P, Reynolds C, Ward B, Fone C, Honda S, Koganei M, Oda M, Reynolds E. Increased remineralization of tooth enamel by milk containing added casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. J Dairy Res 2006;73(1):74-8.
- Vanichvatana S, Auychai P. Efficacy of two calcium phosphate pastes on the remineralization of artificial caries: a randomized controlled double-blind in situ study. Int J Oral Sci 2013;5(4):224-8.
- Zhou C, Zhang D, Bai Y, Li S. Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate remineralization of primary teeth early enamel lesions. J Dent 2014;42(1):21-9.
- Andersson A, Skold-Larsson K, Hallgren A, Petersson LG, Twetman S. Effect of a dental cream containing amorphous cream phosphate complexes on white spot lesion regression assessed by laser fluorescence. Oral Health and Preventive Dentistry 2007;5(3):229-33.
- Brochner A, Christensen C, Kristensen B, Traanaes S, Karlsson L, Sonnesen L, Twetman S. Treatment of post-orthodontic white spot lesions with casein phosphopeptide-stabilised amorphous calcium phosphate. Clinical Oral Investigations 2011;15(3):369-73.
- Ferrazzano GF, Amato I, Cantile T, Sangianantoni G, Ingenito A. In vivo remineralising effect of GC tooth mousse on early dental enamel lesions: SEM analysis. International Dental Journal 2011;61(4):210-6.
- Criteria Manual: International Caries Detection and Assessment System (ICDASII) International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) Coordinating Committee. Workshop held in Baltimore, Maryland. 2005.
- Uysal T, Amasyali M, Koyuturk AE, Ozcan S. Effects of different topical agents on enamel demineralization around orthodontic brackets: an in vivo and in vitro study. Aust Dent J 2010;55(3):268-74.
- Cochrane NJ, Reynolds EC. Calcium phosphopeptides -- mechanisms of action and evidence for clinical efficacy. Adv Dent Res 2012;24(2):41-7.
- Llena C, Forner L, Baca P. Anticariogenicity of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: a review of the literature. J Contemp Dent Pract 2009;10(3):1-9.