

Estudo do potencial da nano hidroxiapatita na remineralização dental – Um estudo ex vivo



<https://doi.org/10.56238/interdiinovationscrese-001>

Daiane Vitória Duarte Quandt

Curso de Odontologia, Universidade da Região de Joinville, Santa Catarina, Brasil.

Luiza Helena Rocha do Nascimento

Curso de Odontologia, Universidade da Região de Joinville, Santa Catarina, Brasil.

Daniela Cunha Coelho

Curso de Odontologia, Universidade da Região de Joinville, Santa Catarina, Brasil.

Michele Cristina Formolo Garcia

Curso de Engenharia Química, Universidade da Região de Joinville, Santa Catarina, Brasil.

Daiara Floriana da Silva

DNPRIME do Brasil, Inovaparque - R. Paulo Malschitzki, 10 - Zona Industrial Norte, Joinville, Santa Catarina, Brazil.

Nelson Levandowski Junior

DNPRIME do Brasil, Inovaparque - R. Paulo Malschitzki, 10 - Zona Industrial Norte, Joinville, Santa Catarina, Brazil.

Kesly Mary Ribeiro Andrades

Curso de Odontologia, Universidade da Região de Joinville, Santa Catarina, Brasil.
E-mail: keslyribeiro@gmail.com

RESUMO

Introdução: A nanohidroxiapatita (nano-HAp) tem sido estudada como um material biomimético que promove a remineralização da superfície dentária e a obliteração dos túbulos dentinários, sendo considerada uma alternativa ao uso do flúor. Além dos benefícios para a estrutura dentária e ao contrário do flúor, a ingestão acidental de nano-HAp como componente do dentifrício não está associada a nenhum risco sistêmico relevante à

saúde. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar, in vitro, o potencial do nano-HAp em remineralizar a estrutura dental, comparando três diferentes formulações de dentifrícios: nanohidroxiapatita sintética pura, nanohidroxiapatita sintética com flúor e somente flúor, por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e análise química (EDS). **Material e métodos:** Trata-se de um estudo experimental transversal com abordagem qualitativa. Amostras de dentes, terceiros molares, cortados em blocos, expondo superfícies de esmalte e dentina, foram submetidas à desmineralização por imersão em ácido fosfórico a 37% por 30 segundos, seguida de lavagem em água corrente. Posteriormente, foram realizadas escovações com os três dentifrícios e em grupo controle, durante 10 dias consecutivos. Ao final do experimento, foi realizada uma análise qualitativa com Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e análise química (EDS). **Resultados:** Pode-se observar que no grupo controle não houve obliteração dos túbulos dentinários e nem alteração na morfologia da superfície dentinária. Em dentifrícios com 5% de nanohidroxiapatita e nanohidroxiapatita fluoretada, pode-se observar deposição de minerais na superfície da dentina e obliteração dos túbulos dentinários, entretanto, há uma deposição mais uniforme no dentifrício com 5% de nanohidroxiapatita. No dentifrício fluoretado foi possível observar uma deposição mineral, entretanto, esta foi mais sutil e apenas dentro de alguns túbulos dentinários, sem alterar a morfologia da dentina. **Conclusão:** Pode-se concluir que a nanohidroxiapatita promoveu uma deposição mineral na superfície da dentina e no interior dos túbulos dentinários, demonstrando resultados promissores na remineralização da estrutura dental.

Palavras-chave: Nanohidroxiapatita, Remineralização, Dentifrício.



1 INTRODUÇÃO

A cárie dentária é uma doença complexa que afeta a maioria da população, independentemente do sexo, idade e nível socioeconômico. É uma das doenças mais prevalentes no mundo e afeta até mesmo países desenvolvidos com sistema de saúde bem estabelecido, como Alemanha, EUA e Austrália [Paszynska et al. 2021]²⁷. A desmineralização dos tecidos dentários é o principal mecanismo envolvido no desenvolvimento da cárie. Como tal, é o resultado de interações complexas que ocorrem entre os tecidos duros, o biofilme microbiano que coloniza as superfícies e a ingestão de nutrientes [Esposti et al. 2021]¹¹.

O flúor é considerado o padrão-ouro no Brasil como agente inibidor dos processos de desmineralização. Seus efeitos são bem conhecidos e direcionados à redução das vias metabólicas e fisiológicas de microrganismos acidogênicos. O uso de fluoretos para a prevenção e controle de processos cariosos mostra-se um método eficaz, com o uso de flúor tópico, presente na formulação de dentifrícios ou sob diversas formas de aplicação profissional, medida preventiva de suma importância. "O nível recomendado de flúor para uso diário é de 0,05 - 0,07mg F/Kg/dia, o que é considerado de grande ajuda para a prevenção da cárie dentária, atuando na remineralização" [Alvarez, 2009]¹. No entanto, a administração de tratamentos contendo flúor deve ser cuidadosamente balanceada para evitar possíveis efeitos colaterais, como fluorose dentária ou impacto negativo no desenvolvimento dentário [Esposti et al. 2021]¹¹.

Exposições sucessivas a altas concentrações de flúor durante o desenvolvimento dentário podem causar fluorose, que é um distúrbio do desenvolvimento dentário que causa esmalte com menor conteúdo mineral e aumento da porosidade [Alvarez et al. 2009]¹. Como consequência, há uma mudança na textura da superfície, coloração (manchas brancas a marrons) e uma diminuição na dureza do esmalte, resultando em dentes enfraquecidos.

Outra contraindicação aos produtos de higiene bucal que contenham flúor pode estar relacionada ao uso de implantes dentários ou outros dispositivos metálicos na boca. Estudos mostram que a presença de fluoretos pode causar corrosão e liberação de íons metálicos na cavidade bucal [Schiff³² et al. 2005; Casa¹⁴ et al., 2008; Anwar² et al., 2011; Saporeti³⁰ et al., 2012; Yanisarapan⁴⁰ et al., 2018; Chen⁶ et al., 2020].

Além disso, como alternativa ao flúor para a prevenção da cárie, uma nova abordagem surgiu nos últimos anos com agentes biomiméticos (inspirados na natureza) que promovem a remineralização e inibem a desmineralização do tecido dental duro. Um desses agentes biomiméticos é a nanohidroxiapatita (nano-HAp), um mineral fosfato de cálcio – $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$. O nano-HAp é estudado em diferentes campos da saúde bucal preventiva. Ao contrário do flúor, a ingestão acidental de nano-HAp como ingrediente em creme dental não está associada a nenhum risco sistêmico relevante



à saúde, pois o nano-HAp existe naturalmente como o principal componente inorgânico de todos os tecidos duros humanos, como dentes e ossos [Paszynska et al. 2021]²⁷.

O nano-HAp é um dos biomateriais mais estudados, dada a sua comprovada biocompatibilidade e por ser o principal constituinte da parte mineral dos ossos e dentes. A função biomimética do nano-HAp é proteger os dentes criando uma nova camada de esmalte sintético ao redor do dente, em vez de apenas alterar a camada superficial como ocorre com o flúor, que transforma quimicamente o halofosfato de cálcio [Ca₅(PO₄)₃F] [Pepla et al. 2014] 28.

O principal objetivo do trabalho, portanto, foi avaliar qualitativamente o potencial do nano-HAp em termos de sua capacidade de remineralizar e alterar a morfologia superficial do esmalte e da dentina, *ex vivo*, em três diferentes formulações de dentifrícios: nanohidroxiapatita sintética pura, hidroxiapatita e fluoreto sintéticos nano e apenas flúor. O objetivo específico foi analisar por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e análise química (EDS) a eficácia de um novo dentifrício sem flúor e com 5% de nano-HAp na deposição mineral da estrutura dentária e obliteração dos túbulos dentinários.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo experimental transversal com abordagem qualitativa. A pesquisa foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Univille, sob o número 4.787.854.

2.1 AMOSTRAS

Para o preparo das amostras, foram selecionados 4 terceiros molares inferiores, com diâmetro mesiodistal médio de 19 mm na coroa. Os dentes eram provenientes do Biobanco do curso de Odontologia da UNIVILLE.

2.2 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Para a confecção das amostras, as coroas dentárias foram seccionadas em 4 partes com disco de diamante, totalizando 16 amostras no experimento.

Primeiramente, os dentes foram posicionados em tubos de PVC (matriz) 18x21mm, vaseliados, de modo que cada amostra fosse centralizada e incluída em resina acrílica incolor (Jet Classic, São Paulo, SP, Brasil). O primeiro corte foi mesiodistal (Figura 1A), separando o dente em duas metades, uma bucal e outra lingual. Para a obtenção do 2º corte, cada metade do dente foi novamente incluída em um cilindro de PVC vaselina. Os dentes embutidos foram posicionados horizontalmente na máquina de corte. Os cortes nessa etapa (Figura 1B) foram feitos no sentido axial (transversal). O primeiro corte feito foi de 1mm com o objetivo de retirar apenas as pontas das cúspides para obter uma superfície completamente lisa e uniforme. O segundo corte foi localizado no terço médio da coroa, a



fim de obter duas partes iguais da coroa, com exposição uniforme da dentina e do esmalte. Ao final desses cortes, foram obtidas 4 amostras de cada dente, com exposição do esmalte e da dentina (figura 2).

Figura 1: Desenho esquemático dos cortes que foram feitos nos dentes para preparo da amostra. Na figura 1A (à esquerda) há uma representação do primeiro corte, realizado no sentido mesio-distal. Na figura 1B (à direita) há uma representação do segundo corte, realizado no sentido axial (transversal).

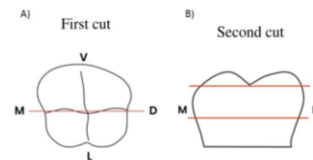
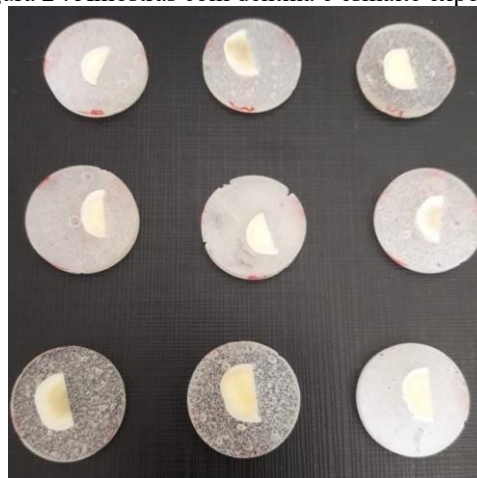


Figura 2 : Amostras com dentina e esmalte expostos.



Para alisar as superfícies e remover possíveis ranhuras, as amostras foram polidas com 600 e 1200 discos de granulação até ficarem lisas. Após a realização desta etapa, as amostras foram devidamente limpas por imersão em tanque ultrassônico com água deionizada.

2.3 O PROCESSO DE DESMINERALIZAÇÃO DENTÁRIA

Para simular a desmineralização dental, as amostras limpas foram submetidas a um desafio ácido, em solução de ácido fosfórico a 37% (H_3PO_4) por 30 segundos e lavadas em água corrente abundante por 60 segundos.

2.4 PROCESSO DE REMINERALIZAÇÃO DENTÁRIA

Cada amostra foi colocada em um disco de Petri, submersa em solução tampão salina modificada (PBS). As amostras em solução foram armazenadas em estufa em Certomat U (B. Braun, Alemanha) a 37 graus Celsius, para se assemelhar à temperatura do corpo humano. As amostras foram mantidas durante todo o estudo dentro de máquina com temperatura controlada, sendo retiradas apenas



para escovação. Todas as soluções utilizadas neste experimento foram preparadas no laboratório de Biotecnologia da Univille.

As amostras foram divididas aleatoriamente em quatro grupos para escovação, com controle negativo (quadro I).

Tabela I: Grupos experimentais

Grupos	Composto	Marca
Um	controle negativo	PBS
B	Creme dental com Nano Hidroxiapatita 5% sem flúor	DNPRIME, Brasil - sem nome comercial
W	Creme Dental com Nano Hidroxiapatita e Flúor	Be You Yellow, Curaprox, Suíça
D	creme dental com flúor	Colgate Triple Action, Colgate, Estados Unidos

O processo de remineralização foi realizado por meio de escovação manual, simulando a prática da escovação dentária. O método utilizado para realizar a escovação com as 4 soluções foi a escovação de cada amostra por 1 minuto, duas vezes ao dia, durante 10 dias consecutivos. Essas escovações foram realizadas com microescovas descartáveis de tamanho médio, com cerca de 1 ml de solução em cada amostra e lavadas após cada escovação por 1 minuto em água corrente. Foi realizada escovação em toda a superfície das amostras, tanto na dentina quanto no esmalte, para testar a remineralização do esmalte e a obliteração dos túbulos dentinários.

Após a última escovação, todas as amostras foram colocadas em um exsiccador sob vácuo durante a noite, para serem enviadas para análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

2.5 ANÁLISE QUALITATIVA

A técnica utilizada para a análise qualitativa foi a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (JEOL, JSM-6701F), para avaliar a deposição mineral na superfície da amostra e a obliteração dos túbulos dentinários. A análise química (EDS) também foi utilizada para identificar deposições de nanohidroxiapatita na superfície da amostra.



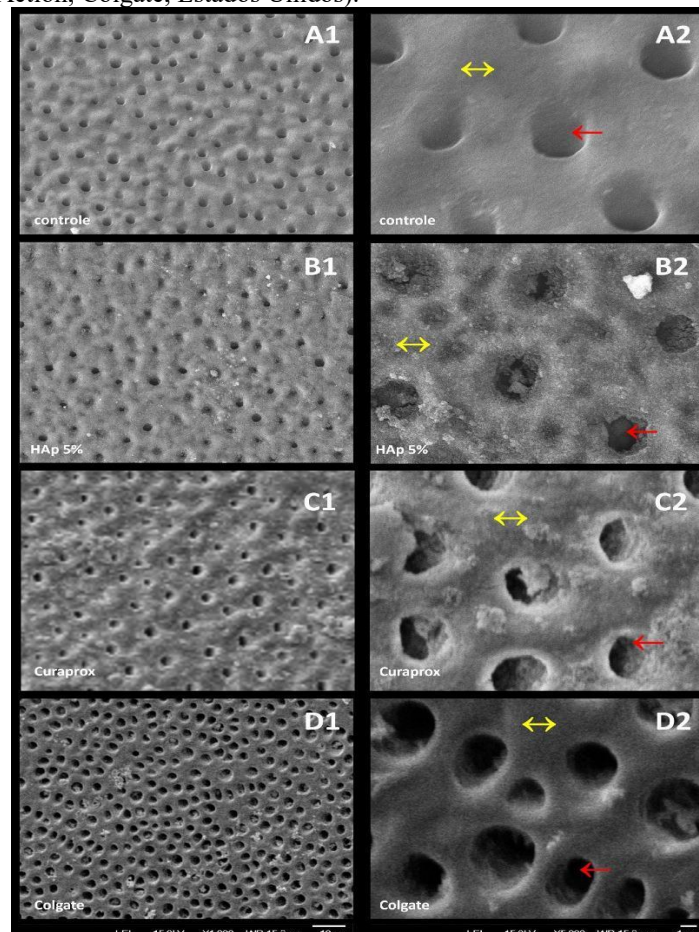
3 RESULTADOS

A análise da deposição mineral na superfície das amostras e obliteração dos túbulos dentinários por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) é mostrada na figura 1, com aumentos de 1000 e 5000x.

No grupo controle (figura 4 - imagens A1 e A2), observa-se que os túbulos dentinários não foram obliterados e a morfologia da superfície dentinária não foi alterada.

Figura 4 - As imagens B1, B2, C1 e C2 (referentes ao dentífrício com nano-HAp 5% sem flúor e ao dentífrício com nano-HAp e flúor) mostram uma deposição mineral na superfície da dentina e no interior dos túbulos dentinários, causando alterações na superfície e morfologia da dentina, bem como a obliteração dos túbulos dentinários. Existe uma diferença na aparência da deposição mineral na superfície dentinária entre o grupo B e o grupo C, onde no grupo B podemos observar uma deposição mais uniforme do que no grupo C. Em aumento de 5000x (figura 4 - imagens B2 e C2) identificou-se a presença de nano-HAp no interior dos túbulos dentinários nesses dois grupos (sinalizado pelas setas vermelhas), de acordo com o resultado da análise da EDS.

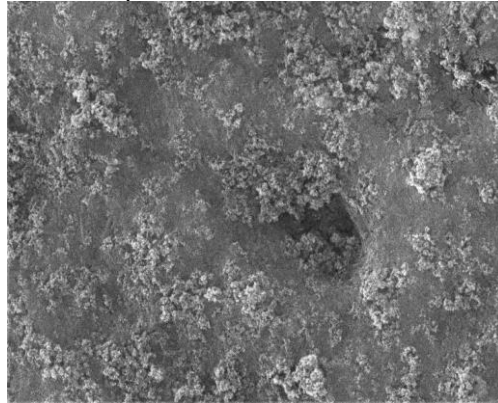
Figura 4: Imagens obtidas por MEV com aumento de 1000x (coluna esquerda) e 5000x (coluna direita), referentes aos diferentes tratamentos amostrais. As imagens A1 e A2 referem-se ao grupo controle. As imagens B1 e B2 referem-se ao dentífrício nano-HAp 5% livre de flúor (Sem nome comercial, DNPRIME, Brasil). As imagens C1 e C2 referem-se ao dentífrício com nano-HAp e flúor (Be You Amarela, Curaprox, Suíça). As imagens D1 e D2 referem-se ao dentífrício fluoretado (Colgate Triple Action, Colgate, Estados Unidos).





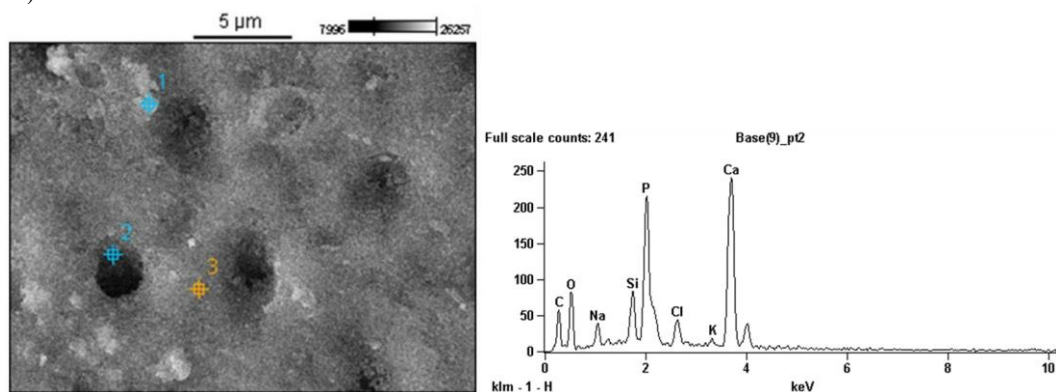
Na figura 4 - imagens D1 e D2 (referentes ao dentifrício fluoretado), embora também seja possível visualizar a deposição de material mineral, esta ocorreu de forma mais sutil e apenas dentro de alguns túbulos dentinários, não causando alteração na morfologia da dentina.

Figura 5: Imagem obtida por MEV, referente a um aumento de 10.000x de S2 (figura 1). Esta imagem refere-se à amostra de dentifrício DNPRIME, com 5% de nano-HAp livre de flúor .



Na Figura 5, é possível observar que os túbulos são preenchidos com material, este preenchimento é uniforme e de "dentro para fora". Pode-se observar que a dentina também é preenchida com material de forma homogênea, portanto, pode-se dizer que há uma interação homogênea entre o material e a superfície dentinária.

Figuras 6 e 7: Imagem com aumento de 5000x e gráfico referente à análise EDS do grupo B (dentifrício com nano-HAp 5% sem flúor).



Na Figura 6, foi utilizada a imagem com aumento de 5.000x da amostra em que foi utilizado dentifrício com nano-HAp a 5% sem flúor, no qual foram escolhidos aleatoriamente 3 pontos (pontos 1 e 2 marcados em azul e ponto 3 marcado em amarelo) para análise elementar qualitativa por EDS. O gráfico demonstra a presença de fósforo e cálcio (principais componentes do nano-HAp), confirmando a deposição do nano-HAp na superfície da dentina e dentro dos túbulos dentinários. Observa-se



também a presença de sódio e fosfato, que podem ser resíduos da solução salina tampão modificada (PBS).

4 DISCUSSÃO

Em 1970, a empresa japonesa Sangi Co Ltd foi a primeira a se interessar pela hidroxiapatita, após comprar os direitos da NASA (National Aeronautics and Space Authority of the USA). Os astronautas perderam minerais dos dentes e ossos na ausência de gravidade, e a NASA propôs uma hidroxiapatita sintética como material de reparo. Ltd teve a ideia em 1978 de lançar um creme dental que pudesse reparar o esmalte dentário, que pela primeira vez contém nano-HAp. Em 2006, surgiu na Europa o primeiro dentifrício biomimético contendo hidroxiapatita sintética como alternativa ao flúor para a remineralização e reparação do esmalte dentário.

Assim, a maior contribuição para o desenvolvimento desses agentes biomiméticos ocorreu com o advento da nanotecnologia. Os dentifrícios nano-HAp (nano-HAp) foram introduzidos e estudados pela primeira vez no Japão na década de 1980. Desde então, vários estudos têm relatado maior ou igual potencial de remineralização de dentifrícios nano-HAp em comparação com dentifrícios convencionais contendo flúor, tanto em estudos *in vitro* [Li ²⁰ et al. 2008; Tschoppe ³⁸ et al., 2011; Sadiasa ²⁹ et al., 2013; Ebadifar ⁸ et al. 2017] e *in vivo* [Najibfard ²² et al. 2011; Bossù ⁵ et al., 2019; Badiee ⁴ et al., 2020, Paszynska ²⁷, et al., 2021], e *in vivo*.

O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial do nano-HAp em remineralizar a estrutura dentária após desafio ácido. Analisando os resultados do presente estudo, observou-se que no grupo controle (Figuras A1 e A2), os túbulos não foram obliterados e a morfologia da superfície dentinária não foi alterada, o que já era esperado, uma vez que não foi utilizado nenhum agente com capacidade remineralizante. Quanto aos grupos B (dentifrício com nano-HAp 5%) e C (dentifrício com nano-HAp e flúor), foi possível observar uma deposição mineral na superfície da dentina e no interior dos túbulos dentinários, alterando a morfologia da dentina, obliterando os túbulos dentinários, o que leva a uma remineralização da estrutura dental. No entanto, neste estudo, não foi possível observar efeito sinérgico quando nano-HAp foi associado ao flúor.

Atualmente, o nano-HAp sintético é aceito como agente remineralizante, e sua eficácia é amplamente descrita e validada *in vitro* e *in vivo* na literatura científica. Diferentes modos de atividade do nano-HAp na cavidade bucal já foram estabelecidos: (i) restauração física, que consiste na fixação de partículas de nano-HAp na superfície do dente e propriedades de limpeza; (ii) efeito bioquímico pela liberação de íons cálcio e fosfato em condições ácidas, formando uma interface entre partículas de nano-HAp e esmalte; e (iii) interação biológica de partículas de nano-HAp com microrganismos. Além disso, materiais à base de nano-HAp podem dessensibilizar os túbulos dentinários expostos, formando assim uma barreira mineralizada [Enax & Eppe 2018] ⁹.



Na figura 1D (dentifrício fluoretado), embora também seja possível visualizar a deposição de material mineral, evidenciando um processo de remineralização, este ocorreu de forma mais sutil e apenas nos túbulos dentinários, não causando alteração na morfologia da dentina. Resultados semelhantes também foram observados por Yuan ⁴² et al (2012), os autores compararam o uso de um dentifrício comum com um dentifrício adicionado de nano-HAp (3%) em amostras de discos de dentes molares e pré-molares, e também observaram uma mudança na superfície da dentina e uma redução no diâmetro dos dentes. túbulos dentinários.

(2011) realizaram um estudo *in situ* duplo-cego com trinta participantes utilizando placas de esmalte com e sem lesões artificiais de cárie. Os participantes escovaram por pelo menos 28 dias com um dentifrício com flúor (1100 ppm de flúor) ou um dentifrício HAP (5% HAP e 10% HAP, respectivamente). As placas foram analisadas por microrradiografia para quantificação da perda mineral e profundidade da lesão. Os resultados mostraram que o dentifrício HAP preveniu a desmineralização do esmalte.

Um dos primeiros estudos sobre o potencial do nano HAp como agente remineralizante demonstrou que a hidroxiapatita nanométrica sintética (nano-HAp) pode reconstruir o esmalte humano sem escavação prévia, em um processo que não só repara lesões precoces de cárie, mas também ajuda a prevenir sua recorrência, fortalecendo o esmalte natural [Yamagishi et al. 2005] ³⁹. Resultados semelhantes também foram observados em dentes bovinos [Huang et al. 2009] ¹⁵, nos quais não só verificaram o processo de remineralização, como também demonstraram a capacidade do nano-HAp em aumentar significativamente a microdureza superficial.

O efeito do nano-HAp na *remineralização in vitro* do esmalte e da dentina bovina foi avaliado por microrradiografia [Tschoppe et al. 2011] ³⁸. Os dentifrícios nano-HAp demonstraram maior capacidade de remineralização da dentina e capacidade de remineralização do esmalte semelhante quando comparados aos dentifrícios fluoretados.

Neste estudo, a remineralização da dentina foi evidente com o uso do nano-HAp. No entanto, por se tratar de um estudo *in vitro*, as amostras foram submetidas apenas a um único desafio ácido, o que proporcionou desmineralização controlada. Esta situação não ocorre na cavidade oral, onde o processo de desmineralização e remineralização é constante. A partir dessa premissa, recomendam-se estudos clínicos, com pacientes, a fim de comprovar e aprofundar esses resultados. Outra questão importante, observada a partir deste estudo, que evidenciou a obliteração dos túbulos dentinários, é a sugestão de estudos sobre o uso do nano-HAp na sensibilidade dentinária, que hoje afeta uma parcela significativa da população e constitui um desafio em relação ao tratamento do cirurgião-dentista. A partir dos resultados, acredita-se que produtos com nano-HAp possam apresentar resultados promissores na dessensibilização dentinária, cuja principal causa é a exposição dos túbulos dentinários.



5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há uma demanda crescente por materiais biomiméticos em produtos de higiene bucal. Além disso, verificou-se que o nano-HAp apresenta resultados promissores para promover a remineralização da estrutura dental. A semelhança do nano-HAp com o esmalte e a dentina dos dentes naturais tem sido foco nos últimos anos. Portanto, sua propriedade atóxica e biomimética oferece uma vantagem sobre os produtos convencionais.

A partir dos resultados obtidos neste estudo, através de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e análise química (EDS), pode-se concluir que o nano-HAp possui potencial remineralizante, comprovando a eficácia de um novo dentifrício sem flúor e com 5% de nano-HAp na deposição mineral da estrutura dentária e obliteração dos túbulos dentinários.



REFERÊNCIAS

- ALVAREZ, JA; REZENDE, M; SALAZAR, M; ALVES, F; CELIBERTI, P; CIAMPONI, L. Dental fluorosis: Exposure, prevention and management. *Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Surgery*, v. 14, no. 2, 2009.
- ANWAR, EM; KHEIRALLA, LS; TAMMAM, RH Effect of fluoride on the corrosion behavior of Ti and Ti6Al4V dental implants coupled with different superstructures. *Journal of Oral Implantology*, v. 37, no. 3, p. 309–317, 2011.
- ASPINALL, SR; PARKER, JK; KHUTORYANSKIY, VV Oral care product formulations, properties and challenges. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 200, no. October 2020, p. 111567, 2021.
- BADIEE, M.; NIMA, J; SAYEDALI, F; NAZILA, A; SHAHIN, K; ASGHAR, E. Comparison of the effects of toothpastes containing nanohydroxyapatite and fluoride on white spot lesions in orthodontic patients: A randomized clinical trial. *Dental Research Journal*, v. 17, no. 5, p. 354–359, 2020.
- BOSSÙ, M.; SACCUCCI, M; SALUCCI, A; GIANNI, G; BRUNI, E; UCELLETTI, D. et al. Enamel remineralization and repair results of Biomimetic Hydroxyapatite toothpaste on deciduous teeth: An effective option to fluoride toothpaste. *Journal of Nanobiotechnology*, v. 17, no. 1, p. 1–13, 2019.
- CHEN, WQ; ZHANG, SM; QIU, J. Surface analysis and corrosion behavior of pure titanium under fluoride exposure. *Journal of Prosthetic Dentistry*, v. 124, no. 2, p. 239.e1-239.e8, 2020.
- DO, LG Guidelines for use of fluorides in Australia: update 2019. *Australian Dental Journal*, v. 65, no. 1, p. 30–38, 2020.
- EBADIFAR, A.; NOMANI, M.; FATEMI, SA Effect of nano-hydroxyapatite toothpaste on microhardness of artificial carious lesions created on extracted teeth. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, v. 11, no. 1, p. 14–17, 2017.
- ENAX, J.; EPPLE, M. Synthetic hydroxyapatite as a biomimetic oral care agent. *Oral health & preventive dentistry*, v. 16, no. 1, p. 7–19, 2018.
- ENAX, J.; FABRITIUS, H; VILPOUX, K; AMAECHI, B; MEYER, F.. Modes of Action and Clinical Efficacy of Particulate Hydroxyapatite in Preventive Oral Health Care – State of the Art. *The Open Dentistry Journal*, v. 13, no. 1, p. 274–287, 2019.
- ESPOTI, LD; LONESCU, A; BRAMBILLA, E; TAMPIERI, A; LAFISCO, M. Characterization of a toothpaste containing bioactive hydroxyapatites and in vitro evaluation of its efficacy to remineralize enamel and to occlude dentinal tubules. *Materials*, v. 13, no. 13, p. 1–13, 2020.
- FABRITIUS-VILPOUX, K.; ENAX, D; HERBIG, M; DIERK, I. Quantitative affinity parameters of synthetic hydroxyapatite and enamel surfaces in vitro. *Bioinspired, Biomimetic and Nanobiomaterials*, v. 8, no. 2, p. 141–153, 2018.
- FABRITIUS-VILPOUX, K.; ENAX, D; HERBIG, M; DIERK, I. Quantitative affinity parameters of synthetic hydroxyapatite and enamel surfaces in vitro. *Bioinspired, Biomimetic and Nanobiomaterials*, v. 8, no. 2, p. 141–153, 2018.
- HOUSE, K.; SERNETZ, F; DYMOCK, D; SANDY, J; IRELANDA, A. Corrosion of orthodontic appliances-should we care? *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, v. 133, no. 4, p. 584–592, 2008.



HUANG, SB; GAO, SS; YU, HY Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion in vitro. *Biomedical Materials*, v. 4, no. 3, p. 0–5, 2009.

IONESCU, AC; CAZZANIGA, G; OTTOBELLI, M; GODOY, F; BRAMBILLA, E. Substituted nano-hydroxyapatite toothpastes reduce biofilm formation on enamel and resin-based composite surfaces. *Journal of Functional Biomaterials*, v. 11, no. 2, 2020.

JIN, J.; XU, X; LAY, G; KUNZELMANN, K. Efficacy of tooth whitening with different calcium phosphate-based formulations. *European Journal of Oral Sciences*, v. 121, no. 4, p. 382–388, 2013.

KÖRNER, P.; SCHLEICH, J; WIEDEMEIER, D; ATTIN, T; WEGEHAUPT, F. Effects of Additional Use of Bioactive Glasses or a Hydroxyapatite Toothpaste on Remineralization of Artificial Lesions in vitro. *Caries Research*, v. 54, no. 4, p. 336–342, 2020.

LEE, BS; CHOU, P; CHEN, S; LIAO, H; CHANG, C. Prevention of enamel demineralization with a novel fluoride strip: Enamel surface composition and depth profile. *Scientific Reports*, v. 5, no. 1, p. 1–10, 2015.

LI, L; PAN, H; TAO, J; XU, X; MAO, C; GU, X; TANG, R. Repair of enamel by using hydroxyapatite nanoparticles as the building blocks. *Journal of Materials Chemistry*, v. 18, no. 34, p. 4079–4084, 2008.

LIM, J.-H.; BAIRI, V; LINDER, S; FONG, A. Detection and Characterization of Silver Nanostructures in Consumer Products. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v. 19, no. 12, p. 8078–8087, 2019.

NAJIBFARD, K.; RAMALINGAN, K; CHEDJIEU, I; AMAECHI, B. Remineralization of early caries by a nano-hydroxyapatite dentifrice. *Journal of Clinical Dentistry*, v. 22, no. 5, p. 139–143, 2011.

OLEK, A.; KLIMEK, L.; BOTTACZ-RZEPKOWSKA, E. Comparative scanning electron microscope analysis of the enamel of permanent human, bovine and porcine teeth. *Journal of Veterinary Science*, v. 21, no. 6, p. 1–14, 2020.

ORILISI, G.; TOSCO, V; MONTERUBBIANESI, R; NOTARSTEFANO, V; OZCAN, M; PUTIGNANO, A; et al. ATR-FTIR, EDS and SEM evaluations of enamel structure after treatment with hydrogen peroxide bleaching agents loaded with nano-hydroxyapatite particles. *PeerJ*, v. 9, p. 1–24, 2021.

ORSINI, G.; PROCACCINI, M; MANZOLI, L; GIULIODORI, M; LORENZINI, A; PUTIGNANO, A. A double-blind randomized-controlled trial comparing the desensitizing efficacy of a new dentifrice containing carbonate/hydroxyapatite nanocrystals and a sodium fluoride/potassium nitrate dentifrice. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 37, no. 6, p. 510–517, 2010.

OXIDE, S. DE; ESTANHO, D. Research Report Research Report. n. January, p. 1–51, 2017.

PASZYNSKA, E.; PAWINSKA, M; GAWRIOLEK, M; KAMINSKA, I; OTULAKOWSKA, J; KOLADA G. et al. Impact of a toothpaste with microcrystalline hydroxyapatite on the occurrence of early childhood caries: a 1-year randomized clinical trial. *Scientific Reports*, v. 11, no. 1, p. 1–15, 2021.

PEPLA, E. Nano-hydroxyapatite and its applications in preventive, restorative and regenerative dentistry: a review of literature. *Annali di Stomatologia*, p. 108–114, 2014.



- SADIASA, A.; DONG-WHOO, J; NATH, S; SEO, H; LEE, H. Addition of Hydroxyapatite to Toothpaste and Its Effect to Dentin Remineralization. *Korean Journal of Materials Research*, v. 23, no. 3, p. 168–176, 2013.
- SAPORETI, MP; MAZZIEIRO, ET; SALES, WF In vitro corrosion of metallic orthodontic brackets: Influence of artificial saliva with and without fluorides. *Dental Press Journal of Orthodontics*, v. 17, no. 6, p. 1–7, 2012.
- SAREMBE, S.; ENAX, J; MORAWIETZ, M; KIESOW, A; MEYER, F. In Vitro Whitening Effect of a Hydroxyapatite-Based Oral Care Gel. *European Journal of Dentistry*, vol. 14, no. 3, p. 335–341, 2020.
- SCHIFF, N.; GROSGOGIAT, B; LISSAC, M; DALARD, F. Influence of fluoride content and pH on the corrosion resistance of titanium and its alloys. *Biomaterials*, v. 23, no. 9, p. 1995–2002, 2002.
- SCHUNEMANN, WVH Effect of metallic particles released from dental implants on peri-implant tissues TT - The effect of metallic particles released from dental implants on peri-implant tissues. *ImplantNewsPerio*, v. 1, no. 4, p. 701–709, 2016.
- SOARES, CJ; PIZI, E; FONSECA, R; MARTINS, L. Influence of root embedment material and periodontal ligament simulation on fracture resistance tests. *Brazilian dental research = Brazilian oral research*, v. 19, no. 1, p. 11–16, 2005.
- STEINERT, S.; KUCHENBECKER, J; MEYER, F; SIMADER, B; ZWANZIG, K; ENAX, J. Whitening effects of a novel oral care gel with biomimetic hydroxyapatite: A 4-week observational pilot study. *Biomimetics*, v. 5, no. 4, p. 1–9, 2020.
- STEINERT, S.; ZWANZIG, K; DOENGES, H; KUCHENBECKER, J; MEYER, F; ENAX, J. Daily application of a toothpaste with biomimetic hydroxyapatite and its subjective impact on dentin hypersensitivity, tooth smoothness, tooth whitening, gum bleeding, and feeling of Freshness. *Biomimetics*, v. 5, no. 2, p. 1–11, 2020.
- SUDRADJAT, H.; MEYER, F; LOZA, K; EPPEL, M; ENAX, J. In Vivo Effects of a Hydroxyapatite-Based Oral Care Gel on the Calcium and Phosphorus Levels of Dental Plaque. *European Journal of Dentistry*, vol. 14, no. 2, p. 206–211, 2020.
- TSCHOPPE, P.; ZANDIM, D; MARTUS, P; KIELBASSA, A. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *Journal of Dentistry*, vol. 39, no. 6, p. 430–437, 2011.
- YAMAGISHI, K.; ONUMA, K; SUZUKI, T; OKADA, F; TAGAMI, J; OTSUKI, M. et al. A synthetic enamel for rapid tooth repair. *Nature*, v. 433, no. 7028, p. 819, 2005.
- YANISARAPAN, T.; THUNYAKITPISAL, P.; CHANTARAWARATIT, P. ON. Corrosion of metal orthodontic brackets and archwires caused by fluoride-containing products: Cytotoxicity, metal ion release and surface roughness. *Orthodontic Waves*, v. 77, no. 2, p. 79–89, 2018.
- YUAN, P.; SHEN X; LIU J; HOU Y; ZHU M; HUANG J; XU P. Effects of Dentifrice Containing Hydroxyapatite on Dentinal Tubule Occlusion and Aqueous Hexavalent Chromium Cations Sorption: A Preliminary Study. *PLOS ONE*, December 2012 | Volume 7 | Issue 12 | e45283.
- YOUSSEF, A.; FARID, M; ZAYED, M; LYNCH, E; ALAM, M; KIELBASSA, A. Improving oral health: a short-term split-mouth randomized clinical trial revealing the superiority of resin infiltration over remineralization of white spot lesions. *Quintessence international (Berlin, Germany: 1985)*, v. 51, no. 9, p. 696–709, 2020.



ZANDIM, DL; TSCHOPPE, P; SAMPAIO, J; KIELBASSA, A. Effect of saliva substitutes in combination with fluorides on remineralization of subsurface dentin lesions. *Supportive Care in Cancer*, v. 19, no. 8, p. 1143–1149, 2011.