

JULIANA DE KÁSSIA BRAGA FERNANDES

**ESTABILIDADE DOS RESERVATÓRIOS DE FLUORETO DE CÁLCIO NO
ESMALTE FRENTE A DESAFIOS CARIOGÊNICOS**

Dissertação apresentada à Faculdade
de Odontologia de Piracicaba da
Universidade Estadual de Campinas
para obtenção do título de Mestre em
Odontologia – Área de Cariologia.

Orientadora: Profa. Dra. Livia Maria Andaló Tenuta
Co-orientador: Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury

Piracicaba
2010

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

Bibliotecária: Elis Regina Alves dos Santos – CRB-8ª. / 8099

F391e	Fernandes, Juliana de Kássia Braga. Estabilidade dos reservatórios de fluoreto de cálcio no esmalte frente a desafios cariogênicos / Juliana de Kássia Braga Fernandes. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2010. Orientadores: Lívia Maria Andaló Tenuta, Jaime Aparecido Cury. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba. 1. Sacarose. 2. Dentifrício. I. Tenuta, Lívia Maria Andaló. II. Cury, Jaime Aparecido. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título. (eras/fop)
-------	---

Título em Inglês: Stability of calcium fluoride deposits on enamel after cariogenic challenge

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Sucrose. 2. Dentifrices

Área de Concentração: Cariologia

Titulação: Mestre em Odontologia

Banca Examinadora: Lívia Maria Andaló Tenuta, Carolina Patrícia Aires, Luis Alexandre Maffei Sartini Paulillo

Data da Defesa: 09-12-2010

Programa de Pós-Graduação em Odontologia



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 09 de Dezembro de 2010, considerou a candidata JULIANA DE KASSIA BRAGA FERNANDES aprovada.

Livia M. A. Tenuta

Profa. Dra. LÍVIA MARIA ANDALÓ TENUTA

Carolina Patrícia Aires

Profa. Dra. CAROLINA PATRÍCIA AIRES

Luis Alexandre Maffei Sartini Paulillo

Prof. Dr. LUIS ALEXANDRE MAFFEI SARTINI PAULILLO

A **Deus**, pela certeza de estar presente em minha vida, principalmente nos momentos difíceis. A Ele toda honra, glória e louvor.

Aos meus pais, **José Maria e Ana Amélia**, e ao meu irmão, **Braga Neto**, por estarem sempre ao meu lado, acreditando nos meus sonhos e me apoiando em todos os momentos da minha vida, inclusive no crescimento profissional.

Ao meu sogro, **George Fernandes**, e minha sogra, **Nilce Fernandes**, pelo apoio, pelo carinho, pela amizade e por terem me recebido como parte de sua família.

Ao meu esposo, **Frederico**, pelo amor, pelo companheirismo, pelo exemplo de pessoa que você representa pra mim e, principalmente, pelo pai maravilhoso que és. Com certeza seu incentivo foi fundamental na conclusão dessa etapa da minha vida.

Aos meus filhos, **Felipe e Luísa**, que são o maior presente de Deus na minha vida. É impossível expressar em palavras o amor que sinto por vocês.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À **Profa. Dra. Livia Maria Andaló Tenuta**, pela amizade, pela orientação segura, pela preocupação constante em nos tornar profissionais cada vez mais qualificados e por todo o apoio concedido durante o mestrado, sem o qual a realização desse sonho seria impossível. Obrigado pelo exemplo de competência e profissionalismo.

Ao **Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury**, pela competência, dedicação e exemplo de pesquisador. Obrigado, também, pelos ensinamentos conferidos não só durante a realização desse trabalho, mas durante todo o mestrado.

À **Profa. Dra. Altair Antoninha Del Bel Cury**, pela orientação científica no desenvolvimento desse trabalho e por também ter participado das etapas técnicas de sua execução. Obrigada por seu exemplo de responsabilidade e dedicação profissional.

AGRADECIMENTOS

À **Universidade Estadual de Campinas** por meio do seu Magnífico Reitor, Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa.

À **Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas**, por meio de seu Diretor, Prof. Dr. Jacks Jorge Junior.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado de São Paulo – FAPESP**, pela concessão de bolsa de estudo – Processo número 2007/06179-1

À Coordenadora dos Cursos de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, **Profa. Dra. Renata C. Matheus R. Garcia**.

À Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, **Profa. Dra. Cínthia Pereira Machado Tabchoury**, a quem agradeço também, por todo apoio e pelo exemplo de professora a ser seguido.

À **Profa. Cecília Cláudia Costa Ribeiro**, da Universidade Federal do Maranhão, pela amizade e por ter sempre me incentivado a seguir a carreira acadêmica.

Aos técnicos do Laboratório de Bioquímica Oral **Waldomiro Vieira Filho**, **José Alfredo da Silva** e a estagiária **Tamires Munerato**, pela presteza e pela ajuda durante o desenvolvimento desta pesquisa no laboratório.

Ao estagiário **Jerônimo Aparecido Ribeiro Júnior** pela imensurável ajuda durante a realização desse trabalho.

Aos **voluntários** que participaram desta pesquisa, pelo senso de cooperação, desprendimento e dedicação. Acima de tudo, agradeço pela amizade.

Aos amigos **Regiane Cristina do Amaral, Ana Flávia Bissoto Calvo, Sandro Kussano, Carolina Patrícia Aires, Marília Ferreira Correia, Renzo Ccahuana-Vásquez, Glauber Vale e Rodrigo Arthur** pela amizade, pelo companheirismo e pelo apoio nos momentos difíceis ao longo do curso de mestrado.

Aos amigos **Antonio Pedro Ricomini Filho, Fabiana Gouveia Straioto, Priscilla Nogueira Gomes, Silvia Carneiro de Lucena e Simone Guimarães Farias Gomes** pela amizade e pela convivência agradável durante esta jornada.

Aos amigos **Luciana Almeida, Liana Linhares, Evandro Figueirêdo, Ana Regina Moreira** pela amizade verdadeira e pelo companheirismo nessa jornada. Em especial, ao amigo **Rafael Maya** pelo importante apoio durante o curso de mestrado.

RESUMO

Depósitos minerais do tipo fluoreto de cálcio (“CaF₂”) são formados no esmalte após aplicação tópica profissional de flúor (ATPF). Esses depósitos atuam como um reservatório de íons flúor para o fluido do biofilme, os quais reduzem a desmineralização no esmalte. Neste trabalho, a hipótese de que o “CaF₂” seja dissolvido mais rapidamente mediante desafios cariogênicos foi testada, assim como a influência do uso de dentifrício fluoretado nessa dissolução. Para isso, foi conduzido um estudo *in situ*, cruzado e duplo-cego com duas fases de 14 dias cada, nas quais 12 voluntários utilizaram um dispositivo intrabucal palatino contendo 12 blocos de esmalte tratados com flúor fosfato gel acidulado (12.300 ppm F, pH 3,6-3,9) no primeiro dia de cada fase experimental. Adicionalmente, dois blocos foram fixados com cera na porção anterior do dispositivo e 30 minutos após a ATPF foram retirados para a determinação do “CaF₂” formado logo após o tratamento com fluoreto. Durante o período experimental, foi gotejada solução de sacarose a 20% sobre os blocos de esmalte nas frequências de 2 ou 8X ao dia. Três vezes ao dia, os voluntários utilizaram dentifrício fluoretado (1100 µg F/g, NaF) ou não fluoretado. Após 2, 7 e 14 dias de uso do dispositivo, os blocos de esmalte foram coletados para a determinação do “CaF₂” remanescente. A extração do “CaF₂” foi feita com solução de KOH M, em duas extrações sequenciais por 24 e 6 horas. Para análise estatística, os voluntários foram considerados blocos estatísticos (n=12) e o nível de significância adotado foi de 5%. A concentração do “CaF₂” formado sobre os blocos de esmalte após a ATPF diminuiu em função do tempo (p<0,0001), embora 2 semanas após a ATPF continuasse mais alta do que blocos de esmalte não tratados com ATPF. Sob uso de dentifrício fluoretado, a dissolução do “CaF₂” foi reduzida (p=0,0115), porém a frequência de consumo de sacarose não parece ter interferido nessa dissolução (p=0,226). Os resultados sugerem que a dissolução do “CaF₂” parece não ter sido influenciada pela frequência de consumo de sacarose e que sua manutenção é favorecida pelo uso concomitante de dentifrício fluoretado.

Palavras-chave: Aplicação tópica profissional de flúor, Fluoreto de cálcio, Sacarose, Dentifrício fluoretado

ABSTRACT

Calcium fluoride-like (“CaF₂”) deposits are formed on enamel after professional topical fluoride application, and they can serve as a reservoir of fluoride ions to the biofilm fluid, to reduce enamel demineralization. In the present study, the hypothesis that “CaF₂” is more readily dissolved during a higher cariogenic challenge was tested. Also, the effect of exposure to fluoride dentifrices on “CaF₂” dissolution was evaluated. Thus, a crossover, double-blind and *in situ* study was conducted in 2 phases of 14 days each. In each phase, 12 volunteers used intra-oral palatal appliances containing 12 enamel blocks treated with acidulated phosphate fluoride, APF (12,300 ppm F, pH 3,6-3,9) on the first day of each phase. Additionally, two blocks were fixed with wax on the palatal appliance and removed 30 minutes after treatment with APF to determine the concentration of “CaF₂” formed. During the experimental period, the enamel blocks were exposed to 20% sucrose solution 2X or 8X/day. Three times a day, the volunteers used fluoride dentifrice (1100 µg F/g, NaF) or non-fluoride dentifrice. On the 2th, 7th e 14th day of each phase, enamel blocks were collected and the remaining “CaF₂” concentration was determined. For “CaF₂” determination, blocks were immersed in 1.0 M KOH, for 24 and 6 h. Data was statistically analyzed considering the volunteers as statistical blocks (n=12) and the significance limit was set at 5%. “CaF₂” concentration decrease with time (p<0.0001), but was still higher than enamel blocks not treated with APF 2 weeks after APF application. Under fluoride dentifrice use, “CaF₂” dissolution was reduced (p=0.0115), but the frequency of sucrose exposure did not seem to have affected it (p=0.226). The findings suggest that the frequencies of sucrose exposure did not influence the “CaF₂” dissolution; and that its maintenance is facilitated by the concurrent use of fluoride dentifrice.

Key Words: Professional topical fluoride, Calcium fluoride, Sucrose, Fluoride dentifrice

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	4
3	PROPOSIÇÃO	12
4	MATERIAIS E MÉTODOS	13
5	RESULTADOS	19
6	DISCUSSÃO	21
7	CONCLUSÃO	24
	REFERÊNCIAS	25
	ANEXO	28

1 INTRODUÇÃO

A cárie é uma doença biofilme-açúcar dependente (Paes Leme *et al.*, 2006). Quando carboidratos fermentáveis, como a sacarose, são consumidos, estes difundem-se pelo biofilme e são fermentados pelo metabolismo bacteriano em ácidos, provocando queda de pH no fluido do biofilme. A cada evento de queda de pH, o meio se torna subsaturado em relação aos minerais do dente, que tende a perder mineral (desmineralização). Após certo tempo de exposição à sacarose, o pH no fluido do biofilme retorna à neutralidade e a condição de supersaturação é restabelecida, favorecendo a reposição de parte do mineral perdido pelo dente (remineralização) (Pearce, 1998). A cárie poderia, então, ser controlada desorganizando o biofilme pela escovação e reduzindo o consumo de sacarose da dieta. No entanto, há evidências de que o sucesso dessas estratégias mostra-se limitado (Duggal & van Loveren, 2001).

Nesse contexto, reforça-se a importância do fluoreto (F), íon capaz de interferir nos fenômenos de des-remineralização, minimizando a perda mineral associada à cárie (Cury & Tenuta, 2008). A disponibilidade deste íon no meio bucal favorece a formação da fluorapatita (FA), mineral com menor solubilidade em relação à hidroxiapatita (HA). Assim, à medida que a HA é dissolvida durante a queda de pH no biofilme dental, a FA, menos solúvel, tende a se precipitar, reduzindo a perda mineral. Quando o pH retorna à neutralidade na presença de F, além da HA, a FA também é depositada, ativando a remineralização. Dessa forma, considera-se que o efeito do F seja essencialmente tópico, ou seja, disponível no meio bucal para interferir na dinâmica da cárie (ten Cate, 1997).

O meio mais racional de utilização do fluoreto são os dentífrícios fluoretados, pois à medida que o biofilme dental é desorganizado pela escovação, o fluoreto é disponibilizado para saliva e fluido do biofilme remanescente atuando no processo de des-remineralização (Zero *et al.*, 1988; Tenuta *et al.*, 2009). Em grupos populacionais isolados, no entanto, com alto índice de cárie, ou mesmo em indivíduos com alta atividade da doença, está indicado, em associação aos dentífrícios fluoretados, o uso tópico profissional de F (Ögaard *et al.*, 1994), sendo

este um método com eficácia comprovada por estudos clínicos controlados (Marinho *et al.*, 2003).

O mecanismo de ação da aplicação tópica profissional de fluoreto está relacionado com: (1) o aumento de F nos fluidos orais, saliva e fluido do biofilme e (2) a formação de dois produtos, a fluorapatita, incorporada à estrutura do esmalte, e um mineral tipo fluoreto de cálcio ("CaF₂"), adsorvido ao esmalte, formados a partir da reação da estrutura mineralizada do dente com o F (Ögaard *et al.*, 1994).

Por muito tempo, a FA foi supervalorizada em detrimento do "CaF₂", isso porque como a FA é incorporada ao dente, acreditava-se que com isso o dente passaria a ser mais ácido resistente. Dessa forma, a FA seria mais desejável ao "CaF₂", que se perderia em 24 horas após a aplicação tópica por ser mais solúvel do que a FA no ambiente bucal (McCann, 1968; Brudevold *et al.*, 1967).

No entanto, hoje se aceita que o fluoreto de cálcio formado após aplicação tópica possui estabilidade relativa em função do pH do meio, podendo permanecer por diversos dias na superfície de dentes hígidos ou cariados, agindo como reservatório de fluoreto, liberando-o durante desafios cariogênicos (Rölla *et al.*, 1993; Ögaard, 2001). Nesse sentido, a relevância do "CaF₂" corresponde aos conceitos atuais de controle da cárie, em que o F importante é o F disponível para interferir nos processos de des-remineralização. De fato, Ögaard *et al.* (1990), demonstraram que o "CaF₂" é o principal responsável pelo efeito anticárie da aplicação tópica de F.

A razão para a permanência dos depósitos de fluoreto de cálcio por mais tempo do que antes se pensava está associada à adsorção de moléculas de fosfato e proteínas sobre esses glóbulos em pH neutro. No entanto, quando o pH se torna ácido, essas moléculas são protonadas, expondo os glóbulos de "CaF₂", que se dissolvem e liberam fluoreto para o meio para interferir na dinâmica da cárie (Rölla & Ögaard, 1986).

Assim, em situações onde há a formação de biofilme dental cariogênico, com exposição constante a carboidratos fermentáveis, como a sacarose, as sucessivas quedas de pH no fluido do biofilme dental levariam a um esgotamento mais rápido dos reservatórios de fluoreto de cálcio ao longo do tempo. No entanto, essa hipótese não foi testada experimentalmente, e ela teria implicações na indicação da frequência de reaplicação profissional de fluoreto com base na atividade de cárie do paciente.

Adicionalmente, o uso de dentifrício fluoretado contribui para a disponibilidade de fluoreto na saliva e fluido do biofilme (Zero *et al.*, 1988; Tenuta *et al.*, 2009) o que poderia compensar o esgotamento dos reservatórios formados pela aplicação profissional de F mediante as quedas de pH do meio. Dessa forma, justifica-se a avaliação da estabilidade dos reservatórios de fluoreto de cálcio formados após ATPF mediante situações de alta ou baixa frequência de exposição à sacarose e o papel associado do uso de dentifrício fluoretado.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fluoreto de cálcio

Em 1945, **Gerould** demonstrou através de raios-X e elétron difração a formação do fluoreto de cálcio após a imersão de espécimes de esmalte em solução aquosa de NaF a 4% durante um mês. O estudo também demonstrou que os espécimes tratados previamente com solução de NaF a 4% apresentaram resistência ao ataque ácido feito com 10 N de HCl por 10 segundos, indicando que os depósitos de fluoreto de cálcio formados após aplicação tópica de fluoreto conferem proteção ácida ao esmalte.

Em outro estudo utilizando-se de microscopia eletrônica e elétron difração, **Gray et al** (1958) confirmaram a formação do fluoreto de cálcio no esmalte após aplicação tópica de solução a 0,2% de fluoreto de sódio, variando o pH em uma escala de 3 a 7. Os autores observaram a formação de cristais de fluoreto de cálcio sob a superfície do esmalte após o tratamento, sendo que quanto menor foi o pH da solução maior foi a formação de fluoreto de cálcio, porém os autores não consideraram relevante a proteção ácida conferida pelo fluoreto de cálcio ao esmalte.

Brudevold et al (1967) apontaram que o fluoreto de cálcio formado após aplicação tópica de fluoreto é perdido em poucas horas e, portanto, teria pouca relevância no controle da cárie dental. Nesse estudo foi realizado um experimento *in vivo* seguido de um *in vitro*. No primeiro, foram utilizados quatro pré-molares com extração indicada de dois pacientes. Um dos dentes foi separado para controle e outros passaram por diferentes tratamentos, os quais variavam na concentração de fluoreto e no pH. As extrações dos dentes foram feitas 5 minutos a 14 dias após os tratamentos. Blocos de esmalte foram preparados a partir destes dentes e a concentração de fluoreto foi determinada após extração ácida do fluoreto nos blocos. No segundo estudo, blocos de esmalte humanos foram tratados *in vitro* com soluções de fluoreto em diferentes concentrações e pH, alguns blocos receberam ataque ácido previamente ao tratamento. Logo após,

foram deixados em água por 8 dias e a solução foi analisada quanto ao F, Ca e P. Os resultados destes estudos mostraram que a maior parte do fluoreto que reagia com o esmalte era perdida em poucas horas e que apenas uma concentração pequena permanecia retida no esmalte na forma de fluorapatita. A dedução de que a porção perdida de fluoreto estava na forma de fluoreto de cálcio foi baseada nas análises dos íons cálcio e flúor feitas da água onde os blocos permaneciam por cerca de uma semana e nos produtos de solubilidade (pKs) da hidroxiapatita, fluorapatita e fluoreto de cálcio.

McCann (1968) ressaltou a solubilidade do fluoreto de cálcio, afirmando que este seria solúvel em saliva na mesma extensão que na água. Segundo o autor, o fluoreto de cálcio é rapidamente perdido da superfície do esmalte e somente a fluorapatita possui alguma relevância clínica, já que o mecanismo de ação do íon flúor na inibição da cárie estaria muito mais relacionado com a estabilidade da fluorapatita em contato com os fluidos bucais do que com o papel do fluoreto de cálcio, que seria apenas disponibilizar fluoreto no meio pela sua dissolução para que este possa ser convertido em fluorapatita.

Por outro lado, **Myers** (1977), considerou prematuro afirmar que o fluoreto de cálcio formado após aplicação tópica de fluoreto tenha um papel irrelevante no controle da cárie baseando-se apenas na sua solubilidade. O autor argumentou que a dissolução do fluoreto de cálcio pode resultar em outros produtos que tenham papel anticárie, dessa forma o fluoreto de cálcio seria importante no mecanismo de ação da aplicação tópica de fluoreto.

A partir de estudo *in vivo* realizados por **Ögaard et al** (1983) foi demonstrado que após aplicação tópica de flúor, o fluoreto de cálcio formado permanece na superfície do esmalte por pelo menos duas semanas após o tratamento. Nesse trabalho, foi criado um espaço para o acúmulo de biofilme entre as bandas ortodônticas e o esmalte de dois pré-molares de pacientes em tratamento. Esta condição foi mantida por 4 semanas, após as quais um dos dentes foi extraído como controle e o no outro foi feita aplicação tópica com fluoreto e mantido por mais duas semanas. Após esse período, o dente foi

extraído e a incorporação do flúor na forma de fluoreto de cálcio e fluorapatita no esmalte foi avaliada. A presença do fluoreto de cálcio mesmo após duas semanas de tratamento foi considerada expressiva, embora a relevância anticárie do método tenha sido atribuída à fluorapatita.

Rölla & Ögaard (1986) realizaram um experimento *in vitro*, onde a dissolução do fluoreto de cálcio foi avaliada em diferentes condições: água (controle), saliva, solução saturada com hidroxiapatita, solução tampão de fosfato com pH 7 e solução de albumina. A dissolução do fluoreto de cálcio foi significativamente maior na água do que na saliva. Tal fato pôde ser explicado, segundo os autores, pelo efeito do íon comum cálcio e pela formação de uma camada protetora à base de fosfato e proteínas, presentes na saliva, sobre os glóbulos de fluoreto de cálcio diminuindo sua dissolução. Nesse estudo a influência do pH também foi avaliada, para isso o fluoreto de cálcio foi pré-tratado com saliva e o pH foi manipulado. Em pH 7, o fluoreto de cálcio permaneceu estável, porém quando o pH caiu em torno de 5, a dissolução do fluoreto de cálcio foi favorecida. Dessa forma, os autores formularam a hipótese de que os depósitos de fluoreto de cálcio formados sobre o dente constituem um sistema lento de liberação do fluoreto dependente do pH, que poderia exercer um importante papel no controle da cárie, pois disponibilizaria íons flúor justamente durante as quedas de pH pela fermentação do açúcar por bactérias.

Lagerlöf et al (1988) avaliaram o papel do ortofosfato inorgânico e do pirofosfato na dissolução do fluoreto de cálcio na água. Os íons cálcio e flúor, provenientes do sólido de fluoreto de cálcio, foram monitorados de 15 a 30 minutos em solução aquosa contendo diferentes concentrações ortofosfato inorgânico e pirofosfato. Baixas concentrações (1-10 $\mu\text{mol/l}$) desses íons foram capazes de inibir significativamente a dissolução do fluoreto de cálcio. Essa inibição foi pH dependente, sendo que quanto menor foi o pH maior foi a dissolução. Os autores concluíram que sobre o fluoreto de cálcio é adsorvida uma camada de fosfato que lhe confere uma estabilidade dependente do pH, liberando

fluoreto gradativamente para o meio, podendo ser este o principal mecanismo da aplicação tópica de fluoreto.

Em um estudo paralelo aos estudos voltados para a avaliação do fluoreto de cálcio, **Ögaard *et al*** (1988) demonstraram através de modelo de cárie em humanos que mesmo o esmalte de tubarão com cerca de 30.000 ppm F firmemente ligado ao esmalte não foi suficiente para evitar a perda mineral após o acúmulo de biofilme por 4 semanas e, ainda, que dentes tratados com solução diária de 0,2% de NaF tiveram menor perda mineral do que os dentes de tubarão e profundidade de lesão equiparada. Dessa forma, os autores geraram a evidência de que o flúor solúvel disponível no ambiente bucal é mais importante do que o flúor incorporado ao dente na forma de fluorapatita.

Rölla (1988), em uma revisão de literatura, valoriza o papel do fluoreto de cálcio no controle da cárie segundo os novos conceitos de mecanismo de ação do íon flúor. O autor argumenta que o fluoreto de cálcio ao se solubilizar em pH ácido libera flúor iônico para o meio, que reage com outros íons ali presentes devolvendo parte do mineral perdido na forma de fluorapatita, sendo a fluorapatita consequência do processo e não causa. Dentro dessa perspectiva, o fluoreto de cálcio é apontado como o principal responsável pelo efeito anticárie da aplicação tópica de fluoreto.

Christoffersen *et al* (1988) avaliaram a cinética de formação e dissolução dos cristais de fluoreto de cálcio bem como a influência do fosfato nesses processos. A presença de fosfato na solução viabiliza a formação de cristais de fluoreto cálcio contaminados internamente por fosfatos, sendo que o grau de contaminação depende das condições do meio em que foi formado, como por exemplo o pH da solução. Dessa forma, foi sugerido que o fluoreto de cálcio formado no esmalte após a aplicação tópica de soluções aciduladas de fluoreto em alta concentração é na verdade um mineral contaminado por fosfato. Adicionalmente, este mineral mostrou-se mais solúvel em comparação ao fluoreto de cálcio puro, o que possibilita uma maior liberação de fluoreto para o meio.

Saxegaard & Rølla (1988) avaliaram *in vitro* a aquisição de flúor em blocos de esmalte após a aplicação tópica de solução de fluoreto de sódio em diferentes tempos de aplicação, concentrações e pH. O efeito do pré-tratamento do esmalte com 200 mmol/l de cloreto de cálcio por 5 minutos e 37% de ácido fosfórico por 1 minuto também foi avaliado. O principal produto da reação do esmalte com o meio tópico de aplicação do flúor foi o fluoreto de cálcio (> 70%). A concentração desse sal aumentou com o tempo, com a concentração e com o pH do meio utilizado. A disponibilidade de íons cálcio no meio pelo pré-tratamento também resultaram em maior formação de fluoreto de cálcio, embora o ataque ácido anterior à aplicação tópica de fluoreto tenha tido um papel preponderante. No entanto, o maior fator de impacto na formação do fluoreto de cálcio nesse estudo foi o tempo. Com isso, os autores reafirmaram o efeito cariostático do uso dos vernizes, por permanecerem por mais tempo em contato com a superfície dental e, com isso, formarem mais fluoreto de cálcio, e aconselharam o uso de formulações aciduladas de fluoreto ao invés de soluções neutras por permitirem maior formação do fluoreto de cálcio.

2.2 Aplicação tópica profissional de fluoreto (ATPF)

Dijkman & Arends (1988) realizaram estudo *in situ* para avaliação dos depósitos de fluoreto de cálcio formados após a aplicação tópica de flúor fosfato acidulado (APF) em gel, Duraphat e Flúor Protector. Vinte voluntários adultos utilizaram por uma semana uma prótese removível de acrílico contendo blocos de esmalte humanos tratados previamente com um dos métodos. Para a determinação da concentração de fluoreto de cálcio no esmalte foi utilizada solução de KOH. Em todos os tratamentos, o fluoreto de cálcio pôde ser mensurado dos blocos de esmalte após uma semana de estudo *in situ*. Os resultados demonstraram que o Flúor Protector mesmo após uma semana manteve 40% dos valores iniciais de fluoreto de cálcio e que o APF gel apresentou eficácia similar ao Duraphat na formação dos depósitos de fluoreto de cálcio.

Hayacibara et al (2004) através de um estudo *in vitro* avaliaram a performance de diferentes métodos de aplicação tópica de flúor na formação do fluoreto de cálcio. Quarenta blocos de esmalte bovino foram montados em cera e divididos de forma randomizada em quatro grupos: APF gel, APF espuma, verniz e controle. O fluoreto de cálcio foi determinado por extração álcali com KOH por 24 horas em temperatura ambiente. O experimento demonstrou que os métodos utilizados de aplicação tópica de fluoreto formaram uma expressiva quantidade de fluoreto de cálcio sobre o esmalte quando comparado com o controle, e que o pH foi mais importante do que a concentração do método empregado na formação desse sal.

Em 2008, **Tenuta et al** realizaram um experimento *in situ* de curta-duração onde blocos de esmalte bovino foram previamente tratados com solução não fluoretada ou solução acidulada de NaF 0,5 M. Diferentes concentrações de fluoreto de cálcio foram produzidas pelo envelhecimento dos blocos tratados, os quais foram montados em dispositivo em contato com placa teste de *S. mutans* IB1600. Dez voluntários utilizaram o dispositivo por cerca de uma hora, período no qual os blocos de esmalte foram submetidos a um desafio cariogênico com solução de sacarose a 20%. Os resultados desse estudo demonstraram haver relação de dose resposta entre as diferentes concentrações de fluoreto de cálcio no esmalte, a liberação de fluoreto para o fluido do biofilme e o efeito da inibição da desmineralização, dessa forma quanto maior foi a concentração do fluoreto de cálcio, maior foi a liberação de fluoreto para o fluido e menor foi a perda mineral.

2.3 Associação da ATPF com o uso de dentifrícios fluoretados

Paes Leme et al (2004) avaliaram a associação entre a aplicação do flúor fosfato acidulado em gel a 1,23% de fluoreto e o uso de dentifrício fluoretado na desmineralização do esmalte pelo acúmulo de biofilme e exposição à solução de sacarose 20% em diferentes freqüências. Foi realizado um experimento *in situ* com quatro fases de 14 dias cada, no qual 16 voluntários adultos usaram um dispositivo intrabucal palatino contendo blocos de esmalte bovinos. Os voluntários

foram randomizados nos seguintes grupos de tratamento: dentifrício fluoretado (1100 ppm F à base de sílica), dentifrício não fluoretado, aplicação tópica profissional de flúor (ATPF) mais dentifrício fluoretado e ATPF mais dentifrício não fluoretado. Durante o período experimental, solução de sacarose foi gotejada sobre os blocos nas frequências de 4 ou 8 vezes ao dia. Os resultados desse trabalho demonstraram que a associação dos métodos não representou diminuição da perda mineral sofrida pelo esmalte comparada com o uso da ATPF ou do dentifrício fluoretado isoladamente. Por outro lado, foi observada, após 10 horas da escovação com dentifrício fluoretado, uma concentração de fluoreto no biofilme 30 vezes maior do que o grupo controle. Da mesma forma, ATPF foi responsável pela alta concentração de fluoreto no biofilme mesmo após 14 dias de estudo *in situ*.

Em um estudo mais recente, **Paes Leme *et al*** (2007) confirmaram que a associação da ATPF ao uso de dentifrício fluoretado não representou efeito adicional no controle da cárie. Nesse estudo, 16 adultos utilizaram um dispositivo intrabucal palatino contendo blocos de esmalte por quatro fases de 14 dias cada. Os voluntários foram distribuídos nos seguintes grupos de estudo: controle, ATPF, dentifrício fluoretado (DF), dentifrício placebo com relação ao flúor (DP), ATPF + DP e ATPF + DF. Durante o período experimental, os voluntários gotejaram solução de sacarose 20% 8X ao dia e realizaram escovação com um dos dentifrícios recomendados 3X ao dia. Ao final de cada fase, os blocos foram coletados para análise do fluoreto incorporado ao esmalte. Os autores concluíram que apesar da ATPF ser capaz de promover a incorporação de F no esmalte, não houve efeito aditivo de retenção de fluoreto na associação da ATPF e o uso de dentifrício fluoretado. No entanto, nesse trabalho os autores chamam a atenção para o fato de que a utilização do dentifrício fluoretado foi padronizada em 3X ao dia e que essa frequência pode estar sendo negligenciada em pacientes de alto risco de cárie, para os quais a ATPF vem sendo recomendada.

Em outro estudo de associação de métodos, **Jardim *et al*** (2008) realizaram um experimento *in situ* no qual cinco adultos utilizaram por 35 dias uma

prótese removível contendo blocos de esmalte desmineralizados previamente *in vitro*. Cada prótese continha cinco blocos, os quais foram escovados com dentifrício fluoretado 3X ao dia por 1 minuto. Os blocos foram distribuídos entre os seguintes tratamentos durante o período experimental: dentifrício fluoretado (DF), DF + uma aplicação tópica profissional de fluoreto (ATPF), DF + 2 ATPF, DF + 3 ATPF, DF + 4 ATPF, sendo que as aplicações profissionais foram feitas com intervalo de uma semana uma da outra. O trabalho demonstrou que os grupos DF + 3 ATPF e DF + 4 ATPF foram os únicos capazes de aumentar a quantidade de fluoreto de cálcio formado no esmalte, bem como a microdureza de superfície, em comparação aos blocos de esmalte desmineralizados, embora não tenha sido observada diferença dentro dos grupos de tratamento.

3 PROPOSIÇÃO

Considerando a importância dos reservatórios de fluoreto de cálcio como fonte de fluoreto para o fluido do biofilme de modo a interferir na dinâmica da cárie em indivíduos com alta atividade da doença, o presente trabalho teve por objetivo estudar a estabilidade desses reservatórios formados após ATPF em condições de baixa e alta frequência de desafios cariogênicos. O papel do dentifrício fluoretado na manutenção desses depósitos também foi avaliado.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos e seleção de voluntários

Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Odontologia da UNICAMP (Protocolo nº 103/2007). Dessa maneira, 12 voluntários adultos, com idades entre 20 e 32 anos e dentro dos critérios de inclusão da pesquisa (adultos saudáveis, com fluxo salivar normal e não utilizando antibióticos ou aparelho intrabucal fixo ou removível, e com habilidade de compreender o protocolo experimental) foram selecionados a participar do experimento após terem assinado o termo de consentimento livre e esclarecido, de acordo com a resolução Nº 196 de 10/03/1996, do Ministério da Saúde.

4.2 Delineamento Experimental

Em um estudo *in situ*, cruzado e duplo-cego, 12 voluntários adultos utilizaram, durante 2 fases de 14 dias cada, um dispositivo intrabucal palatino contendo 12 blocos de esmalte humano, 6 de cada lado do dispositivo, cobertos por uma tela plástica para promover o acúmulo de biofilme. Previamente à colocação da tela plástica sobre os blocos de esmalte, estes foram tratados *in situ* com flúor fosfato acidulado em gel (1,23% de fluoreto, pH = 3,6-3,9, Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil) por 4 minutos no primeiro dia de cada fase. Ao longo de cada fase experimental, foi gotejada sacarose a 20%, extra-oralmente, sobre os blocos em diferentes freqüências de aplicação: em um lado do dispositivo os blocos foram tratados com solução de sacarose 2 vezes ao dia, e no outro lado, 8 vezes ao dia. Em estudos prévios (Ccahuana-Vasquez *et al.*, 2007, entre outros), o uso de dois tratamentos no mesmo dispositivo (estudo tipo “boca-dividida”) demonstrou não resultar em efeito cruzado. Os voluntários foram aleatorizados em dois grupos, um grupo iniciou o experimento utilizando dentifrício não fluoretado e, no outro, dentifrício fluoretado (1100 µg F/g, NaF), sendo o dentifrício substituído para a fase seguinte após um período de 7 dias de *washout*, caracterizando o delineamento cruzado. Após 2, 7 e 14 dias de uso do dispositivo, os blocos de

esmalte foram coletados, pelo menos 10 horas após a última exposição à sacarose, para a determinação da concentração de fluoreto de cálcio remanescente no esmalte. Blocos de esmalte foram fixados na porção anterior do dispositivo e tratados com o gel fluoretado da mesma forma que os demais blocos; após 30 minutos de uso do dispositivo, foram coletados para a determinação da concentração de fluoreto de cálcio formado logo após a aplicação tópica de fluoreto. Blocos de esmalte adicionais foram utilizados para a avaliação da concentração de fluoreto de cálcio no esmalte sem tratamento. Para a análise estatística, os voluntários foram considerados blocos estatísticos (n=12) (Figura 1).

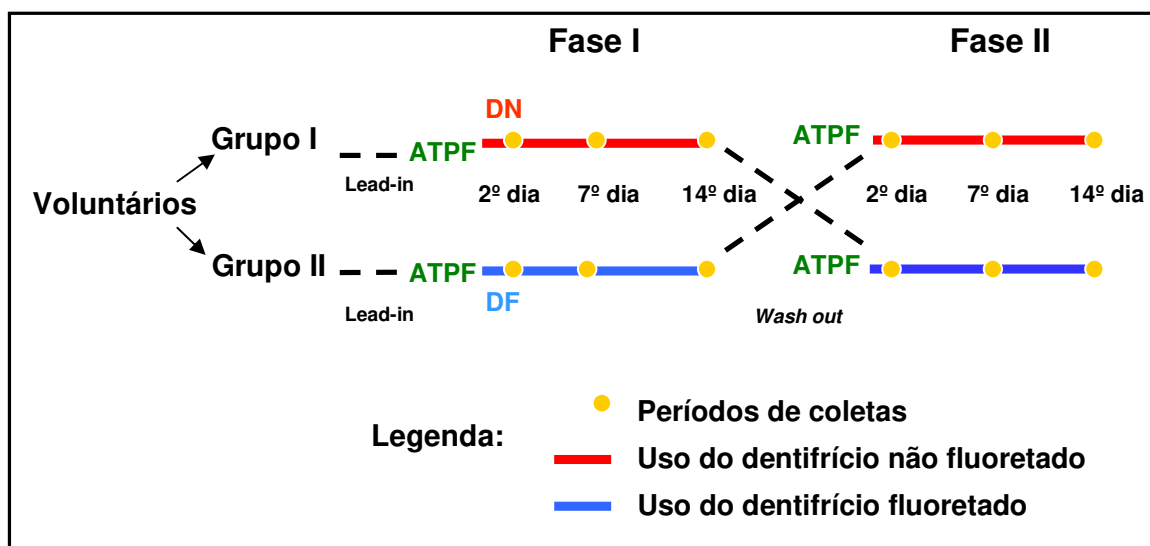


Figura 1 – Esquema do delineamento experimental da pesquisa

4.3 Obtenção dos blocos de esmalte e preparo do dispositivo intrabucal palatino

Os blocos de esmalte foram confeccionados a partir de terceiros molares inclusos, os quais foram armazenados em solução de formol a 2%, pH 7,0 por pelo menos 30 dias antes do início do preparo dos blocos (Cury *et al.*, 1997). Os blocos de esmalte foram confeccionados nas dimensões 4 x 4 x 2 mm. Com intuito de selecionar blocos dentais com valores de microdureza Knoop de superfície padronizados, 3 endentações, distantes 100 µm uma das outras, foram

realizadas próximas à região central de cada bloco, utilizando o microdurômetro com penetrador tipo Knoop, com carga de 50 g por 5 segundos. Dessa forma, no experimento foram utilizados blocos de esmalte com média de dureza Knoop de 368, 8 ($\pm 11,2$), os quais foram randomizados e distribuídos entre os grupos de tratamento.

Para cada voluntário foi confeccionado em resina acrílica um dispositivo intrabucal palatino, contendo 6 cavidades medindo 9 x 5 x 3 mm. As cavidades foram dispostas 3 de cada lado do dispositivo e cada uma continha 2 blocos de esmalte, os quais foram repostos para fase experimental seguinte. Telas plásticas foram fixadas sobre as cavidades do dispositivo, deixando um espaço de 1 mm sobre os blocos de esmalte para que o biofilme fosse acumulado. Resina acrílica incolor e vermelha foi utilizada para a fixação das telas plásticas no dispositivo e, ao mesmo tempo, serviam para identificar as diferentes freqüências de exposição à sacarose (Hara *et al.*, 2003 para mais detalhes sobre o preparo do dispositivo).

4.4 Tratamentos

Na semana que antecedeu o início do experimento e ao longo deste, os voluntários escovaram seus dentes com dentífrico à base de sílica e sem substância anti-placa (formulação gentilmente cedida pela Colgate em tubos codificados), sendo os dentífricos não fluoretado ou fluoretado (1100 $\mu\text{g F/g}$, NaF) de acordo com a fase experimental do estudo. A escovação foi padronizada em 3 vezes ao dia, após as principais refeições (Cury *et al.*, 2010), sendo que a última escovação deveria ocorrer impreterivelmente entre às 20:00 e 21:00 horas.

No 1º dia de cada fase do experimento foi feita aplicação tópica profissional de fluoreto por 4 minutos com flúor fosfato acidulado em gel (1,23% de fluoreto, pH = 3,6-3,9, Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil) nos dentes dos voluntários, nos blocos de esmalte do dispositivo, ainda descobertos da tela plástica, e em dois blocos de esmalte fixados ao dispositivo com auxílio de cera pegajosa na porção anterior do dispositivo. Após 4 minutos, o excesso de gel foi retirado dos dentes dos voluntários e dos blocos de esmalte com auxílio de gaze. Após 30

minutos de uso do dispositivo, os blocos fixados na porção anterior do dispositivo foram retirados para análise imediata do fluoreto de cálcio formado e a tela plástica foi fixada sobre os blocos de esmalte restantes do aparelho. A fixação das telas foi feita de um lado do dispositivo com resina acrílica incolor e do outro lado, resina acrílica vermelha, identificando os lados de menor e maior frequência de exposição à sacarose, respectivamente (Figura 2).



Figura 2 – À esquerda, dispositivo intrabucal palatino preparado para receber a ATPF *in situ*; à direita, o dispositivo após a colocação das telas plásticas fixadas com resina acrílica incolor e vermelha, indicando as diferentes frequências de exposição a sacarose

Durante o período experimental, os voluntários foram instruídos a remover o dispositivo intrabucal e gotejar uma gota de sacarose 20% sobre cada bloco de esmalte, conforme a frequência de tratamento designada para cada lado do dispositivo. No caso de 8 exposições ao dia, foi gotejada sacarose nos seguinte horários: 8:00, 9:30, 11:00, 13:30, 15:00, 16:30, 18:00 e 19:30 horas. No outro lado do dispositivo, com apenas 2 exposições diárias à sacarose, o gotejamento foi feito às 11:00 e 19:30 horas. Após o tratamento, os dispositivos foram deixados por 5 minutos em repouso antes de retornarem à cavidade bucal, a fim de que a solução se difundisse pelo biofilme (Ccahuana-Vasquez *et al.*, 2007).

Os voluntários também foram instruídos com relação ao uso do dispositivo, o qual deveria ser em tempo integral, sendo retirado apenas durante as refeições, a higienização e durante o período de *washout* estabelecido entre as fases experimentais. A higiene do dispositivo foi orientada de modo a evitar a área dos blocos de esmalte para que o biofilme que vinha sendo formado não fosse perturbado, e favorecendo o contato da espuma do dentífrico com essa área. Nenhuma restrição com relação à dieta do indivíduo foi feita, exceto a orientação de evitar o consumo de chás ricos em flúor. Os voluntários viviam em região de água de abastecimento fluoretada (0,6 a 0,8 mg F/L).

4.5 Determinação da concentração de fluoreto de cálcio no esmalte

Após 30 minutos (blocos de coleta imediata) e 2, 7 e 14 dias de estudo *in situ*, os blocos de esmalte foram coletados do dispositivo e isolados com cera nº 7, deixando exposta apenas a área em esmalte; em seguida, foram lavados com água destilada e deionizada por 30 segundos, secos com papel absorvente (Figura 3) e imersos em 0,6 ml de solução de KOH M, sendo mantidos sob agitação e em temperatura ambiente por 24 horas (Caslavska *et al.*, 1975). Após neutralização com TISAB II contendo HCl M, o bloco foi retirado e uma segunda extração com 0,3 ml de KOH M foi realizada por 6 horas. O fluoreto presente nas duas soluções de extração foi mensurado através de um eletrodo específico para fluoreto (Orion 96-09) e um analisador de íon (Orion EA-940). A concentração de fluoreto foi somada e expressa em $\mu\text{g F/cm}^2$.

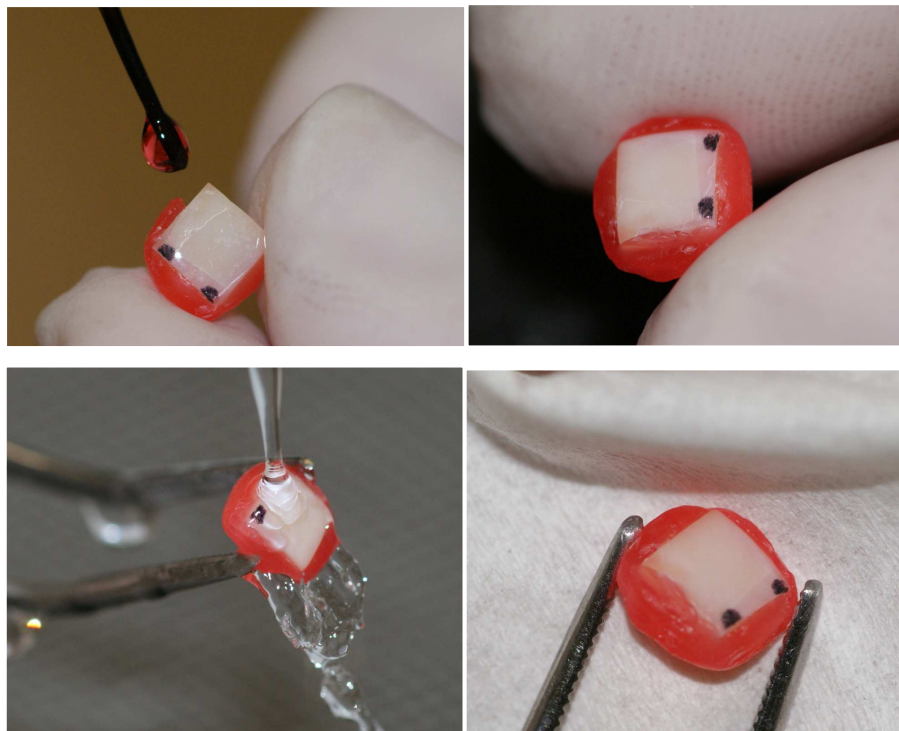


Figura 3 – Preparo dos blocos de esmalte para a extração do CaF_2

4.6 Análise estatística

Os dados foram analisados considerando um delineamento fatorial $2 \times 2 \times 3$, tendo como fatores tempo (em 3 níveis, 2, 7 e 14 dias), dentífricio (em 2 níveis, não fluoretado e fluoretado) e exposição à sacarose (em 2 níveis, 2 e 8 vezes ao dia). Os voluntários foram utilizados como blocos estatísticos, para eliminar variação causada por eles do erro experimental. Para a análise, os dados de fluoreto de cálcio foram transformados ao logaritmo base 10, para atender as pressuposições da análise de variância de normalidade dos resíduos e homocedasticidade. A análise foi realizada no pacote estatístico SAS for Windows, versão 8.02, com nível de significância pré-definido em 5%.

5 RESULTADOS

A ATPF, na forma flúor fosfato acidulado em gel a 1,23% de fluoreto, foi capaz de aumentar significativamente a concentração de fluoreto de cálcio sobre os blocos de esmalte tratados ($21,78 \pm 6,74 \text{ ug F/cm}^2$) em relação a blocos não tratados ($0,24 \pm 0,05 \text{ ug F/cm}^2$).

A concentração do fluoreto de cálcio formado após ATPF diminuiu em função do tempo na cavidade bucal ($p < 0,0001$), com diferenças estatisticamente significantes entre os tempos de 2, 7 e 14 dias. Ainda foi possível observar que após a coleta de 14 dias a concentração de fluoreto de cálcio foi significativamente maior ($4,10 \pm 1,34 \text{ ug F/cm}^2$) a determinada nos blocos de esmalte não tratados.

Com relação à frequência de exposição à sacarose, esta não interferiu na dissolução do fluoreto de cálcio com o passar do tempo ($p = 0,226$). Por outro lado, a associação da ATPF com o uso de dentífrício fluoretado influenciou na dissolução dos reservatórios de fluoreto de cálcio, na medida em que foi capaz de reduzir a queda na concentração do fluoreto de cálcio retido em função do tempo ($p = 0,0115$) (Tabela 1 e Figura 4).

Tabela 1 - Concentração do fluoreto de cálcio ($\mu\text{g F/cm}^2$) em associação ou não ao uso de dentífrico fluoretado em função do tempo e da frequência de consumo de sacarose (média $\pm$ desvio padrão; n=12)

Frequência de exposição à sacarose	após 2 dias de estudo <i>in situ</i> *		após 7 dias de estudo <i>in situ</i>		após 14 dias de estudo <i>in situ</i>	
	Dentífrico não fluoretado	Dentífrico fluoretado	Dentífrico não fluoretado	Dentífrico fluoretado	Dentífrico não fluoretado	Dentífrico fluoretado
2X	16,88 $\pm$ 9,85	19,64 $\pm$ 12,35	4,70 $\pm$ 3,32	9,15 $\pm$ 7,72	4,28 $\pm$ 5,80	5,76 $\pm$ 5,23
8X	13,86 $\pm$ 7,14	13,32 $\pm$ 7,98	6,99 $\pm$ 6,73	7,89 $\pm$ 6,62	2,51 $\pm$ 1,46	3,86 $\pm$ 2,61

* todos os tempos diferem entre si ($p < 0.0001$), assim como os dentífricos ($p = 0,0115$), mas o efeito do consumo de sacarose não foi significativo ($p = 0,226$). Comparação entre os tempos realizada por teste de Tukey.

Concentração de CaF_2 nos blocos não tratados com flúor: $0,24 \pm 0,05 \mu\text{g F/cm}^2$; blocos tratados com flúor fosfato gel acidulado e coletados após 30 minutos: $\text{CaF}_2 = 21,78 \pm 6,74 \mu\text{g F/cm}^2$

Os valores foram transformados em log de 10 para análise estatística

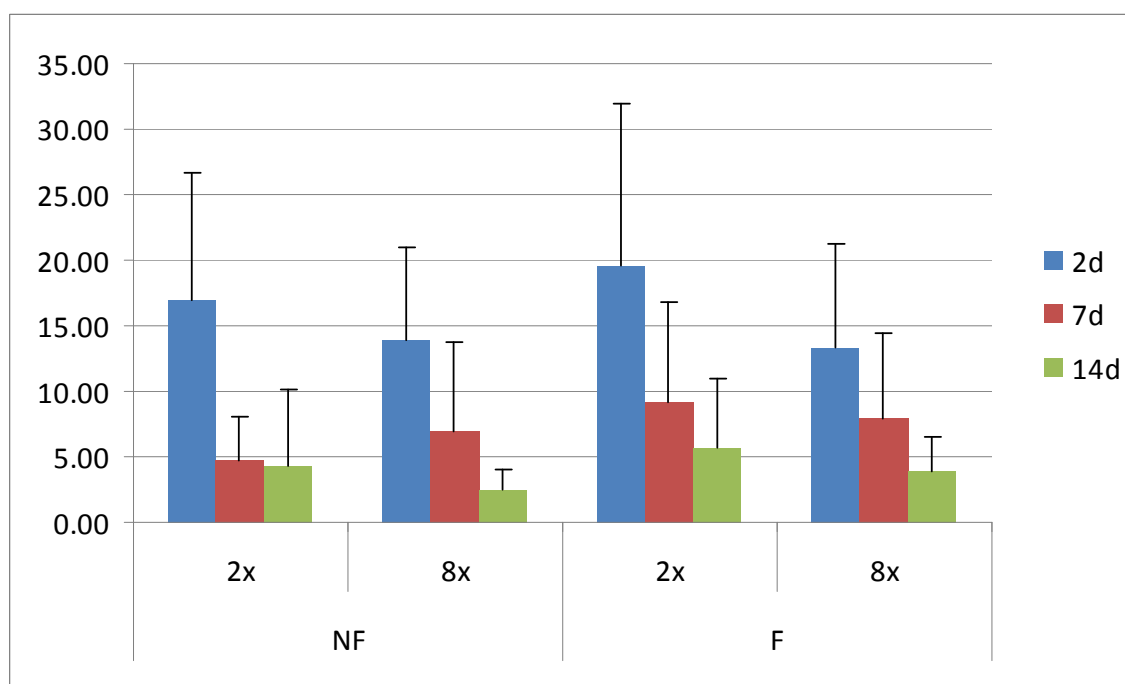


Figura 4 – Média da concentração de fluoreto de cálcio ($\mu\text{g F/cm}^2$) em associação ou não ao uso de dentífrico fluoretado em função do tempo e da frequência de consumo de sacarose (n=12)

6 DISCUSSÃO

Os resultados desse trabalho não comprovaram a relação da frequência de consumo de sacarose, com conseqüente quedas de pH, com a dissolução dos depósitos de fluoreto de cálcio formados sobre à superfície do esmalte tratado com ATPF e, com isso, não foi capaz de suportar a hipótese levantada por Rølla & Øgaard (1986). Segundo os autores, sucessivas quedas de pH no biofilme, pelo consumo de carboidratos fermentáveis, como a sacarose, levariam a um esgotamento mais rápido dos reservatórios de fluoreto de cálcio. Essa hipótese foi baseada em experimentação *in vitro*, com todas as condições controladas em laboratório. No presente estudo, entretanto, o fluoreto de cálcio foi formado após ATPF em blocos de esmalte tratados *in situ* e as quedas de pH foram decorrentes da fermentação da sacarose por bactérias presentes no biofilme formado sobre os blocos de esmalte durante o período experimental; dessa forma os resultados gerados puderam simular mais fielmente o que acontece *in vivo*.

Por outro lado, glóbulos de fluoreto de cálcio formados em condições de baixo pH e alta concentração de fluoreto são menos solúveis (Christoffersen *et al.*, 1988) e menos pH dependentes do que até mesmo a fluorapatita (Øgaard, 2001). Tais evidências poderiam justificar o fato de que no presente trabalho a dissolução do fluoreto de cálcio não ter sofrido influência das sucessivas quedas de pH imposta pelo alto consumo de sacarose.

A alta concentração de fluoreto de cálcio no esmalte formado após ATPF está de acordo com estudos relatados na literatura (Dijkman & Arends, 1988; Hayacibara *et al.*, 2004). A concentração de fluoreto (12.300 ppm F) e o baixo pH (3,6 – 3,9) do método utilizado parece terem sido os responsáveis pela alta concentração de fluoreto de cálcio no esmalte após 30 minutos da ATPF (Saxegaard & Rølla, 1988). Com o passar do tempo, a concentração desse sal sobre os blocos de esmalte diminuiu significativamente ($p < 0,0001$). Essa dissolução pode ser atribuída à subsaturação do meio bucal em relação ao fluoreto de cálcio (McCann, 1968). No passado, se aceitava que o fluoreto de cálcio se dissolvia em contato com a saliva dentro de 24 horas após sua formação;

hoje, no entanto, é admitido que o fluoreto de cálcio pode permanecer na superfície do esmalte por semanas após a aplicação tópica de fluoreto (Ögaard *et al.*, 1983; Rölla, 1988; Rölla & Saxegaard, 1990). A manutenção dos depósitos de fluoreto de cálcio por mais tempo do que antes se acreditava é atribuída à adsorção de moléculas de fosfato e proteínas sobre os glóbulos de fluoreto de cálcio, a qual reduz sua dissolução (Rölla & Ögaard, 1986; Lagerlöf *et al.*, 1988). De fato, no presente estudo, mesmo após 14 dias de estudo *in situ*, a concentração do fluoreto de cálcio no esmalte se manteve maior do que a determinada em blocos de esmalte não tratados com ATPF. Esse resultado foi encontrado sobre biofilme dental, o que pode ter aumentado a retenção do fluoreto de cálcio pela limitação de sua dissolução para a cavidade bucal.

Em um estudo recente realizado por Tenuta *et al.* (2008) foi demonstrado que essa dissolução do fluoreto de cálcio disponibiliza íons flúor para o fluido do biofilme, o que possibilita a redução da perda mineral, já que parte do mineral perdido durante um desafio ácido é repostado na forma de fluorapatita. Como atualmente se reconhece que são necessárias baixas concentrações de fluoreto no meio para que este possa atuar na redução da perda mineral (ten Cate, 1999), a permanência dos depósitos de fluoreto de cálcio por um período de tempo prolongado, mesmo em baixa concentração, se constitui um importante fator de controle de cárie, especialmente para paciente com alta atividade de cárie, para os quais a ATPF é indicada (Ögaard *et al.*, 1994), já que constantemente o fluoreto seria liberado para o fluido do biofilme para interferir na dinâmica da cárie. Estudos clínicos controlados confirmam a redução da cárie dental pela ATPF (Marinho, 2008).

A associação do uso do dentifrício fluoretado à ATPF foi capaz de reduzir a dissolução dos depósitos de fluoreto de cálcio em função do tempo. Esse resultado pode ser atribuído à disponibilidade de fluoreto para o fluido do biofilme após o uso do dentifrício fluoretado (Tenuta *et al.*, 2009; Cury *et al.*, 2010), e à manutenção do F residual no biofilme mesmo após 10 horas após escovação com dentifrício fluoretado (Paes leme *et al.*, 2004). Isto pode ser explicado pelo efeito

do íon comum, ou seja, a adição do fluoreto no meio no qual o fluoreto de cálcio está se dissolvendo, reduz a quantidade desse sal que irá se dissolver. Dessa forma, a presença de fluoreto no fluido do biofilme dental, oriundo do uso do dentífrico fluoretado 3 vezes ao dia, foi capaz de reduzir a dissolução do fluoreto de cálcio presente na superfície do esmalte, sob o biofilme.

Para pacientes com alta atividade de cárie, para os quais a ATPF é recomendada, a manutenção dos depósitos de fluoreto de cálcio por mais de duas semanas pode representar um importante papel no controle da cárie, já que o fluoreto estaria sendo continuamente disponibilizado para o fluido do biofilme, reduzindo a perda mineral. Adicionalmente, essa manutenção pode ser favorecida pela associação com o uso do dentífrico fluoretado.

7 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram uma redução significativa na concentração de fluoreto de cálcio formado no esmalte após ATPF em função do tempo, embora após 14 dias da ATPF a concentração de fluoreto de cálcio ainda permaneça superior à do esmalte não tratado com flúor. A associação com o uso de dentifrício fluoretado resultou em maior retenção do fluoreto de cálcio, mas a frequência do consumo de sacarose parece não ter influenciado na sua dissolução.

REFERÊNCIAS*

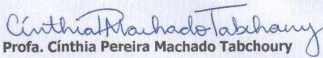
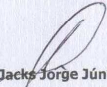
1. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia de recomendações para o uso de fluoretos no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde; 2009.
2. Brudevold F, McCann HG, Nilsson R, Richardson B, Coklica V. The chemistry of caries inhibition problems and challenges in topical treatments. *J Dent Res*. 1967; 46(1): 37-45.
3. Caslavaska V, Moreno EC, Brudevold F. Determination of the calcium fluoride formed from in vitro exposure of human enamel to fluoride solutions. *Arch Oral Biol*. 1975; 20(5-6): 333-9.
4. Ccahuana-Vasquez RA, Tabchoury CP, Tenuta LM, Del Bel Cury AA, Vale GC, Cury JA. Effect of frequency of sucrose exposure on dental biofilm composition and enamel demineralization in the presence of fluoride. *Caries Res*. 2007; 41(1): 9-15.
5. Christoffersen J, Christoffersen MR, Kibalczyk W, Perdok WG. Kinetics of dissolution and growth of calcium fluoride and effects of phosphate. *Acta Odontol Scand*. 1988; 46(6): 325-36.
6. Cury JA, Rebello MA, Del Bel Cury AA. In situ relationship between sucrose exposure and the composition of dental plaque. *Caries Res*. 1997; 31(5): 356-60.
7. Cury JA, Tenuta LM. How to maintain a cariostatic fluoride concentration in the oral environment. *Adv Dent Res*. 2008; 20(1): 13-6.
8. Cury JA, do Amaral RC, Tenuta LM, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP. Low-fluoride toothpaste and deciduous enamel demineralization under biofilm accumulation and sucrose exposure. *Eur J Oral Sci*. 2010; 118(4): 370-5.
9. Dijkman TG, Arends J. The role of 'CaF₂-like' material in topical fluoridation of enamel in situ. *Acta Odontol Scand*. 1988; 46(6): 391-7.
10. Duggal MS, van Loveren C. Dental considerations for dietary counselling. *Int Dent J*. 2001; 51(Suppl 1): 408-12.
11. Gerould CH. Electron microscope study of the mechanism of fluorine deposition in teeth. *J Dent Res*. 1945; 24: 223-33.
12. Gray JA, Schweizer HC, Rosevear FB, Broge RW. Electron microscopic observations of the differences in the effects of stannous fluoride and sodium fluoride on dental enamel. *J Dent Res*. 1958; 37(4): 638-48.
13. Hara AT, Queiroz CS, Paes Leme AF, Serra MC, Cury JA. Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. *Caries Res*. 2003; 37(5): 339-44.

* De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseadas na norma do International Committee of Medical Journal Editors – Grupo de Vancouver. Abreviaturas dos periódicos em conformidade com o Medline.

14. Hayacibara MF, Paes Leme AF, Lima YBO, Gonçalves NCLAV, Queiroz CS, Gomes MJ, *et al.* Alkali-soluble fluoride deposition on enamel after professional application of topical fluoride *in vitro*. J Appl Oral Sci. 2004; 12(1): 18-21.
15. Jardim JJ, Pagot MA, Maltz M. Artificial enamel dental caries treated with different topical fluoride regimes: an in situ study. J Dent. 2008; 36(6): 396-401.
16. Lagerlof F, Saxegaard E, Barkvoll P, Rolla G. Effects of inorganic orthophosphate and pyrophosphate on dissolution of calcium fluoride in water. J Dent Res. 1988; 67(2): 447-9.
17. Marinho VC, Higgins JP, Logan S, Sheiham A. Topical fluoride (toothpastes, mouthrinses, gel or vernishes) for preventing dental caries in children and adolescents. Cochrane Databases Syst Rev. 4: CD002782, 2003
18. McCann HG. The solubility of fluorapatite and its relationship to that of calcium fluoride. Arch Oral Biol. 1968; 13(8): 987-1001.
19. Myers HM. Summary of open discussion. Caries Res. 1977; 11(suppl 1): 204.
20. Ogaard B, Rolla G, Helgeland K. Alkali soluble and alkali insoluble fluoride retention in demineralized enamel in vivo. Scand J Dent Res. 1983; 91(3): 200-4.
21. Ogaard B, Rolla G, Ruben J, Dijkman T, Arends J. Microradiographic study of demineralization of shark enamel in a human caries model. Scand J Dent Res. 1988; 96(3): 209-11.
22. Ogaard B, Rolla G, Ruben J, Arends J. Relative cariostatic effects of KOH-soluble and KOH-insoluble fluoride in situ. J Dent Res. 1990; 69(8): 1505-7.
23. Ogaard B, Seppa L, Rolla G. Professional topical fluoride applications-clinical efficacy and mechanism of action. Adv Dent Res. 1994; 8(2): 190-201.
24. Ogaard B. CaF₂ formation: cariostatic properties and factors of enhancing the effect. Caries Res. 2001; 35 (Suppl 1): 40-4.
25. Paes Leme AF, Dalcico R, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Rosalen PL, Cury JA. In situ effect of frequent sucrose exposure on enamel demineralization and on plaque composition after APF application and F dentifrice use. J Dent Res. 2004; 83(1): 71-5.
26. Paes Leme AF, Koo H, Bellato CM, Bedi G, Cury JA. The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation--new insight. J Dent Res. 2006; 85(10): 878-87.
27. Paes Leme AF, Tenuta LMA, Del Bel Cury AA, Tabchoury CPM, Cury JA. Efeito da associação da aplicação de fluoreto profissional e uso de dentifrício no esmalte dental. RGO. 2007; 55(1): 35-40.
28. Pearce E. Plaque minerals and dental caries. N Z Dent J. 1998; 94(415): 12-5.
29. Rolla G, Ogaard B. Studies on the solubility of calcium fluoride in human saliva. In: S.A. Leach. Factors relating to demineralisation and remineralisation of the teeth. Oxford: IRL Press Ltd.; 1986.
30. Rolla G. On the role of calcium fluoride in the cariostatic mechanism of fluoride. Acta Odontol Scand. 1988; 46(6): 341-5.
31. Rolla G, Saxegaard E. Critical evaluation of the composition and use of topical fluorides, with emphasis on the role of calcium fluoride in caries inhibition. J Dent Res. 1990; 69 (Spec No): 780-5.

32. Rolla G, Ogaard B, De Almeida Cruz R. Topical application of fluorides on teeth. New concepts of mechanisms of interaction. *J Clin Periodontol.* 1993; 20(2): 105-8.
33. Saxegaard E, Rolla G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. *Scand J Dent Res.* 1988; 96(6): 523-35.
34. ten Cate JM. Review on fluoride, with special emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. *Eur J Oral Sci.* 1997; 105(5 Pt 2): 461-5.
35. ten Cate JM. Current concepts on the theories of the mechanism of action of fluoride. *Acta Odontol Scand.* 1999; 57(6): 325-9.
36. Tenuta LM, Cerezetti RV, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP, Cury JA. Fluoride release from CaF₂ and enamel demineralization. *J Dent Res.* 2008; 87(11): 1032-6.
37. Tenuta LM, Zamataro CB, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP, Cury JA. Mechanism of fluoride dentifrice effect on enamel demineralization. *Caries Res.* 2009; 43(4): 278-85.
38. Zero DT, Fu J, Espeland MA, Featherstone JD. Comparison of fluoride concentrations in unstimulated whole saliva following the use of a fluoride dentifrice and a fluoride rinse. *J Dent Res.* 1988; 67(10): 1257-62.

ANEXO: Certificado de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba

	COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS	
CERTIFICADO		
O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "Reservatório de fluoreto de cálcio no esmalte, sua estabilidade frente a desafios cariogênicos e liberação de fluoreto para o fluido do biofilme dental", protocolo nº 103/2007, dos pesquisadores LIVIA MARIA ANDALÓ TENUTA, JAIME APARECIDO CURY e JULIANA DE KÁSSIA SILVA BRAGA, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 12/12/2007.		
The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project "Calcium fluoride reservoirs on enamel, their stability under a high cariogenic challenge and fluoride release to the biofilm fluid", register number 103/2007, of LIVIA MARIA ANDALÓ TENUTA, JAIME APARECIDO CURY and JULIANA DE KÁSSIA SILVA BRAGA, comply with the recommendations of the National Health Council – Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 12/12/2007.		
 Profa. Cinthia Pereira Machado Tabchoury		 Prof. Jacks Jorge Júnior
Secretária CEP/FOP/UNICAMP		Coordenador CEP/FOP/UNICAMP
Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição. Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.		