



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



**“EFEITO DO TAMPONAMENTO NA REATIVIDADE DO FLUORETO COM O  
ESMALTE.”**

Waldemir Francisco Vieira Junior

Piracicaba –SP

2010



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



**“EFEITO DO TAMPONAMENTO NA REATIVIDADE DO FLUORETO COM O  
ESMALTE.”**

Aluno: Waldemir Francisco Vieira Junior

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cínthia Pereira Machado Tabchoury

Piracicaba –SP

**2010**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA  
Bibliotecária: Elis Regina Alves dos Santos – CRB-8ª. / 8099

V673e                      Vieira Júnior, Waldemir Francisco.  
Efeito do tamponamento na reatividade do fluoreto com o  
esmalte / Waldemir Francisco Vieira Júnior. -- Piracicaba,  
SP: [s.n.], 2010.  
21f. : il.

Orientador: Cíntia Pereira Machado Tabchoury.  
Monografia (Graduação) – Universidade Estadual de  
Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Bioquímica. 2. Concentração de íons de hidrogênio. I.  
Tabchoury, Cíntia Pereira Machado. II. Universidade  
Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de  
Piracicaba. III. Título.

(eras/fop)

*A Olga Bueno de Almeida,  
Waldomiro Vieira,  
meus pais e ao meu país...*

## **Agradecimentos**

A Deus pela força e oportunidade de crescer, desenvolver e trabalhar.

A minha mãe Rosana, pela dedicação, noites mal dormidas e lições de uma vida toda.

A minha irmã Patrícia, que me concedeu o maior presente nesse período da minha vida, minha sobrinha Beatriz.

Ao meu pai Waldemir, que me ensinou os princípios básicos de um pesquisador: questionar e dedicar.

A orientadora desse trabalho Professora Cíntia Pereira Machado Tabchoury, pelo período de trabalho, conselhos, amizade e aprendizagem.

A Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Gláucia Maria Bovi Ambrosano, pela análise estatística dos resultados e excepcional ajuda nesta parte do trabalho.

A Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, como instituição representada pelos funcionários, docentes e discentes.

A Lenita Marangoni Lopes, pelo convívio diário e colaboração ativa nesse trabalho.

A todos os amigos da turma 51 da FOP, especialmente: Gisele, Ana Carolina, Karina, Mariana, Grazielle, Cindy, Aline, Juliana, Indianara, Daphnis e Patrícia.

Aos meus amigos e família piracicabana, denominados República Trapo.

A Isabela, que indiretamente fez parte desse trabalho.

Ao Laboratório de Bioquímica Oral, pelos bons momentos e lições.

À FAPESP pelo apoio financeiro.

Aos docentes da FOP-UNICAMP, que me transformaram, com lições para uma vida toda, meu respeito e prestígio a todos, especialmente para Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cíntia Pereira Machado Tabchoury, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Altair A. Del Bel Cury, Prof. Dr. Jaime Cury, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Gláucia Maria Bovi Ambrosano, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Vania Célia Vieira de Siqueira e Prof. Dr. José Roberto Lovadino.

*“Tenho apenas duas mãos  
e o sentimento do mundo.”*

***Carlos Drummond de Andrade***

*"Não se deve ir atrás de objetivos fáceis.  
É preciso buscar o que só pode ser  
alcançado por meio dos maiores esforços".*

***Albert Einstein***

## 1. Resumo

A cárie dentária é uma doença multifatorial e o papel do fluoreto (F) na prevenção e controle da cárie dentária é bem descrito, além de ser o método mais relevante, prevenindo o processo de desmineralização e ativando a remineralização. Em relação à reatividade do F com o substrato dental, estudos mostram que existem fatores e substâncias que podem interferir neste processo. Um dos principais fatores é o pH, cuja diminuição leva a um aumento da reatividade do F. Entretanto, durante a reação de uma solução com o esmalte pode haver uma alteração no pH do meio, pois como há reação dos íons fosfato e hidroxilas com os prótons da solução, haveria um aumento do pH da solução, podendo influenciar a reatividade do F com o esmalte dental, diminuindo-a. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a reatividade do F presente ou não em uma solução tampão em diferentes pHs com o esmalte dental com lesão cáriosa artificial. Foram então confeccionados blocos de esmalte dental (4x4x2 mm), obtidos de incisivos bovinos, nos quais foram induzidas lesões cárias subsuperficiais. Os blocos dentais foram aleatorizados e submetidos aos seguintes tratamentos: soluções de NaF 0,05% pH 5,0; 5,5; 6,0 e 6,5 tamponadas com histidina 0,1 M (G2, 4, 6 e 8) ou com pHs ajustados (G1, 3, 5 e 7). Como controle foi usada solução de histidina 0,1 M sem ajuste do pH (pH=3,92; G9). Esta reação dos blocos dentais com as soluções de tratamento foi realizada por 10 minutos a 100 rpm em uma proporção de 2 mL de solução/mm<sup>2</sup> de esmalte exposto. Foi feita análise de fluoreto fracamente ligado ("CaF<sub>2</sub>") e fluoreto fortemente ligado (flúorapatita; FA), assim como determinação do pH das soluções antes e após a reação com os blocos dentais. O estudo foi cego e os dados submetidos à ANOVA, teste de Tukey para comparações entre os grupos experimentais e teste de Dunnett entre os grupos experimentais e o controle. A concentração (média±DP) de "CaF<sub>2</sub>" (µg F/cm<sup>2</sup>) nos grupos G1 a G9 foi: 4,8±1,2; 14,4±3,3; 4,9±1,1; 9,9±2,2; 5,2±1,3; 10,0±1,3; 3,6±1,2; 8,9±1,2; 0,21±0,04 e a de FA (µg F/cm<sup>2</sup>): 0,04±0,01; 0,09±0,04; 0,04±0,01; 0,08±0,03; 0,04±0,02; 0,09±0,04; 0,04±0,02; 0,05±0,01; 0,02±0,01. Os resultados da mediana (valor mínimo; valor máximo) de variação do pH em função do pH e do tampão foram respectivamente: -0,14 (-0,18; -0,07); 0,04 (-0,11;0,08); -0,09 (-0,16; 0,02); 0,11 (0,02;0,24); 0,00 (-0,03; 0,07); 0,12 (0,07;0,25); -0,08 (-0,18; -0,02); -0,06 (-0,19;0,07). Todos os grupos experimentais diferiram do controle, tanto para "CaF<sub>2</sub>" quanto FA (p<0,05). As soluções tamponadas, independente do pH, formaram concentrações de "CaF<sub>2</sub>" e FA maiores do que o respectivo grupo sem o tampão (p<0,05). A maior concentração de "CaF<sub>2</sub>" foi observada no G2, o qual diferiu das outras soluções tamponadas (p<0,05). Os resultados sugerem que o tamponamento da solução fluoretada pode aumentar a reatividade do F com o esmalte com lesão cáriosa.

**Palavras-chave:** Fluoreto, tamponamento, pH, reatividade.

## 2. Abstract

Dental caries is a multifactorial disease and the role of fluoride (F) in preventing and controlling dental caries is well described, besides being the most important method, preventing the demineralization process and enhancing the remineralization. With regard to the reactivity of F with the dental substrate, studies show that there are factors and substances that can interfere with this process. One of the most important factors is the pH, whose reduction leads to increased reactivity of F. However, during the reaction of a solution with the enamel a change in pH may happen, since there is a reaction of the phosphate and hydroxyl ions with the protons of the solution, there might be an increase in the pH of the solution, which can influence the reactivity of F with tooth enamel, reducing it. Thus, the purpose of this study was to evaluate the reactivity of F present or not in a buffer solution at different pHs with enamel with artificial caries lesion. Enamel blocks (4x4x2 mm) were obtained from bovine incisors and an artificial carious lesion was induced in the blocks. The dental blocks were randomized to the following treatments: NaF 0.05% pH 5.0, 5.5, 6.0 and 6.5 buffered with 0.1 M histidine (G2, 4, 6 and 8) or with pH adjusted (G1, 3, 5 and 7). As control 0.1 M histidine solution without pH adjustment (pH = 3.92; G9) was used. The reaction of dental blocks with the treatment solutions was performed for 10 minutes at 100 rpm at a rate of 2 mL solution/mm<sup>2</sup> of exposed enamel. Analysis of loosely bound fluoride (CaF<sub>2</sub>) and firmly bound fluoride (fluorapatite, FA) was performed as well as determining the pH of the solutions before and after reaction with the dental blocks. The study was blind and the data submitted to ANOVA, Tukey test for comparisons between experimental groups and Dunnett's test between the experimental and control groups. The concentration (mean ± SD) of "CaF<sub>2</sub>" (µg F/cm<sup>2</sup>) in G1 to G9 were: 4.8 ± 1.2, 14.4 ± 3.3, 4.9 ± 1.1, 9.9 ± 2.2, 5.2 ± 1.3, 10.0 ± 1.3, 3.6 ± 1.2, 8.9 ± 1.2, 0.21 ± 0.04 and FA (µg F/cm<sup>2</sup>): 0.04 ± 0.01, 0.09 ± 0.04, 0.04 ± 0.01, 0.08 ± 0.03, 0.04 ± 0.02, 0.09 ± 0.04, 0.04 ± 0.02, 0.05 ± 0.01, 0.02 ± 0.01. The results of the median (minimum, maximum) of pH change as a function of pH and buffer were: -0.14 (-0.18, -0.07), 0.04 (-0.11; 0.08), -0.09 (-0.16, 0.02), 0.11 (0.02, 0.24), 0.00 (-0.03, 0.07), 0.12 (0.07, 0.25), -0.08 (-0.18, -0.02), -0.06 (-0.19, 0.07). All experimental groups differed from the control, either for "CaF<sub>2</sub>" as FA. The buffered solutions, regardless of the pH, formed higher "CaF<sub>2</sub>" and FA concentrations than the respective group without buffer (p<0.05). The highest "CaF<sub>2</sub>" concentration was observed in G2, which differed from the other buffered solutions (p<0.05). The results suggest that the buffering of fluoridated solution may increase F reactivity with enamel caries lesion.

**Keywords:** Fluoride, buffering, pH, reactivity

## Sumário

1. Resumo	7
2. Abstract	8
3. Introdução	10
4. Objetivo	11
5. Material e Métodos	11
5.1. Delineamento experimental	11
5.2. Confeção dos blocos de esmalte	11
5.3. Indução das lesões de cárie nos blocos de esmalte	12
5.4. Preparo das soluções de tratamento	12
5.5. Determinação de fluoreto nas soluções de tratamento	12
5.6. Determinação de pH nas soluções de tratamento	12
5.7. Reatividade do fluoreto com o esmalte dental	12
5.8. Determinação do fluoreto fracamente ligado	12
5.9. Determinação do fluoreto firmemente ligado	13
6. Análise estatística	13
7. Resultados	14
7.1. Fluoreto fracamente ligado	14
7.2. Fluoreto firmemente ligado	15
7.3. Dinâmica do pH	17
8. Discussão	17
9. Conclusão	19
10. Referências bibliográficas	19

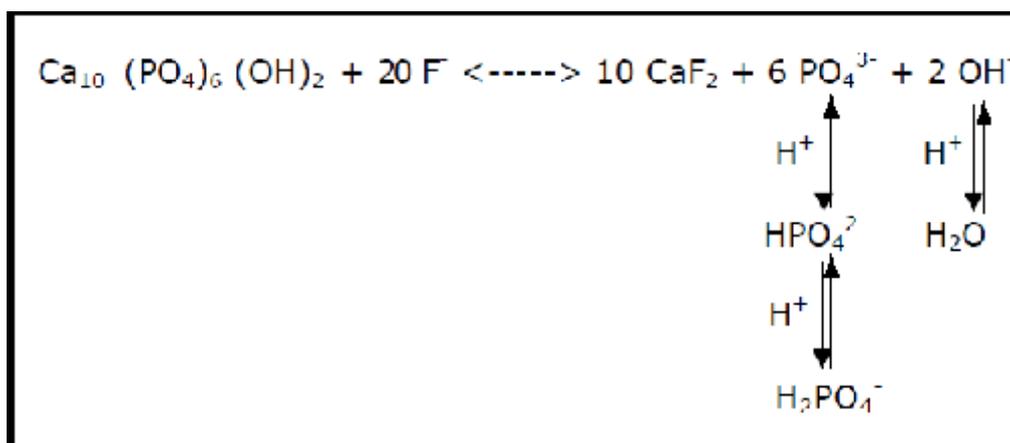
### 3. Introdução

A cárie dentária é uma doença multifatorial, cujo desenvolvimento e progressão estão associados à presença de microrganismos cariogênicos, tais como estreptococos do grupo mutans e lactobacilos (van Houte, 1994), tempo e consumo freqüente de carboidratos fermentáveis (Marsh, 1994; Cury *et al.*, 1997). A fermentação destes carboidratos a ácidos por bactérias cariogênicas leva à subsaturação do fluido do biofilme em relação ao produto de solubilidade do esmalte, promovendo a desmineralização do substrato dental e levando ao aparecimento de lesões de cárie (Dawes, 2003).

O papel do fluoreto (F) na prevenção e controle da cárie dentária é bem descrito, além de ser o método mais relevante, prevenindo o processo de desmineralização e ativando a remineralização (Fejerskov, 2004), sendo o seu efeito físico-químico predominantemente tópico (Cury & Tenuta, 2008).

Em relação à reatividade do F com o substrato dental, estudos mostram que existem fatores e substâncias que podem interferir neste processo, aumentando ou diminuindo esta reatividade (Friberger, 1975; Barkvoll *et al.*, 1988; Barkvoll, 1991; Franco & Cury, 1993, 1994). Um dos principais fatores é o pH, cuja diminuição leva a um aumento da reatividade do F (Friberger, 1975; Delbem & Cury, 2002). Comparando-se soluções fluoretadas com pH variando de 4,5 a 7,1, verificou-se um aumento de 5 vezes na formação de flúorapatita no esmalte hígido que reagiu com a solução de menor pH (Friberger, 1975).

Apesar deste efeito do pH do meio na reatividade do F, durante a reação da solução fluoretada com o esmalte poderia haver uma alteração no pH da mesma. Os íons fosfato e hidroxilas podem reagir com os prótons da solução, como mostra a reação abaixo:



**Figura 1.** Reação de equilíbrio da hidroxiapatita e sua associação com a presença de prótons do meio.

Esta reação levaria a um aumento do pH da solução, o qual é dependente da quantidade de prótons livres, como observado no estudo de Arthur *et al.* (2007), o que poderia influenciar a reatividade do F com o esmalte dental, diminuindo-a. Assim, levantou-se a hipótese de que se o F estiver presente em uma solução tampão, este aumento do pH será menor ou praticamente não ocorrerá, mantendo o pH da solução mais baixo durante todo o tempo da reação, o que poderia aumentar a reatividade do F com o esmalte dental.

#### **4. Objetivo**

Avaliar a reatividade do F presente ou não em uma solução tampão em diferentes pHs com o esmalte dental com lesão cariiosa artificial, assim como a dinâmica do pH após a reatividade da solução com o esmalte dental.

#### **5. Material e Métodos**

##### **5.1. Delineamento experimental**

Blocos de esmalte dental bovino (n=12/grupo), nas dimensões de 4x4x2 mm, com lesões cariosas artificiais foram aleatorizados e submetidos aos seguintes tratamentos: soluções de NaF 0,05% pH 5,0; 5,5; 6,0 e 6,5 tamponadas com histidina 0,1 M (G2, 4, 6 e 8) ou com pHs ajustados (G1, 3, 5 e 7). Como controle foi usada solução de histidina 0,1 M sem ajuste do pH (G9). Os blocos dentais reagiram com as soluções por 10 minutos em mesa agitadora (100 rpm) em temperatura ambiente. Após, fluoreto fracamente ligado (“CaF<sub>2</sub>”) foi determinado após extração com KOH 1,0 M e analisado em eletrodo específico para íon F. Então, duas camadas consecutivas de esmalte foram removidas de todos os blocos dentais por ataque ácido e o fluoreto firmemente ligado (FA) presente nesse extrato ácido foi determinado por eletrodo específico para íon F. Este experimento foi realizado de forma cega.

##### **5.2. Confeção dos blocos de esmalte**

Foram utilizados incisivos bovinos hígidos, os quais, após extração, foram lavados em água destilada deionizada e armazenados em temperatura ambiente em formaldeído 2% (pH 7,0), por um período mínimo de 30 dias (White, 1987; Cury *et al.*, 1997). Cento e oito blocos de esmalte dental (4x4x2 mm) foram obtidos (Fushida & Cury, 1999) dos incisivos bovinos. A dentina foi planificada e a superfície do esmalte foi lixada e polida (Fushida & Cury, 1999). Durante estes procedimentos, os blocos foram umedecidos com água destilada deionizada para evitar quebras e trincas no esmalte. As medidas exatas dos blocos dentais foram ainda mensuradas com paquímetro digital e foi então determinada a área de superfície do esmalte exposta (mm<sup>2</sup>). Todas as superfícies dentais

foram protegidas com verniz de unha ácido-resistente, exceto a superfície do esmalte.

### **5.3. Indução das lesões de cárie nos blocos de esmalte**

Os blocos dentais foram imersos em solução desmineralizante, na proporção de 2 mL de solução por mm<sup>2</sup> de esmalte, durante 16 horas a 37°C. Tal solução é composta por tampão acetato 0,1 M pH 5,0, contendo Ca 1,28 mM, Pi 0,74 mM e 0,03 µg F/ml (Queiroz *et al.*, 2008; Moi *et al.*, 2008).

### **5.4. Preparo das soluções de tratamento**

As soluções de tratamento foram preparadas a partir de NaF na concentração de 0,05%, com água destilada e deionizada, as quais foram tamponadas ou não com solução tampão histidina 0,1 M.

### **5.5. Determinação de fluoreto nas soluções de tratamento**

Amostras das soluções de tratamento foram diluídas e, em seguida, misturadas com TISAB II (tampão acetato 1 M, pH 5,0, contendo NaCl 1 M e CDTA a 0,4%) na proporção de 1:1. A determinação do fluoreto foi feita em duplicata e utilizando eletrodo específico ORION 96-06 e analisador de íons EA 940, previamente calibrado (Arthur *et al.*, 2007).

### **5.6. Determinação de pH das soluções de tratamento**

O pH das soluções de tratamento foi determinado antes e após reação com os blocos dentais, usando eletrodo de pH e peagômetro calibrado com soluções padrões de pH 4,0 e 7,0.

### **5.7. Reatividade do fluoreto com esmalte dental**

Os blocos de esmalte foram individualmente imersos nas soluções de tratamento na proporção de 2 mL de solução/mm<sup>2</sup> de superfície de esmalte exposto com agitação em mesa agitadora (100 rpm) em temperatura ambiente por 10 minutos (Tabchoury *et al.*, 2005). Então, os blocos dentais foram lavados por 1 minuto com água destilada deionizada.

### **5.8. Determinação de fluoreto fracamente ligado**

Os blocos de esmalte tratados foram individualmente imersos em 0,5 mL de solução KOH 1,0 M a temperatura ambiente e foram levemente agitados por 24 horas (Caslavská *et al.*, 1975). Após este período, o extrato foi neutralizado com 0,5 mL de TISAB II contendo HCl 1,0 M e analisado com eletrodo específico para íon flúor acoplado a analisador de íons, previamente calibrado com padrões. O fluoreto fracamente ligado formado e extraído dos blocos de esmalte foi

calculado e expresso em  $\mu\text{g F/cm}^2$ .

### **5.9. Determinação de fluoreto firmemente ligado**

Duas camadas consecutivas de esmalte foram removidas dos blocos dentais, a partir da imersão em 0,25 mL de HCl 0,5 M por 15 e 15 segundos sob agitação, seguido por tamponamento usando o mesmo volume de TISAB II pH 5,0 modificado com adição de 20 g de NaOH/L (Koo & Cury, 1998) para neutralizar o HCl usado na biópsia. A concentração de fluoreto foi determinada usando analisador de íon ORION EA 940 e eletrodo íon específico 96-09 (Tabchoury *et al.*, 2005) previamente calibrados com padrões de 0,125 a 16,0  $\mu\text{g F/mL}$ . O fluoreto fortemente ligado formado e extraído dos blocos de esmalte foi calculado e expresso em  $\mu\text{g F/cm}^2$  para primeira e segunda camadas removidas e o total somando as duas camadas.

## **6. Análise Estatística**

Foi realizada inicialmente uma análise exploratória dos resultados, onde os “outliers” foram removidos e quando necessário os dados foram transformados. Para as análises paramétricas foi utilizado o programa SAS (Institute Inc., Cary, NC, USA, Release 9.1, 2003) e para as não paramétricas o programa estatístico Bioestat 4.0 (Mamirauá Maintainable Development Institute, Belém, Pará, Brazil, 2005).

Para os dados de concentração de “CaF<sub>2</sub>”, foi retirado 1 “outlier”: pH=5 com tampão (7,6) e aplicada a transformação raiz quadrada. Para os dados de FA ( $\mu\text{g F/cm}^2$ ) na primeira camada, foram retirados 2 “outliers”: pH 5,5 com tampão (0,09) e pH 6 com tampão (0,10). Para os dados de FA ( $\mu\text{g F/cm}^2$ ) na segunda camada, foi retirado 1 “outlier”: pH=5,5 com tampão (0,12). Para os dados de FA das duas camadas quando somados, foi realizada análise exploratória dos dados que indicou a transformação logarítmica para que os mesmos atendessem as pressuposições da análise de variância. Após, foi aplicada Análise de Variância em esquema fatorial 4 x 2 +1 e teste de Tukey ( $\alpha=0,05$ ). Os dados de variação de pH violaram as pressuposições de análise paramétrica, então foram utilizados testes não paramétricos. As variáveis concentração de “CaF<sub>2</sub>” e concentração de FA foram submetidas à análise de variância em esquema fatorial 4 x 2 +1 (pH x tampão + controle), considerando o nível de significância de 5%. Para a comparação entre os grupos experimentais foi utilizado o teste de Tukey e para a comparação dos grupos experimentais com o controle negativo o teste de Dunnett. A variação do pH foi analisada pelos testes de Kruskal-Wallis, Dunn e Mann Whitney. O nível de significância adotado também foi de 5%.

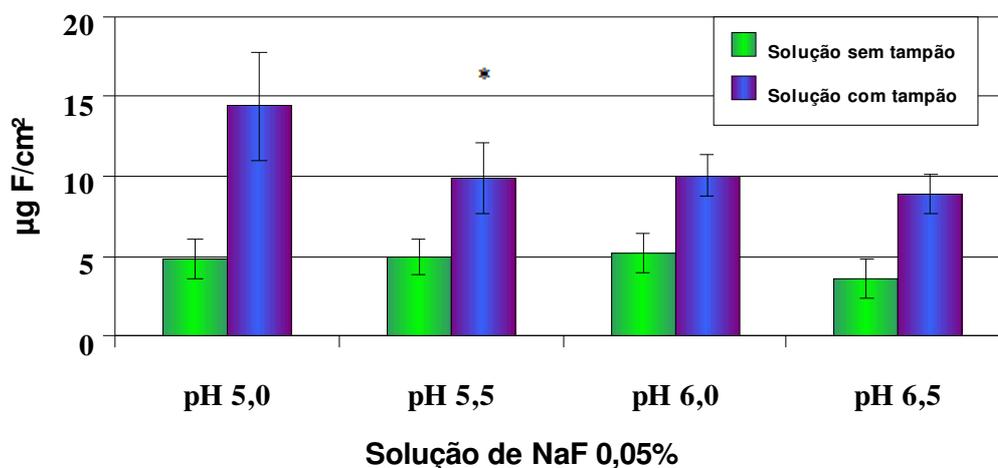
## 7. Resultados

### 7.1. Fluoreto fracamente ligado

**Tabela 1.** Média (desvio padrão) da concentração de “CaF<sub>2</sub>” (µg F/cm<sup>2</sup>) formado no esmalte dental com lesão cariiosa artificial por soluções de NaF 0,05% de diferentes pHs tamponadas ou não.

pH	Sem tampão	Com tampão
5,0	*4,80 (1,23) Aab	*14,36 (3,35) Ba
5,5	*4,90 (1,12) Aab	*9,90 (2,20) Bb #
6,0	*5,20 (1,27) Aa	*10,04 (1,33) Bb
6,5	*3,59 (1,19) Ab	*8,89 (1,20) Bb

Grupo Controle: média= 0,21; DP=0,04. Médias seguidas de letras distintas (maiúsculas na horizontal e minúscula na vertical) diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \*Difere do grupo controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ). # n=11



**Figura 1.** Concentração de “CaF<sub>2</sub>” (µg F/cm<sup>2</sup>) formado no esmalte por soluções de NaF 0,05% de diferentes pHs tamponadas ou não (n=12). Barras representam desvio padrão. \*(n=11)

Houve diferença significativa na concentração de “CaF<sub>2</sub>” formado nos blocos dentais entre os pHs estudados ( $p < 0,0001$ ), entre os grupos com e sem tampão ( $p < 0,0001$ ) e a interação pH x tampão foi significativa ( $p = 0,0006$ ). Houve também diferença significativa entre todos os grupos experimentais e o grupo controle ( $p < 0,0001$ ). Em relação ao pH, nos grupos com tampão houve diferença estatística entre o pH 5,0 e os outros grupos (pH 5,5, 6,0 e 6,5), os quais não diferiram entre si. Nos grupos sem tampão, o grupo com pH 6,0 formou a maior quantidade de “CaF<sub>2</sub>” e o que formou menor quantidade foi o grupo com pH 6,5, sendo que os grupos com pH 5,0 e 5,5 não

diferiram estatisticamente de nenhum outro grupo. A maior concentração de “CaF<sub>2</sub>” formado no esmalte dental com lesão cáriosa artificial foi no grupo de menor pH (5,0) e na presença do tampão histidina. Já o grupo com menor concentração de “CaF<sub>2</sub>” foi aquele de maior pH (6,5) e na ausência do tampão histidina.

## 7.2 Fluoreto firmemente ligado

Os resultados da concentração de FA na primeira camada de esmalte removida estão representados em µg F/cm<sup>2</sup> na Tabela 2 e a interação pH x tampão foi significativa para os resultados da Tabela 2 (p=0,049). A concentração de FA na segunda camada de esmalte removida está representada em µg F/cm<sup>2</sup> na Tabela 3. Para melhor visualização dos dados, os dados da primeira e segunda camada foram somados e expressos em µg F/cm<sup>2</sup> (Tabela 4) e expostos na figura 2.

**Tabela 2.** Média (desvio padrão) de FA (µg F/cm<sup>2</sup>) da primeira camada removida do esmalte por soluções de NaF 0,05 % de diferentes pHs tamponadas ou não.

<b>pH da solução de tratamento</b>	<b>Com tampão</b>	<b>Sem tampão</b>
<b>5,0</b>	*0,03 (0,02) Aa	0,01 (0,01) Ba
<b>5,5</b>	*0,02 (0,01) Aab	0,01 (0,01) Ba
<b>6,0</b>	*0,03 (0,02) Aa	0,02 (0,01) Ba
<b>6,5</b>	0,02 (0,00) Ab	0,02 (0,01) Aa

Grupo Controle: média=0,01; desvio padrão=0,00; Médias seguidas de letras distintas (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) diferem entre si pela ANOVA (p≤0,05). \*Difere significativamente do grupo controle pelo teste de Dunnett (p≤0,05).

**Tabela 3.** Média (desvio padrão) da  $\mu\text{g F/cm}^2$  na segunda camada removida de esmalte por soluções de NaF 0,05 % de diferentes pHs tamponadas ou não.

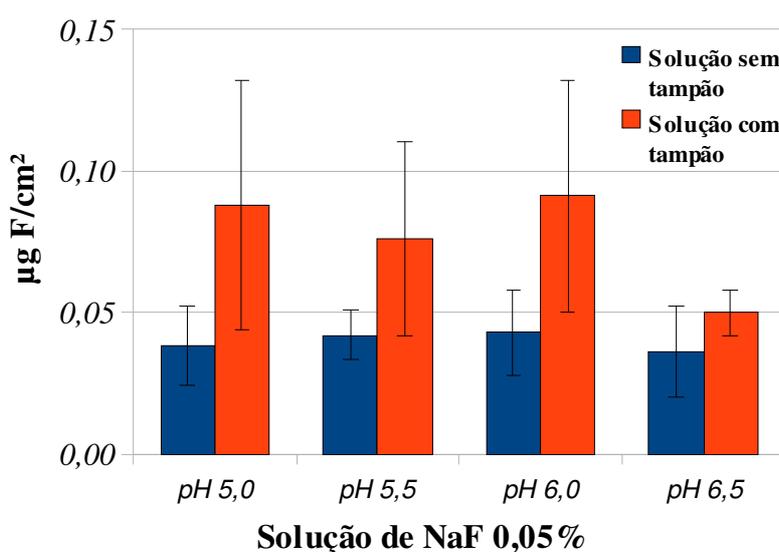
pH	Sem tampão	Com tampão	
	A	B	
5,0	0,02 (0,01)	*0,05 (0,02)	ab
5,5	*0,03 (0,01)	*0,04 (0,01) #	a
6,0	0,02 (0,01)	*0,05 (0,02)	a
6,5	0,02 (0,01)	*0,03 (0,01)	b

Grupo Controle: média = 0,012; desvio padrão = 0,006. Médias seguidas de letras distintas (maiúsculas na horizontal) diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \*Difere do controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ). # n = 11

**Tabela 4.** Média (desvio padrão) de FA ( $\mu\text{g F/cm}^2$ ) nas duas camadas removidas do esmalte formado por NaF 0,05% em função do pH e do tampão (n=12).

pH	Sem Tampão	Com tampão	
	A	B	
5,0	*0,038 (0,014)	*0,088 (0,044)	a
5,5	*0,042 (0,009)	*0,076 (0,034)	ab
6,0	*0,043 (0,015)	*0,091 (0,041)	a
6,5	0,036 (0,016)	*0,050 (0,008)	b

Controle: média=0,024; DP=0,009. Médias seguidas de letras distintas (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \*Difere do grupo controle pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 2.** Concentração de fluoreto firmemente ligado ( $\mu\text{g F/cm}^2$ ) formado nas duas camadas de esmalte por soluções de NaF 0,05% de diferentes pHs tamponadas ou não (n=12). Barras representam desvio padrão.

Para os resultados obtidos com análise do fluoreto firmemente ligado, foi encontrada diferença entre os pHs, entre os grupos com e sem tampão, porém a interação pH x tampão não foi significativa. Nos grupos onde a solução tampão estava presente, notou-se uma concentração maior. Em relação ao pH, o pH 5,0 e 6,0 não diferiram estatisticamente, sendo encontrada uma concentração superior ao pH 6,5. Já o pH 5,5 em relação à concentração não diferiu de nenhum outro grupo.

### 7.3. Dinâmica do pH

Os dados foram transformados na variação que existiu entre o pH antes e após a reatividade com as soluções de tratamento. Essa variação foi submetida a testes não paramétricos e os resultados estão apresentados na tabela 5.

**Tabela 5.** Mediana (valor mínimo; valor máximo) da variação do pH em função do pH e do tampão.

pH	Com tampão	Sem tampão	Mé dias seg uida s de letr as
<b>5,0</b>	-0,14 (-0,18; -0,07) Bb	0,04 (-0,11;0,08) Ab	
<b>5,5</b>	-0,09 (-0,16; 0,02) Ab	0,11 (0,02;0,24) Aa	
<b>6,0</b>	0,00 (-0,03; 0,07) Ba	0,12 (0,07;0,25) Aa	
<b>6,5</b>	-0,08 (-0,18; -0,02) Ab	-0,06 (-0,19;0,07) Ab	

distintas (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) diferem entre si ( $p \leq 0,05$ ).

Os resultados mostram certa estabilidade do pH nos grupos onde o tampão estava presente, sendo que nesses grupos o grupo de menor pH teve um maior decréscimo, e para o grupo de pH 6,0 não existiu diferença no pH da solução antes e após a reatividade, demonstrando que ocorreu efetividade da solução tampão durante o processo de reatividade do fluoreto com o esmalte submetido à lesão cariiosa artificial. Nos grupos onde o tampão estava ausente, o pH elevou-se após a reatividade (grupos com pH 5,0, 5,5 e 6,0), exceto no grupo de maior pH (pH 6,5), onde existiu um leve decréscimo após a reação.

## 8. Discussão

Analisando os resultados apresentados, foi observada uma maior concentração de fluoreto fracamente ligado (“CaF<sub>2</sub>”) formado nos grupos de tratamento onde o tampão histidina estava presente. Em relação ao pH, a maior concentração de “CaF<sub>2</sub>” foi formada na presença do tampão e no menor pH de estudo (pH 5,0), o que está de acordo com a literatura (Friberger, 1975; Delbem & Cury, 2002), cujos estudos mostram uma relação significativa entre a diminuição do pH com o aumento da reatividade do F. A hipótese inicial do trabalho foi comprovada, pois comparando-se os

grupos de tratamento com pH 5,0, na presença do tampão a formação de “CaF<sub>2</sub>” foi aproximadamente o triplo em relação ao grupo sem tampão (Tabela 1 e Figura 1). Provavelmente, a presença do tampão, mantendo o pH na faixa de 5,0, permitiu uma maior reatividade do F com o esmalte dental, aumentando a formação de “CaF<sub>2</sub>”. Em estudos futuros, seria interessante observar se há um efeito dose-resposta do tampão com a reatividade do F com o esmalte dental com lesão cáriosa artificial, isto é, se aumentando a concentração do tampão, também haveria aumento da reatividade do F. Também seria importante confirmar se na presença de outros tampões, como por exemplo acetato, este efeito do aumento da reatividade se mantém.

Considerando os dados do fluoreto firmemente ligado (FA), não houve grandes diferenças para os resultados da primeira camada entre o menor o maior pH para os grupos onde o tampão estava ausente, a diferença fica mais evidente nos grupos onde o tampão estava presente, sendo que os resultados da soma das duas camadas, a maior concentração de fluoreto firmemente ligado foi encontrado no menor pH de estudo, que não diferiu estatisticamente apenas do grupo com solução de pH 6,0. A maior concentração de fluoreto firmemente ligado foi formada na presença do tampão e no menor pH de estudo (pH 5,0), o que está de acordo com a literatura (Friberger, 1975; Delbem & Cury, 2002), cujos estudos mostram uma relação significativa entre a diminuição do pH com o aumento da reatividade do F. A formação de FA no grupo de menor pH (pH 5,0) foi o triplo na presença do tampão. Sendo que a presença do tampão aumentou a concentração de forma bem significativa para a ambos os produtos, o fluoreto fracamente e firmemente ligado.

A análise da variação do pH das soluções de tratamento não foi totalmente esclarecedora, pois o aumento do pH após a reação não ficou evidente em todos os grupos onde o tampão estava ausente, por exemplo, no grupo de pH 6,5 sem tampão não houve aumento do pH. Estes dados diferem daqueles encontrados por Arthur *et al.* (2007), os autores observaram que durante a reação de reatividade da solução de NaF 0,05% (pH inicial = 6,06) com os blocos de esmalte, que acontecia de forma não individualizada e divididos em grupos (n=12), ocorreu um aumento desse pH inicial da solução para 6,30. Em nosso estudo essa diferença de pH após a reatividade foi menos evidente, sugerindo que a mensuração do pH individualmente possa ter afetado no resultado final, assim o fato do tampão histidina ter aumentado a concentração de fluoreto fracamente ligado e firmemente ligado de forma bem evidente, o estudo do motivo deve ser continuado e a dinâmica de relação desvendada. A maior concentração de “CaF<sub>2</sub>” formado no esmalte com lesão cáriosa artificial tratado com os grupos de tratamento contendo o tampão histidina sugere que o tamponamento da solução durante a reação com os blocos possa atuar aumentando a formação destes reservatórios.

## 9. Conclusão

Os resultados do presente estudo sugerem que o tamponamento da solução fluoretada pode aumentar a reatividade do F com o esmalte dental com lesão cáriosa.

## 10. Bibliografia

1. Arthur RA, Tabchoury CPM, Giancristóforo M, Del Bel Cury A, Cury JA. Effect of preservatives on reactivity of fluoride with dental enamel. *RGO* 2007; 55(4): 375-80.
2. Barkvoll P, Rölla G, Lagerlof F. Effect of sodium lauryl sulfate on the deposition of alkali-soluble fluoride on enamel in vitro. *Caries Res* 1988; 22(3): 139-44.
3. Barkvoll P. Effect of sodium lauryl sulfate on the uptake of fluoride NaF and MFP by etched enamel in vitro. *J Biol Buccale* 1991; 19(3): 235-9.
4. Caslavská V, Moreno EC, Brudevold F. Determination of calcium fluoride formed in vitro exposure of human enamel to fluoride solutions. *Arch Oral Biol* 1975; 20: 333-9.
5. Cury JA, Tenuta LMA. How to maintain a cariostatic fluoride concentration in the oral environment. *Adv Dent Res* 2008; 20: 13-6.
6. Cury JA, Rebello MAB, Del Bel Cury AA. In situ relationship between sucrose exposure and the composition of dental plaque. *Caries Res* 1997; 31: 356-60.
7. Dawes C. What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? *J Can Dent Assoc* 2003; 69: 722-4.
8. Delbem AC, Cury JA. Effect of application time of APF and NaF gels on microhardness and fluoride uptake of in vitro enamel caries. *Am J Dent* 2002; 15(3): 169-72.
9. Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res* 2004; 38(3): 182-91.
10. Franco EM, Cury JA. Bochecho com Plax e reatividade do flúor. *RGO* 1993; 41: 283-6.
11. Franco EM, Cury JA. Effect of plax prebrushing rinse on enamel fluoride deposition. *Am J Dent* 1994; 7:119-21.
12. Friberger P. The effect of pH upon fluoride uptake in intact enamel. *Scand J Dent Res* 1975; 83(6): 339-44.
13. Fushida CE, Cury JA. Estudo in situ do efeito da frequência de ingestão de coca-cola na erosão do esmalte-dentina e reversão pela saliva. *Rev Odontol Univ São Paulo* 1999; 13: 127-34.
14. Koo H, Cury JA. Soluble calcium/SMFP dentifrice: effect on enamel fluoride uptake and remineralization. *Am J Dent* 1998; 11: 173-6.
15. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res* 1994; 8: 263-71.

16. Moi GP, Tenuta LMA, Cury JA. Anticaries potential of a fluoride mouthrinse evaluated in vitro by validated protocols. *Braz Dent J* 2008; 19(2): 91-6.
17. Queiroz CS, Hara AT, Paes Leme AF, Cury JA. pH-cycling models to evaluate the effect of low fluoride dentifrice on enamel de- and remineralization. *Braz Dent J* 2008; 19(1): 21-7.
18. Tabchoury CPM, Pierobon CN, Cury JA. Concentration and bioavailability of fluoride in mouthrinses prepared in dispensing pharmacies. *J Appl Oral Sci* 2005; 13:41-6.
19. van Houte J. Role of micro-organisms in caries etiology. *J Dent Res* 1994; 73: 672-81.
20. White DJ. Reactivity of fluoride dentifrices with artificial caries I. Effect on early lesions: F uptake, surface hardening and remineralization. *Caries Res* 1987; 21: 126-40.