



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**



FABIANA UCHÔA GOUVEIA ROLIM

**EFEITO DO DENTIFRÍCIO FLUORETADO DE ALTA CONCENTRAÇÃO NA
DESMINERALIZAÇÃO DA DENTINA EXPOSTA A DIFERENTES FREQUÊNCIAS
DE SACAROSE**

**Teresina
2016**

FABIANA UCHÔA GOUVEIA ROLIM

**EFEITO DO DENTIFRÍCIO FLUORETADO DE ALTA CONCENTRAÇÃO NA
DESMINERALIZAÇÃO DA DENTINA EXPOSTA A DIFERENTES FREQUÊNCIAS
DE SACAROSE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Piauí como requisito para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Clínica Odontológica

Linha de Pesquisa: Estudo de materiais e técnicas odontológicas

Orientador: Prof. Dr. Gláuber Campos Vale

Teresina

2016

**EFEITO DO DENTIFRÍCIO FLUORETADO DE ALTA CONCENTRAÇÃO NA
DESMINERALIZAÇÃO DA DENTINA EXPOSTA A DIFERENTES FREQUÊNCIAS
DE SACAROSE**

COMISSÃO EXAMINADORA

1) Prof. Dr. Gláuber Campos Vale

Titulação: Doutor em Odontologia

Julgamento: _____ Assinatura: _____

2) Profa. Dra. Maria Cristina Carvalho de Almendra Freitas

Titulação: Doutora em Ciências Odontológicas Aplicadas

Julgamento: _____ Assinatura: _____

3) Profa. Dra. Marcoeli Silva de Moura

Titulação: Doutora em Odontopediatria

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Suplente:

1) Prof. Dr. Raimundo Rosendo Prado Junior

Titulação: Doutor em Dentística Restauradora

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Teresina

2016

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação àqueles que são a prova do cuidado de Deus com minha vida: Francisco Leite Rolim, Cleide Gouveia Rolim, Emannelle Gouveia Rolim e Vinícius Magno Uchôa Lima Oliveira.

AGRADECIMENTOS

A Deus por todo dia me ofertar a oportunidade de viver com saúde. Por ser minha força quando a exaustão quer me vencer, por me fazer acreditar apesar das adversidades, por permitir que minha alegria de viver permaneça mesmo em meio à tantas responsabilidades, por me proteger, por abençoar meus planos e por colocar anjos no meu caminho;

Aos meus pais, Francisco e Cleide, por me ensinarem a ser um ser humano melhor, não com palavras, mas com atitudes. Então, agradeço por serem meu exemplo de bom caráter, honestidade, perseverança, trabalho, fé e por me dispensarem o amor mais genuíno que existe, aquele que se alegra simplesmente pela minha felicidade. Obrigada por todo investimento e suporte emocional a mim dedicados todos estes anos. O meu amor e gratidão por vocês é imensurável!;

Ao meu esposo, Vinícius, por ser meu companheiro em todas as adversidades e alegrias que a vida me impõe. Obrigada pelo seu amor paciente, por aceitar e apoiar todas as minhas decisões e por compreender perfeitamente que a única maneira de sermos dois é podermos exercer nossa individualidade com sabedoria. A você, todo o meu amor e gratidão;

À Rosane Lima, Antônio Uchôa, Solange Lima, Gabriela Uchôa e Rostônio Uchôa por me acolherem com tanto carinho e amor, por compreenderem minha ausência neste período, por cuidarem de mim e serem realmente minha família em Teresina. Amo vocês!;

Ao meu Brilhante orientador, Prof. Dr. Gláuber Campos Vale, pela paciência, respeito e cordialidade que estiveram presentes durante todo o período de nossa convivência, por todas as oportunidades de aprendizado, por sua imensa generosidade em compartilhar seus conhecimentos comigo, pela confiança a mim dedicada que me tornaram uma profissional com maior maturidade científica;

Ao meu querido orientador de Iniciação científica, Sérgio Dávila Lins Bezerra Cavalcanti pelas primeiras oportunidades ofertadas no caminho da ciência as quais despertaram em mim o desejo de seguir a carreira acadêmica. Pela confiança e por todo o conhecimento adquirido durante nossa excelente convivência;

À Universidade Federal do Piauí– UFPI, na pessoa de seu Magnífico Reitor Prof. Dr. José Arimatéia Dantas Lopes e Vice-Reitora Dra. Nadir do Nascimento Nogueira;

À Pró-Reitoria de Pós-Graduação (PRPPG) na pessoa de Prof. Dr. Helder Nunes da Cunha;

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia coordenado pelo Prof. Dr. Gláuber Campos Vale;

A todo corpo docente do Programa de Pós-graduação em Odontologia da UFPI, pelos conhecimentos transmitidos;

Ao funcionário da Secretaria de Pós-graduação Plínio José da Paz e Silva e a auxiliar de serviços gerais Maria da Esperança Almeida da Silva pela disponibilidade, carinho, atenção ilimitados durante a realização das atividades desenvolvidas no curso;

Aos Professores, Profa. Dra. Maria Cristina Carvalho de Almendra Freitas, Profa. Dra. Marcoeli Silva de Moura, Prof. Dr Raimundo Rosendo Prado Junior, membros da Banca Examinadora, por terem assentido o convite e por suas valiosas contribuições;

À minha grande amiga Viviane Maria Gonçalves por ser minha maior incentivador: carreira acadêmica e pelo suporte emocional que sua amizade verdadeira me proporciona ao logo desses 12 anos. Amo você!;

Aos amigos do mestrado pelo companheirismo, disponibilidade e por me acolherem com tanto carinho: Ricardo Costa Lima, Urias Vasconcelos, Ingrid Cavalcanti, Romário Reis, e em especial, Kássio Vieira Macedo e às “fofurihas” Thaís Torres Barros Dutra, Alessandra Silva Pontes, Maria Hellen Sâmia Fortes Brito e Natália Silva Andrade, por

todos os momentos de alegria e dificuldade compartilhados. Sem vocês certamente tudo teria sido imensamente mais difícil!;

Aos alunos da graduação, Caio, Leonardo, Islany, Guilherme, Débora, Marta, Nicolás, Luís Fernando e Denise, pela infinita disponibilidade, respeito e carinho que pautaram nossa convivência e pelo aprendizado que eu obtive ao realizar pesquisas ao lado de vocês;

Aos voluntários que participaram deste estudo e que pacientemente seguiram todas as recomendações para a realização com sucesso da obtenção dos dados tão valiosos para esta pesquisa;

Ao Professor Clésio Cruz Melo por me permitir acesso ao laboratório de engenharia mecânica do CT- UFPI e aos técnicos de laboratório Miquéias Sousa Silva e Jean Carlos de Araújo Gonçalves pela disponibilidade e paciência infinitas em transmitir seus conhecimentos para que eu pudesse operar corretamente as máquinas;

Ao professor Airton Mendes Conde Júnior por me permitir acesso ao laboratório de Anatomia e fisiologia do CCS -UFPI;

À Professora Josie Haydée Lima Ferreira por me permitir o acesso ao laboratório de Microbiologia da UFPI e as técnicas de laboratório Carla Adriana Rodrigues de Sousa Brito e Alvinete Belém de Souza Mesquita pela disponibilidade infinita em transmitir seus conhecimentos para que eu pudesse operar corretamente os aparelhos;

Ao Professor Welter Cantanhede da Silva por me permitir acesso ao laboratório de Química da universidade Federal do Piauí;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí (FAPEPI) pela bolsa concedida;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pelo apoio financeiro a esta pesquisa.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATPase - Adenosinatriosfatases

Ca - Cálcio

CaF₂ - Fluoreto de Cálcio

CEP – Comitê de Ética em Pesquisa

DF - Dentifrício Fluoretado

F – Flúor

gf - Grama-força

H⁺ - Íon de Hidrogênio

HCL - Ácido Clorídrico

KOH - Hidróxido de Potássio

Min - Minuto

Mm - Milímetro

NaF - Fluoreto de Sódio

p - Nível de significância

PEC - Polissacarídeo extracelular

pH - Potencial Hidrogeniônico

Pi - Fosfato Inorgânico

PIC - Polissacarídeo intracelular

ppm - Partes por milhão

rpm- Rotações por minuto

SAS - Statistical Analysis System

SM - Streptococcus Mutans

TCLE -Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TISAB II -Tampão para ajuste de força iônica total

% PDS - Percentual de perda de dureza superficial

µm – Micrômetro

µg – Micrograma

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - %PDS em relação a frequência de exposição a sacarose (n=10). Letras diferentes representam diferença estatística significativa ($p < 0,001$).

Figura 2 - Biomassa formada em relação a frequência de exposição a sacarose (n=10). Letras diferentes representam diferença estatística significativa ($p < 0,001$).

Figura 3 - Fluoreto solúvel em álcali (CaF_2) em relação a frequência de exposição a sacarose (n=10). Letras diferentes representam diferença estatística significativa ($p < 0,001$).

Figura 4 - Relação entre porcentagem de perda de dureza de superfície (%PDS) em função da frequência de exposição a sacarose.

Figura 5 - Biomassa (mg) em função da frequência de exposição a sacarose.

Figura 6 - Concentração de flúor solúvel em álcali ($\mu\text{g F/cm}^2$) em função da frequência de exposição a sacarose. A significância estatística para esta associação está descrita no gráfico.

Figura 7- Esboço do aparelho e da realização do desafio cariogênico. * sol. sacarose 20% gotejada (1 gota em cada bloco de dentina) na frequência indicada em cada desafio.

Figura 8 - Imagem real do aparelho intra-oral palatino utilizado neste experimento.

SUMARIO

1 RESUMO	p.11
2 REVISÃO DE LITERATURA	p.12
2.1- Cárie Radicular	p.12
2.2- Modificação de paradigmas na etiologia da cárie e o papel da sacarose neste processo	p.13
2.3- Uso de dentifrícios fluoretados no controle da cárie	p.15
Referências	p.22
3 ARTIGO	p.28
3.1 RESUMO	p.29
3.2 INTRODUÇÃO	p.30
3.3 MATERIAIS E MÉTODOS	p.32
3.3.1 Desenho experimental	p.32
3.3.2 Obtenção dos blocos de dentina e confecção dos dispositivos palatinos	p.32
3.3.3 Dentifrícios	p.33
3.3.4 Voluntários	p.33
3.3.5 Desafio Cariogênico	p.33
3.3. 6 Determinação da perda de dureza de superfície	p.34
3.3.7 Coleta e pesagem do Biofilme	p.34
3.3.8 Determinação de F solúvel em álcali (CaF ₂)	p.34
3.3. 9 Análise Estatística	p.35
3.4 RESULTADOS	p.36
3.5 DISCUSSÃO	p.40
3.6 AGRADECIMENTOS	p.42
REFERÊNCIAS	p.43
APÊNDICES	p.47
01 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	p.48
02 Instruções aos Voluntários	p.51
03 Fluxograma do estudo	p.52
04 Imagem do dispositivo	p.53

1 RESUMO

Cárie é uma doença biofilme-açúcar-dependente e entre os carboidratos da dieta, a sacarose é considerada a mais cariogênica. A eficácia do Flúor (F) no controle da cárie se deve principalmente ao seu efeito físico-químico. Estudos anteriores determinaram a desmineralização do esmalte mediante a exposição a diferentes frequências de sacarose. Entretanto, o comportamento da dentina não foi elucidado. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar a desmineralização da dentina mediante exposição a diferentes frequências de sacarose na presença do dentifrício fluoretado de alta concentração. Para tal, um estudo *in situ*, cruzado, do tipo boca dividida, e cego para o examinador foi desenvolvido. Durante 3 fases de 7 dias cada, 10 voluntários utilizaram um dispositivo palatino contendo 4 blocos de dentina obtidos a partir de incisivos bovinos com dureza prévia inicial mensurada, sendo colocado 2 blocos de cada lado do aparelho. O desafio cariogênico possuía variação de frequência de gotejamento de sacarose: desafio 1 (0 ou 2x/dia), desafio 2 (4 ou 6x/dia) e desafio 3 (8 ou 10x/dia). Solução de Sacarose a 20% foi gotejada de acordo com o desafio ao qual estavam participando na fase experimental e ao fim do experimento todos os voluntários haviam realizado todos os desafios. Simultaneamente, utilizaram 3x/dia um dentifrício fluoretado (5.000 ppm F; NaF). Após cada fase, a dureza final foi mensurada e a porcentagem de perda de dureza de superfície (%PDS) foi determinada, bem como a concentração de F solúvel em álcali e a biomassa. Os dados foram analisados por ANOVA e teste Tukey com nível de significância fixado em 5%. Observou-se que desmineralização da dentina e a biomassa formada aumentaram significativamente quando a frequência de sacarose era superior a 6x/dia, enquanto que a precipitação de CaF_2 diminuiu a partir da frequência de 2x/dia. Os resultados sugerem que o dentifrício com alta concentração de Flúor é capaz de controlar a desmineralização da dentina quando a frequência de uso de sacarose não for superior a 6x/dia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A revisão de literatura foi realizada utilizando-se a base eletrônica de dados *PubMed/Medline*. Os seguintes descritores foram pesquisados: *Sucrose, high fluoride toothpaste, Root caries, Fluoride*.

2.1 Cárie Radicular

A cárie radicular é uma das principais causas da perda de dentes em idosos, e essa perda compromete sobremaneira a qualidade de vida^{1,2}. A sua prevalência tem sido relatada na população mundial³. Com o declínio dessa e o aumento da expectativa de vida⁴, o envelhecimento da população se tornou evidente⁵ e essa cada vez menos é edêntula o que lhes permite a presença de mais dentes naturais na cavidade oral⁶. Neste contexto, a cárie radicular surge como um problema relevante⁷, uma vez que, a população idosa possui maior risco de acometimento por este tipo de lesão que a população jovem⁵. Logo, lesões de cárie entre os idosos é um problema de saúde complexo em curso⁸.

Diversos fatores contribuem para tornar os idosos mais suscetíveis a cárie radicular: o agravamento da saúde bucal, representado pela perda de inserção gengival e redução do fluxo salivar (fisiológico ou associado ao uso de medicamentos)^{9,10}. A recessão gengival é um evento frequente tanto em adultos quanto nos idosos e uma condição necessária para ocorrência da desmineralização do cemento e dentina radicular, tecidos menos mineralizados que o esmalte. Esses tecidos são mais vulneráveis aos desafios cariogênicos, podendo culminar com desenvolvimento da cárie radicular⁹. Além disso, muitos idosos possuem saúde geral comprometida e fazem uso de medicamentos para doenças crônicas. Esses fatores se agravam pela higiene bucal deficiente^{11,12,13} devido a limitações físicas e declínio cognitivo^{9,10}.

Projeções populacionais mundiais sugerem que o número de adultos com 65 anos ou mais quase duplicará seu valor até 2030 e que a proporção de pessoas com idades entre 85 anos ou mais aumentará drasticamente ao longo dos próximos 10-15 anos¹². Na Dinamarca por exemplo, espera-se que em 2020, cerca de 20% da

população terá mais do que 65 anos de idade e a proporção de edêntulos neste país diminuiu de 40% em 1980 para 27%¹².

O Brasil reproduz a atual conjuntura mundial no que diz respeito ao aumento na expectativa de vida e conseqüente envelhecimento da população. Em nosso país a parcela de idosos chega a crescer oito vezes mais que a população adolescente¹³. Esse fato se deve a uma transição demográfica observada nos últimos 30 anos caracterizada por melhorias nos índices de morbidade⁹. Portanto, futuramente, a cárie radicular tende a ser um problema de saúde pública na área de saúde bucal¹⁴.

Estudo realizado por Marques¹⁴ et al., 2013, baseado em dados obtidos no SB Brasil 2010 demonstrou que mais de 10% da população adulta e idosa apresenta cárie radicular (16,7% e 13,6%, respectivamente) com diversidade regional e variações entre capitais e cidades do interior. O monitoramento, a prevenção e o tratamento da cárie radicular tornam-se fundamentais para a manutenção dos dentes naturais e conseqüente diminuição do edentulismo. Para isso, são necessários estudos sobre cárie radicular abrangendo seu diagnóstico, fatores associados e indicação adequada de tratamento¹⁴.

A base de evidências para a escolha do material restaurador para lesões de cárie radicular não é convincente e estudos têm relatado taxas de falha tão elevada como 68% dentro de 12 meses^{15,16}. Portanto, prevenção e remineralização dessas lesões são altamente desejáveis.

2.2 Modificação de paradigmas na etiologia da cárie e o papel da sacarose neste processo

Os fatores microbianos e dietéticos envolvidos no desenvolvimento das lesões cáries têm sido estudados nos últimos 120 anos. Neste âmbito, foi atribuído um protagonismo a frequência e/ou excesso de consumo do açúcar (especialmente sacarose). O *Streptococcus mutans* pareceu desempenhar um papel fundamental no metabolismo de sacarose ao produzir ácido láctico responsável pela desmineralização dental. Muitos autores descreveram a cárie como uma doença infectocontagiosa transmissível, no entanto, dados mais recentes mudaram esta concepção e essas mudanças são importantes para se delinear novas estratégias de controle de cárie¹⁷.

Mais de 100 anos atrás, a cárie dentária foi descrita como destruição progressiva localizada iniciada pela dissolução da superfície dental por meio de ácidos. Estes seriam produzidos por microorganismos que colonizam o biofilme como produto da fermentação de hidratos de carbono. Estes ácidos (lático, pirúvico, acético, propanoico, butírico) dissolveriam o fosfato de cálcio do esmalte ou dentina (desmineralização)¹⁸. Porém, a concepção de cárie evoluiu e essa passou a ser resultado de ciclos consecutivos de DES-RE mineralização da superfície de tecidos dentais em contato com os ácidos produzidos pelo biofilme dental na presença de açúcares ocasionando a dissolução dos tecidos mineralizados e a precipitação de Cálcio no ambiente oral. Vale salientar o importante papel de tamponamento da saliva neste processo devolvendo a estrutura dental íons Ca, e Pi¹⁸ desde que o pH não atinja valores inferiores ao crítico (5,5 para o esmalte / 6,5 para dentina)¹⁹.

Ainda no que diz respeito a cárie é importante salientar que seu processo de instalação e desenvolvimento procede de maneiras diferentes de acordo com os substrato dental envolvido. Isto se dá devido ao fato dos tecidos dentais possuírem matéria orgânica e inorgânica em proporções diferentes. Enquanto esmalte possui 85% em volume mineral, 3% material orgânico e 12% de água em volume a dentina apresenta 47% de volume mineral, 33% de matéria orgânica e 20% de água. Além disso, seus cristais de hidroxiapatita são muito menores do que aqueles encontrados no esmalte o que permite sua dissolução com mais facilidade²⁰. Portanto, sob o mesmo desafio cariogênico, dentina deve ser considerado mais suscetível à desmineralização que o esmalte⁷.

Após este conceito, percebe-se que o acúmulo do biofilme, embora necessário para a progressão da lesão de cárie, por si só não é suficiente²¹. Nesse processo de desenvolvimento das lesões cariosas a sacarose assume um protagonismo, embora há muito tenha se observado, na literatura, sua capacidade de aumentar a quantidade do biofilme²² bem como sua acidogenicidade²³, visto que essa e seus monossacarídeos constituintes promovem seletivamente o crescimento do *streptococcus mutans* e outras espécies tolerantes a ambientes ácidos²⁴. Essa é, entre os hidratos de carbono, o mais cariogênico pois além de ser facilmente fermentados em ácidos, é o único que altera a matriz do biofilme formado pois induz a síntese de polissacarídeos intra (PIC) e extracelulares (PEC)^{25,26} e o biofilme formado na sua presença tem baixas concentrações de Ca e Pi que são os íons

críticos envolvidos na des-remineralização do esmalte e da dentina²⁵ tal como mostra ausência de proteínas de ligação com o cálcio provocando instauração na matriz do biofilme favorecendo o processo de desmineralização.

Além disso, a cariogenicidade da sacarose foi associada com a sua frequência de exposição e concentração²⁷. Assim, uma elevada frequência de consumo de sacarose ou exposição leva a ciclos repetidos de diminuição de pH no biofilme dental, que resulta no enriquecimento acidogênico e acidúrico²⁸. Recentemente, verificou-se que os açúcares são fatores negativos cruciais responsáveis pela cárie dental. No entanto o papel desses ainda é subestimado e não se destaca nas estratégias preventivas²¹.

Uma relevante mudança no paradigma da etiologia da cárie dental é que o seu caráter infectocontagioso transmissível não foi comprovado, visto que a microflora bucal é comum ao indivíduo doente e saudável, ou seja, a presença de microorganismos não levaria o organismo obrigatoriamente a doença¹⁷ e isso foi comprovado por Gross²⁹ et al., que verificou níveis de *Streptococcus Mutans (SM)*, o mais cariogênico³⁰ do biofilme semelhantes em indivíduos saudáveis e naqueles com lesões cariosas. Portanto, o *SM* não cumpre os postulados de Koch¹⁷.

Por conseguinte, a definição corrente de cárie é que esta é uma doença biofilme-açúcar dependente³¹ que provoca mudanças progressivas nos tecidos dentais mineralizados, podendo estacionar ou serem revertidas³², se estes estão em contato com biofilme que permanece acumulado e é regularmente exposto ao açúcar³¹.

2.3 Uso de dentifícios fluoretados no controle da cárie

A maioria das doenças orais são evitáveis e a melhora global em saúde bucal é uma das grandes conquistas em saúde pública do século passado. Medidas preventivas coletivas como a fluoretação da água, ou individuais como o uso do dentifício fluoretado, aplicações tópicas por profissionais da odontologia, incluindo vernizes e géis fluoretados resultaram em reduções significativas na cárie dental na maioria das populações¹.

O íon F é o único agente terapêutico conhecido capaz de controlar a cárie³¹, visto que, possui um efeito preventivo ao reduzir a progressão de lesões cariosas ou um efeito terapêutico ao revertê-las³², pois afeta o processo de cárie, reduzindo a desmineralização e aumentando a remineralização do tecido dental^{33,34} caracterizando seu efeito físico-químico.

Esse mecanismo físico-químico ocorre cada vez que o açúcar é ingerido e os níveis de pH no biofilme são inferiores ao valor crítico. Se o flúor está presente, a quantidade de mineral dissolvida é reduzida porque parte dos íons Ca e Pi perdidos retornam ao tecido dental na forma de fluorapatita (redução da desmineralização) . Quando a ingestão de açúcar cessa o pH regulariza, e então o flúor remanescente nos fluidos orais ocasiona a remineralização³¹.

A fonte de Flúor poderia ser tanto fluorapatita (formado devido à incorporação de flúor ao esmalte) ou fluoreto de cálcio (CaF₂) precipitado, que se formam sobre o esmalte e no biofilme após a aplicação de flúor em altas concentrações³⁵. A efetividade do Flúor como agente cariostático depende da disponibilidade de flúor livre no biofilme durante o desafio cariogênico, isto é, durante a produção de ácido. Assim, uma viabilização constante de baixos níveis de flúor no biofilme dental é considerada a mais benéfica maneira de prevenção da cárie dentária³⁵.

O flúor é um íon altamente reativo e quando entra em contato com o tecido dental mineralizado, combina-se com outros elementos, tais como o cálcio. Quando a concentração de flúor na interface biofilme / saliva é acima de 100 ppm F, o fluoreto de cálcio é formado e quanto maior for a concentração de flúor, mais fluoreto de cálcio se formará³⁶.

Teoricamente, o flúor também atuaria inibindo o metabolismo bacteriano, ao interferir na enolase, uma enzima que é utilizada por bactérias na fermentação de hidratos de carbono^{37,38}. Outro efeito de F no metabolismo bacteriano é o inibidor direto sobre o bombeamento de prótons associada à membrana de ATPase de H⁺³⁷. Entretanto, estudos indicam que para que este efeito seja atingido uma concentração igual ou superior a 10 ppm F no biofilme dental deve ser obtida³⁸, o que raramente é alcançado³⁹. Portanto o efeito bacteriostático do flúor é discreto em relação ao seu efeito físico-químico⁴⁰.

A importância do Flúor para a prevenção da cárie é bem estabelecida, porém encontrar o melhor meio para disponibilizá-lo no meio bucal é uma tarefa árdua⁸. Dentre as formas de utilização do flúor, o dentífrico fluoretado (DF) é a mais racional⁴¹, pois alia a desorganização mecânica do biofilme por meio da escovação a sua atuação físico-química no biofilme remanescente ao interferir nos eventos de des-remineralização⁴². Além disso, o uso de dentífricos fluoretados mantém os níveis de F constantes em todo biofilme^{43,44,32} por até 10h ou mais após a escovação⁴⁴.

Desde o final da década de 1960, na sequência da introdução do uso generalizado de dentífricos, tem havido uma diminuição substancial da cárie em populações ocidentais⁴⁵, principalmente devido à sua capacidade de aumentar os níveis intraorais de F o suficiente para alterar o equilíbrio de des-remineralização²⁰.

Vários fatores influenciam na eficácia do dentífrico fluoretado entre elas estão a concentração de F, a quantidade de dentífrico aplicado à escova, a frequência de escovação, o tempo de escovação e o tempo de enxágue^{46,47,48}.

Evidências científicas mostram que o F⁻ não tem o mesmo efeito sobre a dentina e o esmalte, portanto, há recomendação que no caso de recessão gengival se deve utilizar dentífrico com alta concentração⁷. Um estudo realizado por Baysan⁴⁹ et al., em 2001, envolvendo 186 indivíduos com a intenção de comparar a eficácia de um dentífrico com alta concentração de flúor (5000ppm F) em detrimento de um dentífrico com concentração padrão (1100ppm F) na reversão de lesões cariosas radiculares concluiu que seria necessário 3 vezes mais concentração de flúor quando tecido desmineralizado em questão era a dentina, a fim de se alcançar o mesmo nível de redução da desmineralização obtida no esmalte.

Além disso, o uso do dentífrico com 5000 ppm de F reduz significativamente a quantidade de biofilme acumulado possivelmente devido a uma redução na tolerância das bactérias ao ácido o que não ocorre quando baixas doses de F são usados⁵⁰. Estes dentífricos altamente fluoretados diminuiriam os níveis de *Streptococcus Mutans* e *Lactobacillus* e, possivelmente, promoveriam depósitos de fluoreto de cálcio em níveis superiores aqueles proporcionados pela utilização do dentífrico com concentração de flúor convencional⁵¹.

Durante o tempo em que a escovação ocorre, uma concentração média na saliva de 650 (\pm 270) ppm F pode ser medido quando a escovação dos dentes é realizada aplicando o dentífrico com 5.000 ppm F. O valor correspondente ao escovar com aquele com concentração de 1450 ppm de F é de 110 (\pm 45). Ademais, mesmo após duas horas da escovação, realizada com frequência de duas vezes ao dia, a concentração de F é 5 vezes mais elevada na saliva do que o valor correspondente ao se utilizar a concentração padrão de Flúor⁵².

Além do que, concentração de flúor no biofilme após o uso do dentífrico de 5.000 ppm alcançaria uma concentração de cerca de 14 ppm de F na cavidade oral, enquanto o valor correspondente após o uso de dentífrico convencional é de cerca de 10 ppm⁵¹.

A utilização de dentífricos fluoretados de alta concentração proporciona uma melhor prevenção de lesões cariosas radiculares na população idosa ao se contrapor ao dentífrico contendo concentração tradicional. Resultados semelhantes são obtidos em pacientes jovens com lesões cariosas coronais. Teoricamente, o dentífrico altamente fluoretado teria um desempenho superior ao tradicional no que diz respeito a formação de fluoreto de cálcio. Ao se utilizá-lo, a concentração de aproximadamente 800 ppm F seriam verificados na saliva, valor cerca de 7 vezes maior que os 100 ppm necessárias para obtenção do fluoreto de cálcio⁵¹.

Há provas razoáveis de que alta concentração de fluoretos nos dentífricos aumenta significativamente a concentração na saliva durante o dia e a concentração de flúor no biofilme em comparação com dentífricos com concentrações padrão de F. Além disso, o uso de dentífrico com 5.000 ppm F reduz significativamente a quantidade de biofilme acumulado, diminui o número de *Streptococcus Mutans* e os *lactobacillus* e, possivelmente, promoveria depósitos de fluoreto de cálcio em maior proporção que aqueles que seriam formados após o uso de dentífrico contendo concentração de F padrão ⁵¹.

Existe uma forte evidência para indicação da utilização de dentífricos com alta concentração de flúor em grupos de maior risco de cárie. Porém, para que estes produtos sejam prescritos vários fatores devem ser analisados. Uma avaliação de risco minuciosa do paciente é exigida antes da prescrição de tais terapêuticas e é

importante uma reavaliação do risco, para determinar se a intervenção é ainda necessária⁵⁴.

Entre as estratégias orientadas para pacientes de alto risco de cárie, o uso de dentifrícios com concentrações de 5000 ppm de F demonstrou ser eficaz na redução da prevalência de cárie em adolescentes com baixa adesão a bons hábitos de higiene oral⁴⁷. Portanto, dentifrícios com concentração elevada de fluoretos devem ser prescritos a pacientes com alto risco de cárie, que incluem indivíduos que não escovam os dentes com frequência. À medida que estes foram capazes de aumentar significativamente os níveis de F intra-orais durante a maior parte do dia, o que pode ser considerado uma estratégia útil na disponibilidade de F⁵⁵.

Outro grupo de risco relacionado a cárie radicular são os idosos. A utilização de dentifrício com 5.000 ppm de F é sugerida como sendo um método para obter um melhor controle da cárie radicular principalmente em idosos^{49,56}.

Cárie dentária entre os idosos são um problema complexo em curso. O dentifrício com 5.000 ppm F pode ser uma abordagem razoável para desenvolvimento de programas de saúde pública, onde controlar a cárie radicular seja a principal preocupação. Entretanto, pesquisas adicionais devem ser realizadas para comprovar a sua eficácia, bem como se analisar custos de implantação de um programa que disponibilize altas concentrações de fluoretos em âmbito público para as populações com alto risco de cárie⁸.

Em estudo publicado por Ekstrand⁵⁶ et al., compreendendo 20 participantes foi observado que sete dos dez voluntários que utilizaram o dentifrício com 5000 ppm F tiveram lesões cariosas em raiz estacionadas, em contraste com aqueles que utilizaram o dentifrício com 1450ppm F, pois entre esses apenas cinco dos 10 participantes tiveram redução na progressão da cárie radicular.

Estudo realizado por Nordström et al., 2010, com 211 adolescentes indicou que dentifrícios com concentração de 5000ppm F tem um maior impacto sobre os indivíduos que não usam dentifrício regularmente ou não escovam duas vezes por dia. Dessa maneira, este dentifrício parece ser um veículo importante para a prevenção de cárie e tratamento de pacientes com alto risco de cárie⁴⁷.

Um recente programa de saúde pública foi realizado na Dinamarca, entre pessoas com necessidades especiais, idade superior a 80 anos e que residem em abrigos para idosos. Enfermeiros realizaram a escovação dos idosos ao longo de oito meses e observaram que o dentifrício com 5000 ppm F demonstrou capacidade para controlar a progressão da cárie radicular superior àquele que continha 1.450 ppm F⁵⁷.

Estudo realizado por Sonesson,⁵⁸ et al., 2014, com 424 voluntários, avaliou o efeito de dentifrício contendo 1.450 ppm F comparado a outro com 5,000 ppm F na contenção da progressão de lesões cariosas. Ambos eram utilizados com uma frequência de duas vezes ao dia. Os indivíduos que utilizaram dentifrício com 5000 ppm F tiveram redução estatisticamente significativa de cárie em comparação com o grupo de 1450 ppm F. Os autores concluíram que dentifrício fluoretado de alta concentração deve ser recomendado a pacientes de risco.

Mannaa^{59,60} et al., 2014, perceberam que o pH caiu menos após gotejamento com solução de sacarose 10%, quando a escovação dos dentes foi realizada utilizando o dentifrício de 5000 ppm F quando comparado ao de 1450 ppm F. Mesmo que a concentração de flúor no biofilme não atinja 10 ppm por um período longo, parece que a maior concentração de flúor produz alterações na cariogenicidade do biofilme, talvez por reduzir o número de microrganismos⁶⁰, o que resultaria em uma menor variação do pH após a exposição a sacarose.

Yeung⁶¹ et al., 2014, procederam um estudo em que voluntários na faixa-etária entre 18 e 75 anos que possuíam ao menos uma lesão cariosa radicular utilizariam dentifrícios com 1350 e 5000 ppm F e verificou que aqueles que utilizaram o dentifrício com maior concentração de flúor apresentaram significativa melhora na dureza de superfície das lesões cariosas.

Estudo clínico randomizado pareado em que voluntários foram aleatoriamente divididos em dois grupos foi realizado por Srinivasan⁶² et al, 2014. Um grupo utilizou o dentifrício com concentração de 1350 ppm e outro utilizou dentifrício com alta concentração de flúor 5000 ppm F. Três ou seis meses após a intervenção a textura da dentina foi avaliada clinicamente para estimar a desmineralização das lesões cariosas radiculares. Observou-se que a utilização de dentifrício contendo 5000 ppm de F em adultos, duas vezes por dia, melhorou significativamente a dureza da

superfície das lesões de cárie radiculares quando comparado com o dentífrico de concentração padrão.

Foi realizado um estudo por Ekstrand et al, 2015, em que 27 idosos utilizaram dentífricos em duas fases distintas com 1450 ppm de F e 5000 ppm de F. Durante o período do experimento a saliva dos voluntários foi coletada e após o tratamento estatístico dos dados, observou-se que os níveis de fluoretos na saliva daqueles que usaram o dentífrico com alta concentração de fluoreto foi superior aos níveis observadas na saliva daqueles que utilizaram o dentífrico com concentração padrão⁶³.

Pessan⁵⁵etal., 2015, realizaram um estudo semelhante no qual verificaram os níveis de flúor na saliva dos voluntários após um estudo duplo-cego e cruzado, no qual os voluntários utilizavam dentífricos com três concentrações diferentes: 0,1100, 5000 ppm de F, em dois momentos (1h e 12h após a escovação) por 10 dias. Ao fim do experimento, concluíram que aqueles que fizeram uso do dentífrico fluoretado de alta concentração possuíam níveis salivares de íon F superiores e que esses ficavam disponíveis na cavidade oral por um intervalo de tempo maior em relação àqueles que utilizaram dentífrico com concentração padrão.

Vale⁶⁴ et al.,2015, realizaram pesquisa com o objetivo de avaliar os níveis salivares de Flúor após o uso de dentífricos com 1110 e 5000 ppm F. A saliva de 12 voluntários foi coletada com o intervalo mínimo de um minuto e máximo de 120 min e se observou que o dentífrico fluoretado de alta concentração aumentou a biodisponibilidade de flúor na cavidade bucal.

REFERÊNCIAS

1. Mascarenhas AK. Who Needs More than 1,000 ppm? The Epidemiology of High-Risk Populations. *Caries Res* 2016;50(1):1–8.
2. Gati D, Vieira AR: Elderly at greater risk for root caries: a look at the multifactorial risks with emphasis on genetic susceptibility. *Int J Dent* 2011;64:71-68.
3. Islas-Granillo H, Borges-Yañez SA, Medina-Solis CE, Casanova-Rosado AJ, Minaya-Sanchez M, Villalobos Rodelo JJ, Maupome G: Socioeconomic, sociodemographic, and clinical variables associated with root caries in a group of persons age 60 years and older in Mexico. *Geriatr Gerontol Int.* 2012; 12:271-276.
4. Petersen PE, Yamamoto T. Improving the oral health of older people: the approach of the Oral Health Programme. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2005; 33(2):81.
5. McNally ME, Matthews DC, Clovis JB, Brillant M, Filiaggi MJ. The oral health of ageing baby boomers: a comparison of adults aged 45-64 and those 65 years and older. *Gerodontology.* 2014; 31:123–13.
6. Tan HP, Lo EC, Dyson JE, Luo Y, Corbet EF. A randomized trial on root caries prevention in elders. *J Dent Res.* 2010; 89(10):108-6.
7. Fernández, CE, Tenuta, LMA, Cury, JA. Validation of a Cariogenic Biofilm Model to Evaluate the Effect of Fluoride on Enamel and Root Dentine Demineralization. 2016: PLoS ONE 11(1).
8. Tellez M, Wolff MS. The Public Health Reach of High Fluoride Vehicles: Examples of Innovative Approaches. *Caries Res.* 2016;50(1):61-67.
9. Rihs LB, da Silva DD, de Sousa MLR: Dental caries in an elderly population in Brazil. *J Appl Oral Sci.* 2009; 17: 8–12.
10. Liu L, Zhang Y, Wu W, Cheng M, Li Y, Cheng R: Prevalence and correlates of dental caries in an elderly population in northeast China. *PLoS One* 2013; 8.
11. Holm-Pedersen P, Vigild M, Nitschke I, Berkey DB: Dental care for aging populations in Denmark, Sweden, Norway, United Kingdom, and Germany. *J Dent Educ.* 2005; 69:987–997.

12. Petersen PE, Yamamoto T. Improving the oral health of older people: the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2005; 33: 81–92.
13. Ekstrand K, Martignon S, Holm-Pedersen P. Development and evaluation of two root caries controlling programmes for home-based frail people older than 75 years. *Gerodontology.* 2008; 25:67–75
14. Marques RA, Antunes JL, Sousa Mda L, Peres MA, Frazão P. Root caries prevalence and severity in Brazilian adults and older people. *Rev. Saúde Pública.* 2013;47(3):59-69.
15. De Moor RJG, Stassen IG, van't Veldt Y, Torbeyns D, Hommez GMG. Two-year clinical performance of glass ionomer and resin composite restorations in xerostomic head- and neck-irradiated cancer patients. *Clin Oral Investig.* 2011; 15: 31–38.
16. McComb D, Erickson RL, Maxymiw WG, Wood RE. A clinical comparison of glass ionomer, resin-modified glass ionomer and resin composite restorations in the treatment of cervical caries in xerostomic head and neck radiation patients. *Oper Dent.* 2002; 27: 430–437.
17. Bradshaw DJ, Lynch RJ. Diet and the microbial an etiology of dental caries: new paradigms. *Int Dent J.* 2013; 63(2): 64–72.
18. Featherstone JD. Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1999; 27(1):31-40.
19. ten Cate JM: Review on fluoride, with special emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. *Eur J Oral Sci.* 1997; 105:461–465.
20. Buzalaf MA, Pessan JP, Honorio HM, ten Cate JM. Mechanisms of action of fluoride for caries control. *Monogr Oral Sci.* 2011; 22:97–114.
21. Sheiham A, James WP. Diet and dental caries: the pivotal role of free sugars reemphasized. *J Dent Res.* 2015; 94(10) :1341–1347.
22. Rateitschak-Plüss EM, Guggenheim B. Effects of a carbohydrate-free diet and sugar substitutes on dental plaque accumulation. *J Clin Periodontol.* 1982; 9:239–51.
23. Scheie AA, Arneberg P, Orstavik D, Afseth J. Microbial composition, pH-depressing capacity and acidogenicity of 3-week smooth surface plaque developed on sucrose-regulated diets in man. *Caries Res.* 1984; 18:74-86.

24. Vale GC, Tabchoury CP, Arthur RA, Del Bel Cury AA, Paes Leme AF, Cury JA. Temporal relationship between sucrose-associated changes in dental biofilm composition and enamel demineralization. *Caries Res.* 2007; 41(5):406–412.
25. Paes Leme AF, Koo H, Bellato CM, Bedi G, Cury JA. The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation—new insights. *J Dent Res.* 2006; 85(10):878–887.
26. Ccahuana-Vásquez 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.
27. Aires CP, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Koo H, Cury JA. Effect of sucrose concentration on dental biofilm formed in situ and on enamel demineralization. *Caries Res.* 2006; 40(1):28–32.
28. Marsh PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology.* 2003; 149(Pt 2):279–294.
29. Gross EL, Beall CJ, Kutsch SR, Firestone ND, Leys EJ, Griffen AL. Beyond *Streptococcus mutans*: dental caries onset linked to multiple species by 16S rRNA community analysis. *PLoS ONE* 2012 7: e47722.
30. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev.* 1986; 50(4):353–80.
31. Cury JA, de Oliveira BH, Dos Santos AP, Tenuta LM. Are fluoride releasing dental materials clinically effective on caries control? *Dent Mater.* 2016 Mar; 32(3):323-33.
32. Nóbrega D.F, Fernández C.E, Del Bel Cury A.A, Tenuta L.M, Cury J.A. Frequency of Fluoride Dentifrice Use and Caries Lesions Inhibition and Repair. *Caries Res.* 2016; 50:133-140.
33. Fejerskov O: Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res* 2004; 38: 182–191.
34. Cury JA, Tenuta LT. Enamel remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions? *Braz Oral Res.* 2009; 23 (1) :23-30.
35. Rošin-Grget K, Peroš K, Sutej I, Bašić K. The cariostatic mechanisms of fluoride. *Acta Med Acad.* 2013 Nov;42(2):179-88.

36. Bruun C, Givskov H: Formation of CaF₂ on sound enamel and caries like lesions after different forms of fluoride application in vitro. *Caries Res.* 1991; 25: 96–100.
37. Sutton RW, Bender GR, Marquis RE. Fluoride inhibition of proton-translocating ATPases of oral bacteria. *Infect Immun.* 1987; 55: 259-2603.
38. Murray JJ, Rugg-Gunn AJ, Jenkins GN: Modes of action of fluoride in reducing caries; in Murray JJ, Rugg-Gunn AJ, Jenkins GN (eds): *Fluorides in Caries Prevention*, ed 3. Oxford, Wright, 1991, 295–323.
39. Bradshaw DJ, Marsh PD, Hodgson RJ, Visser JM. Effects of glucose and fluoride on competition and metabolism within in vitro dental bacterial communities and biofilms. *Caries Res.* 2002; 36(2):81–6.
40. Cury JA, Tenuta LM. How to maintain a cariostatic fluoride concentration in the oral environment. *Adv Dent Res.* 2008; 20(1):13-6.
41. Fejerskov O, Cury JA, Tenuta LMA, Marinho V: Fluorides in caries control; in Fejerskov O, Nyvad B, Kidd E (eds): *Dental Caries: The Disease and Its Clinical Management*, ed 3. Oxford, Wiley-Blackwell, 2015:245-276.
42. Cury JA, Tenuta LM: How to maintain a cariostatic fluoride concentration in the oral environment. *Adv Dent Res.* 2008; 20:13–16.
43. Paes Leme AF, Dalcico R, Tabchoury CPM, 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; 83:71–75.
44. Cenci MS, Tenuta LM, Pereira-Cenci T, Del Bel Cury AA, ten Cate JM, Cury JA: Effect of microleakage and fluoride on enamel-dentine demineralization around restorations. *Caries Res.* 2008; 42:369–379.
45. Kassebaum NJ, Bernabe E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJ, Marcenes W: Global burden of untreated caries: a systematic review and metaregression. *J Dent Res.* 2015; 94:650–658.
46. Zero DT, Creeth JE, Bosma ML, Butler A, Guibert RG, Karwal R, Lynch RJM, Martinez-Meir EA, González-Cabezas C, Kelly SA: The effect of brushing time and dentifrice quantity on fluoride delivery in vivo and enamel surface microhardness in situ. *Caries Res.* 2010; 44:90–100.

47. Nordström A, Birkhed D. Preventive effect of high-fluoride dentifrice (5,000 ppm) in caries-active adolescents: a 2-year clinical trial. *Caries Res.* 2010; 44(3):323-31.
48. Nordström A, Birkhed D. Effect of a third application of tooth-pastes (1450 and 5000 ppm F), including a massage method on fluoride retention and pH drop in plaque. *Acta Odontol Scand.* 2012; 71(1):50–56.
49. Baysan A, Lynch E, Ellwood R, Davies R, Petersson L, Borsboom P: Reversal of primary root caries using dentifrices containing 5,000 and 1,100 ppm fluoride. *Caries Res.* 2001; 35:41– 46.
50. Nordström A, Birkhed D: Fluoride retention in proximal plaque and saliva using two NaF dentifrices containing 5,000 and 1,450 ppm F with and without water rinsing. *Caries Res.* 2009; 43:64–69.
51. Ekstrand KR. High Fluoride Dentifrices for Elderly and Vulnerable Adults: Does It Work and if So, Then Why? 2016; 50(1):15-21.
52. Ekstrand KR: Concentrations of fluoride in whole saliva after toothbrushing with 1,450 and 5,000 ppm fluoride toothpaste: a pilot study. *Caries Res.* 2006; 40:304.
53. ten Cate JM: Contemporary perspective on the use of fluoride products in caries prevention. *Br Dent J.* 2013; 214: 161–167.
54. Pretty IA. High Fluoride Concentration Toothpastes for Children and Adolescents. *Caries Res.* 2016; 50(1):9-14.
55. Pessan JP, Conceição JM, Grizzo LT, Székely M, Fazakas Z, Buzalaf MA. Intraoral fluoride levels after use of conventional and high-fluoride dentifrices. *Clin Oral Investig.* 2015 May; 19(4):955-8.
56. Ekstrand K, Martignon S, Holm-Pedersen P. Development and evaluation of two root caries controlling programmes for home-based frail people older than 75 years. *Gerodontology.* 2008; 25:67–75.
57. Ekstrand KR, Poulsen JE, Hede B, Twetman S, Qvist V, Ellwood RP: A randomized clinical trial of the anti-caries efficacy of 5,000 compared to 1,450 ppm fluoridated toothpaste on root caries lesions in elderly disabled nursing home residents. *Caries Res.* 2013; 47:391–398.
58. Sonesson M, Twetman S, Bondemark L: Effectiveness of high-fluoride toothpaste on enamel demineralization during orthodontic treatment – a multicenter randomized controlled trial. *Eur J Orthod.* 2014; 36:678–682.

59. Manna A, Campus G, Carlen A, Lingstrom P: Caries-risk profile variations after short-term use of 5,000 ppm fluoride toothpaste. *Acta Odontol Scand* 2014a;72: 228–234.
60. Manna A, Carlen A, Zaura E, Buijs MJ, Bukhary S, Lingstrom P: Effects of high-fluoride dentifrice (5,000-ppm) on caries-related plaque and salivary variables. *Clin Oral Investig*. 2014b;18: 1419–1426.
61. Yeung CA. Some beneficial effect on root caries from use of higher concentration fluoride toothpaste (5000 ppm F). *Evid Based Dent*. 2014 Mar;15(1):8-9.
62. Srinivasan M, Schimmel M, Riesen M, Ilgner A, Wicht MJ, Warncke M, Ellwood RP, Nitschke I, Müller F, Noack MJ. High-fluoride toothpaste: a multicenter randomized controlled trial in adults. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2014 Aug;42(4):333-40.
63. Ekstrand KR, Ekstrand ML, Lykkeaa J, Bardow A, Twetman S. Whole-Saliva Fluoride Levels and Saturation Indices in 65+ Elderly during Use of Four Different Toothpaste Regimens. *Caries Res*. 2015;49(5):489-98.
64. Vale GC, Cruz PF, Bohn AC, de Moura MS. Salivary fluoride levels after use of high-fluoride dentifrice. *Scien World Journ*. 2015; 2015:302717.

3 ARTIGO

PÁGINA DE TÍTULO

Título: Efeito do Dentifrício Fluoretado de Alta Concentração na Desmineralização da Dentina Exposta a Diferentes Frequências de Sacarose

Título Curto: Dentifrício Fluoretado de Alta Concentração e Desmineralização da Dentina

Autores

1. Fabiana Uchôa Gouveia Rolim – Rolim, FUG - Universidade Federal do Piauí-UFPI
2. Gláuber Campos Vale – Vale, GC - Universidade Federal do Piauí – UFPI

Descritores: Sucrose, Fluoride, Dentin, Biofilms.

Endereço para correspondência:

Prof. Dr. Gláuber Campos Vale

Campus Universitário Ministro Petrônio Portella – Bloco 5 – Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Bairro Ininga / CEP: 64049-550 Teresina - Piauí – Brasil

Fone: (86) 3237-1517/ 99912-9200 / e-mail: valeglauber80@gmail.com

Declaração de interesses: Os autores declaram que não há conflito de interesses.

3.1 RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a desmineralização da dentina mediante exposição a diferentes frequências de sacarose na presença do dentifrício fluoretado de alta concentração. Estudo *in situ*, cruzado, do tipo boca dividida, cego para o examinador foi conduzido em três fases com sete dias cada, no qual 10 voluntários utilizaram um dispositivo palatino contendo quatro blocos de dentina bovina com dureza inicial previamente determinada, sendo alocados dois de cada lado. Desafio cariogênico realizado variava de frequência de gotejamento de sacarose: desafio 1 (0 ou 2x/dia), desafio 2 (4 ou 6x/dia) e desafio 3 (8 ou 10x/dia). Solução de Sacarose a 20% foi gotejada sobre cada um dos blocos de acordo com o desafio ao qual o voluntário estava participando. Ao fim do experimento todos os voluntários realizaram todos os desafios. Durante a fase experimental dentifrício fluoretado (5.000 ppm F; NaF) foi utilizado 3x/dia. Após cada fase a dureza final foi mensurada e a porcentagem de perda de dureza de superfície (%PDS) calculada. Os dados obtidos foram analisados por ANOVA e teste Tukey com nível de significância fixado em 5%. Observou-se que desmineralização da dentina e a biomassa formada aumentaram quando a frequência de sacarose era superior a 6x/dia ($p < 0,001$), enquanto a precipitação de CaF_2 diminuiu a partir da frequência de 2x/dia ($p < 0,001$). Os resultados sugerem que o dentifrício fluoretado de alta concentração é capaz de controlar a desmineralização da dentina se a frequência de uso de sacarose não for superior a 6x/dia.

3.2 INTRODUÇÃO

A cárie dentária é uma doença biofilme-açúcar dependente [Cury et al.,2016]. Entre os hidratos de carbono, a sacarose é o mais cariogênico porque além de fornecer substrato para produção de ácidos, gera energia necessária para a síntese de polissacarídeos extracelulares (PEC) e intracelulares (PIC) [Paes Leme et al., 2006; Ccahuana-Vasquez et al., 2007]. Além disso, aumenta a acidogenicidade do biofilme [Scheie et al.,1984], visto que promove seletivamente o crescimento do *Streptococcus Mutans* e outras espécies acidúricas [Vale et al. 2007]., e reduz as concentrações de Ca e Pi, íons críticos no processo de des-remineralização [Paes Leme et al., 2006]. É importante ressaltar que a cariogenicidade da sacarose está diretamente relacionada à sua concentração e frequência de utilização [Cury et al., 1997; Aires et al., 2006; Ccahuana-Vasquez et al., 2007].

Por possuir reconhecido efeito físico-químico [Fejerskov et al., 2004; Cury et al., 2009], o íon Flúor (F) dentre os agentes terapêuticos conhecidos é o único capaz de controlar a cárie [Cury et al., 2016]. Entre a formas de utilização individual do flúor, o dentifrício fluoretado é a mais racional [Tenuta e Cury, 2010], pois associa a desorganização mecânica do biofilme, com a interferência preventiva e terapêutica do flúor F [ten cate , 1997; Cury e Tenuta, 2008], devido a manutenção dos níveis de F constantes no biofilme [Paes Leme et al., 2004; Cenci et al., 2008; Nóbrega et al., 2016] por até 10h ou mais após a escovação [Cenci et al.,2008].

O dentifrício fluoretado de alta concentração é capaz de aumentar significativamente os níveis de flúor intrabucais [Srinivasan et al., 2014; Pessan et al., 2015; Vale et al., 2015] e vem sendo utilizado para o controle da cárie em dentina radicular. Esse substrato é mais susceptível a desmineralização que o esmalte e necessita de concentrações mais elevadas de flúor para controle dos processos de des-remineralização [Fernández et al., 2016].

O padrão de desmineralização de esmalte frente a exposição a sacarose em diferentes frequências na presença de dentifrício com concentração convencional já foi observado [Ccahuana-Vasquez et al., 2007; Duggal et al., 2001]. No entanto, para a dentina, pouco se sabe sobre o uso de dentifrícios fluoretados de alta concentração nessas mesmas condições. O objetivo deste estudo foi avaliar a desmineralização da

dentina mediante exposição a diferentes frequências de sacarose na presença do dentifrício fluoretado de alta concentração.

3.3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.3.1 *Desenho experimental*

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí – UFPI (parecer:755.963) e os voluntários assinaram o termo de Consentimento Livre e Esclarecido de acordo com a declaração de Helsinque. Estudo *in situ*, cruzado, do tipo boca dividida e cego em relação ao examinador foi realizado durante três fases de sete dias cada. Dez voluntários utilizaram um disposto intra-oral palatino contendo quatro blocos de dentina (5x2 mm - diâmetro x espessura) obtidos a partir de incisivos bovinos com dureza prévia inicial mensurada, sendo dois blocos alocados de cada lado do aparelho. O desafio cariogênico possuía variação de frequência de gotejamento de sacarose de 0 (controle negativo) a 10x/dia. Solução de Sacarose a 20% foi gotejada sobre cada um dos blocos de acordo com o desafio ao qual o voluntário estava participando na fase experimental e ao fim do experimento todos os voluntários haviam realizado todos os desafios. O uso de dois tratamentos no mesmo dispositivo intraoral (boca dividida) é suportada pela ausência de efeito cruzado em outros estudos *in situ* [Ccahuana-Vasquez et al., 2007]. Simultaneamente, os voluntários utilizaram 3x/dia um dentifrício fluoretado (5.000 ppm F) na forma de Fluoreto de Sódio (NaF). Após cada fase, a dureza final foi mensurada e a porcentagem de perda de dureza de superfície (%PDS) calculada, a coleta e pesagem do biofilme efetuada e a determinação de F solúvel em álcali (Fluoreto de cálcio, CaF₂) sobre a superfície dos blocos determinada. Para a análise estatística cada voluntário foi considerado um bloco experimental.

3.3.2 *Obtenção dos blocos de dentina e confecção do dispositivo palatino*

Cento e vinte blocos foram obtidos a partir de incisivos bovinos previamente esterilizados em formol 10% por no mínimo 10 dias com o auxílio de uma broca diamantada acoplada a uma cortadeira elétrica. Os blocos foram lixados e polidos até chegarem as dimensões de 5 x 2 mm [Zero et al., 1990]. A dureza inicial foi mensurada a partir do centro do bloco, onde cinco indentações foram realizadas com

espaçamento de 100 µm uma da outra [Cury et al., 2003], utilizando um microdurômetro com ponta Vickers com 10gf por cinco segundos. Blocos com dureza inicial média de $56,19 \pm 2,59$ foram aleatorizados (utilizando o site random.org®) e colocados, um par de cada lado, nos dispositivos palatinos intra-orais confeccionados em resina acrílica autopolimerizável. Um espaço de 3 mm de profundidade foi confeccionado no interior do aparelho, na região dos dentes posteriores, para acomodação dos blocos. Sobre os blocos foi colocada uma tela plástica com a finalidade de impedir contatos mecânicos. Essa tela foi fixada com o auxílio de resina acrílica autopolimerizável incolor ou vermelha a fim de identificar o tratamento a ser realizado naquela fase [Cury et al. 2001; Ribeiro et al 2005]. Um espaço de 1 mm foi deixado entre os blocos e a tela plástica para permitir o acúmulo do biofilme [Hara et al., 2003].

3.3.3 Dentifrícios

O dentifrício contendo 5.000 µg F/g utilizado durante o experimento foi adquirido em Farmácia de Manipulação contendo NaF e sílica como abrasivo, e sabor menta. No período antes do início do experimento bem como nos períodos de washout (5 dias) foi utilizado o dentifrício sem flúor.

3.3.4 Voluntários:

Foram selecionados para este estudo dez voluntários. Cinco do sexo feminino e cinco do sexo masculino, com idades entre 21 e 26 anos (média 23,2 anos). Os participantes do estudo seguiram os seguintes critérios de inclusão: possuíam boa saúde geral e bucal, não utilizavam aparelhos ortodônticos, residiam em cidade com fluoretação da água de abastecimento público e não faziam uso de antibioticoterapia ou produtos fluoretados (exceto aquele proposto no experimento).

3.3.5 Desafio Cariogênico

O experimento foi realizado em três fases de sete dias cada (Vale et al., 2011) com um período de washout de 5 dias entre as fases. O desafio cariogênico possuía variação de frequência de gotejamento de sacarose de 0, 2x, 4x, 6x, 8x ou 10x/dia. Para sua realização, o aparelho era removido da boca e uma gota de solução de sacarose 20% era gotejada em cada bloco de dentina e após cinco minutos o aparelho

era recolocado na cavidade oral [Pecharki et al., 2005]. Em cada fase o voluntário realizou um desafio cariogênico atribuído aleatoriamente por meio do software random.org® e ao final do estudo todos deveriam ter realizado os três tipos de desafios estabelecidos no experimento. Simultaneamente aos desafios, os participantes utilizaram o dentifrício de 5000 ppm F , 3 x/dia (manhã, meio-dia e à noite) com os quais faziam a higienização do aparelho e da sua cavidade bucal. Nos períodos de washout e antes do início do experimento o dentifrício sem flúor. O aparelho era removido da cavidade apenas para a higienização, alimentação e ingestão de líquidos. Os voluntários foram instruídos verbalmente e por escrito sobre como deveriam proceder durante o experimento.

3.3.6 Determinação da Perda de Dureza de Superfície

Após cada fase experimental, a dureza de superfície nos blocos de dentina foi novamente medida e descrita como porcentagem de perda de dureza de superfície (%PDS), pela fórmula $(\text{Dureza inicial} - \text{Dureza pós-tratamento}) \times 100 / \text{Dureza inicial}$ [Vale et al., 2011].

3.3.7 Coleta e pesagem do Biofilme

Após o término de cada fase, 10h após a última escovação e exposição a sacarose (Vale et al., 2010) era coletado e dispensado em eppendorfs® com peso pré-determinado. Em seguida, realizava-se a pesagem em uma balança de precisão (Eletronic balance – FA 2104N - Bioprecisa), e por subtração determinava-se o peso do biofilme.

3.3.8 Determinação de F solúvel em álcali (CaF₂)

Um bloco de cada voluntário e de cada frequência (n=60) foram imersos individualmente em 1ml de KOH 1M durante 24h sob agitação (120rpm) em temperatura ambiente [Caslavská et al., 1975]. Em seguida, 0,5 ml de cada frasco contendo os blocos foi recolhida e tamponada com 0,5 ml de TISAB II contendo HCL. A concentração de F na solução obtida foi determinada utilizando eletrodo íon específico (Orion 9606 – Orion Research Inc., USA) acoplado a um potenciômetro mantendo a solução sob agitação em aparelho agitador magnético. Previamente à leitura, uma curva de calibração foi realizada, por meio de soluções padrões de F

variando entre 0,125 e 8 ppm F. As medidas foram realizadas em duplicata e a média da concentração de flúor foi calculada e os resultados expressos em $\mu\text{g F/cm}^2$.

3.3.9 Análise estatística

Para a análise estatística cada voluntário foi considerado um bloco experimental. As premissas de igualdade de variância e distribuição normal dos erros foram verificadas para as variáveis resposta, e essas foram transformadas em \log^{10} e então submetidas a análise de Variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey. Para estimar o efeito da frequência de exposição a sacarose nas variáveis, foi realizada análise de regressão linear. O limite de significância foi fixado em 5% e a análise estatística realizada por meio do software SAS (versão 9.0).

3.4 RESULTADOS

A Figura 1 mostra que a perda mineral foi estatisticamente maior a partir da frequência de sacarose de 8 vezes/dia ($p < 0,001$). Da mesma forma, de acordo com o aumento da frequência de exposição à sacarose, em comparação com o controle, a quantidade de biomassa foi maior a partir da frequência de 8 vezes/dia ($P < 0,001$) (Figura 2). Por outro lado, a quantidade de fluoreto solúvel em álcali (CaF_2) foi inversamente proporcional ao aumento da frequência de exposição a sacarose, sendo menor a partir da frequência de exposição de duas vezes/dia ($p < 0,001$) (Figura 3). A análise de regressão dos dados mostrou um ajuste linear significativo entre a frequência de exposição a sacarose e a %PDS, Biomassa e CaF_2 (Figuras 4, 5 e 6, respectivamente).

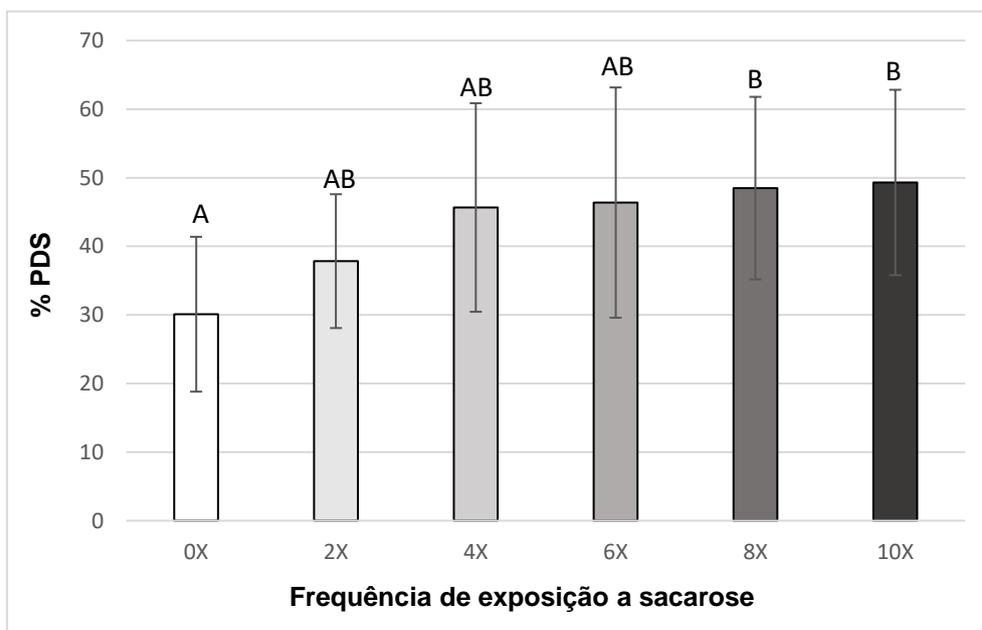


Figura 1- %PDS em relação a frequência de exposição a sacarose ($n=10$). Letras diferentes representam diferença estatística significativa ($p < 0,001$).

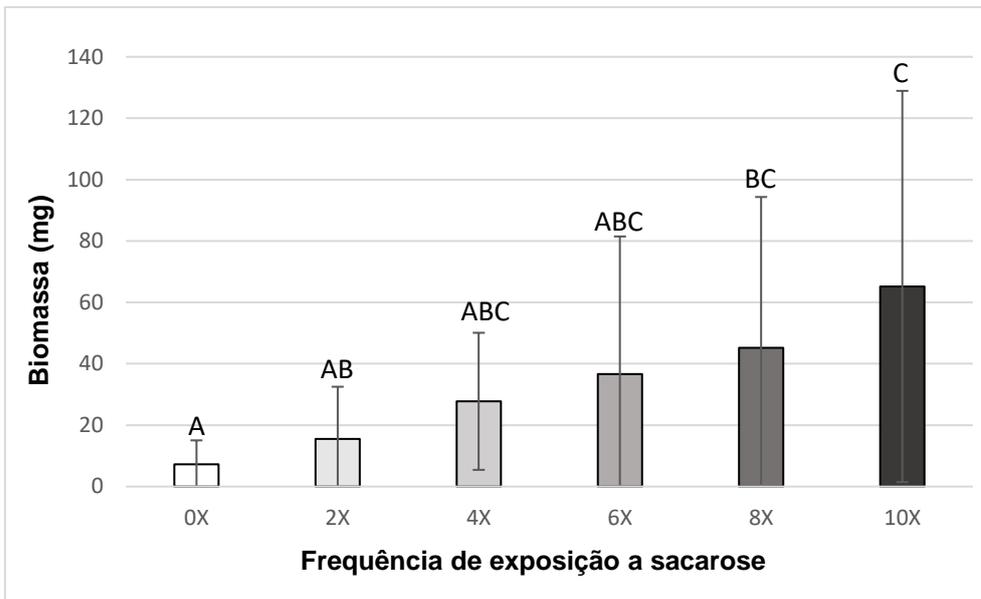


Figura 2- Biomassa formada em relação a frequência de exposição a sacarose (n=10). Letras diferentes representam diferença estatística significativa ($p < 0,001$).

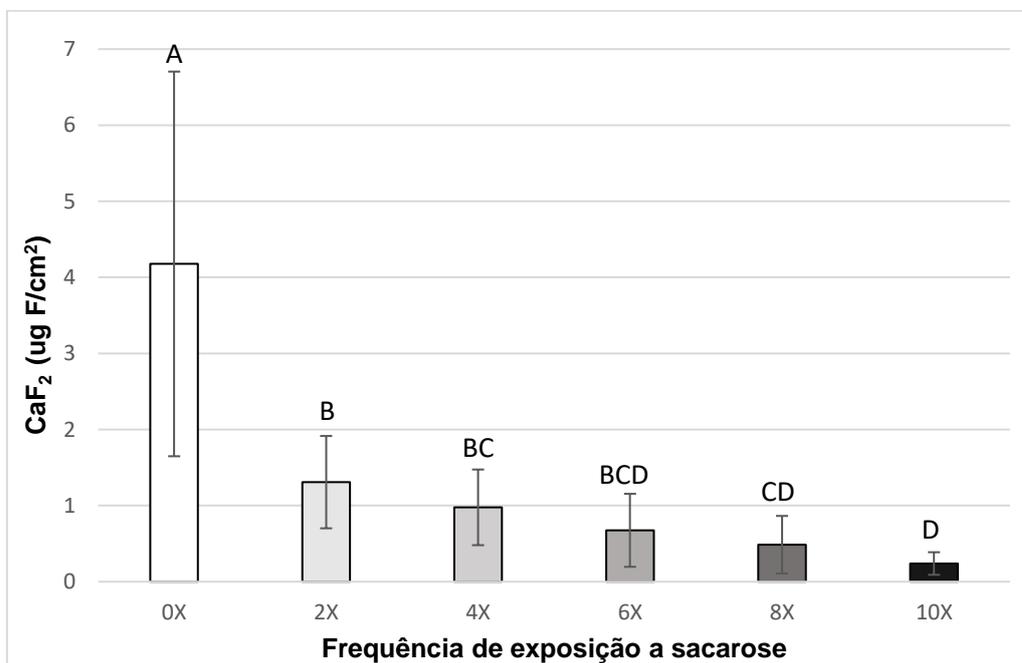


Figura 3- Fluoreto solúvel em álcali (CaF_2) em relação a frequência de exposição a sacarose (n=10). Letras diferentes representam diferença estatística significativa ($p < 0,001$).

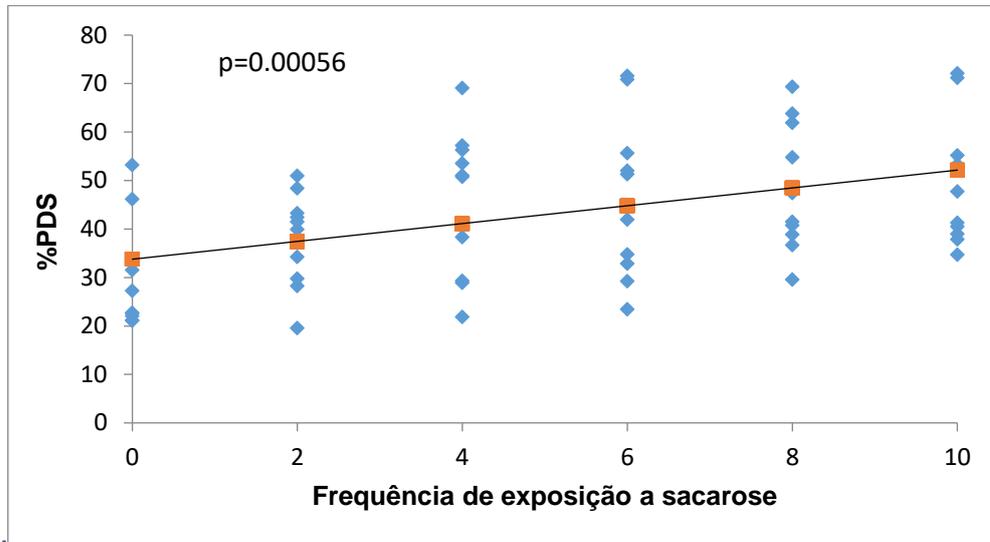


Figura 4- Relação entre porcentagem de perda de dureza de superfície (%PDS) em função da frequência de exposição a sacarose.

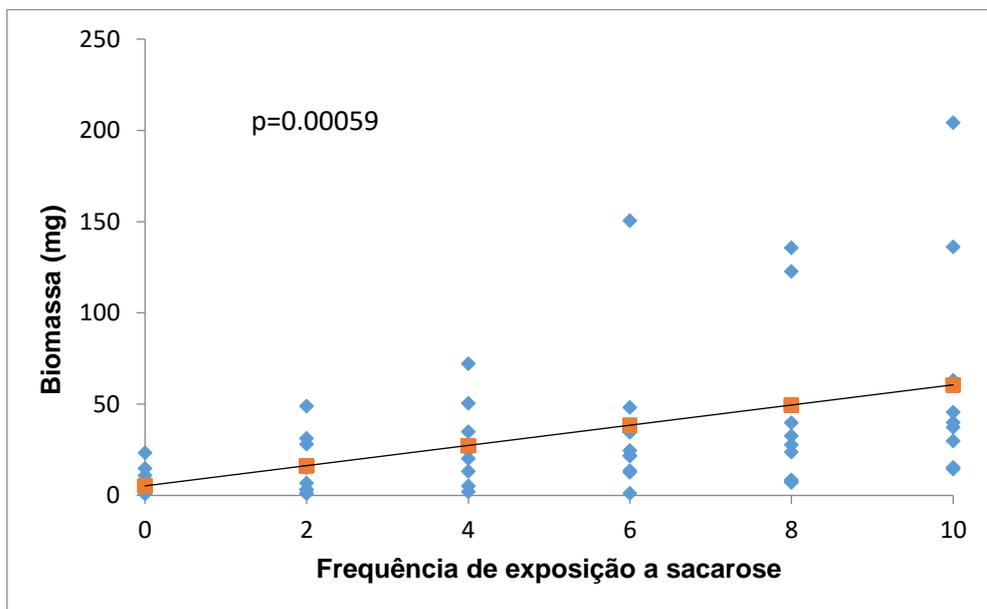


Figura 5- Biomassa (mg) em função da frequência de exposição a sacarose.

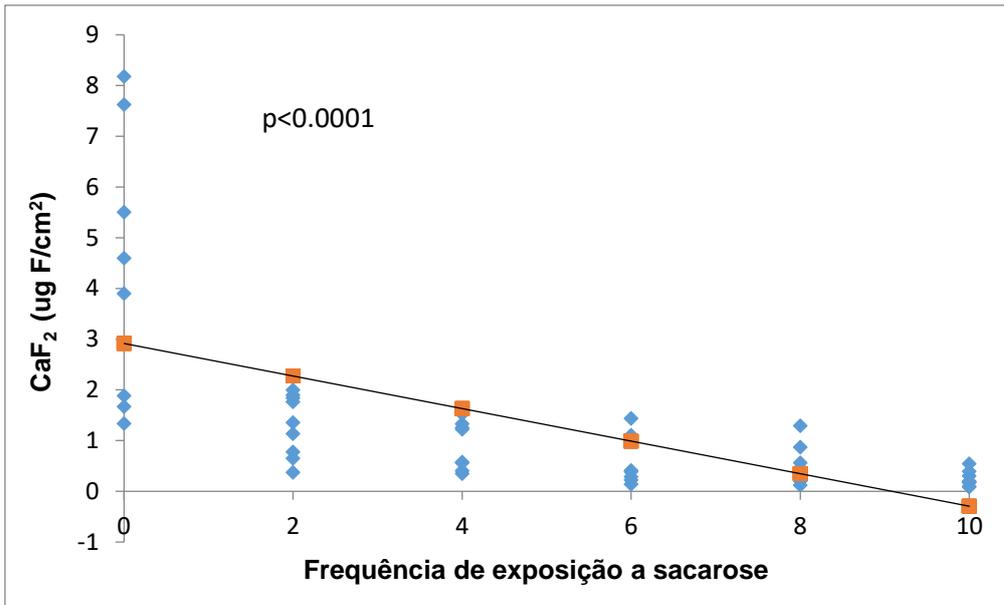


Figura 6- Concentração de flúor solúvel em álcali ($\mu\text{g F/cm}^2$) em função da frequência de exposição a sacarose. A significância estatística para esta associação está descrita no gráfico.

3.5 DISCUSSÃO

Neste estudo, verificou-se que quando são realizados mais de seis desafios cariogênicos durante um dia, a desmineralização da dentina é significativa, mesmo com a utilização de dentifrício fluoretado de alta concentração (5000 ppm F). (Fig 1) e que existe relação positiva entre aumento da frequência de exposição a sacarose e aumento da %PDS (Fig 4). Estudos anteriores observaram comportamento semelhante, porém em esmalte na presença de dentifrícios com concentração padrão (1000 ppm F) [Duggal et al., 2001; Cury et al.,2001; Cahuana-Vasquez et al., 2007]. Portanto, este resultado sugere um possível efeito protetivo adicional do dentifrício de alta concentração de F, visto que a dentina é um tecido dental mais suscetível a desmineralização pois possui maior permeabilidade que o esmalte [ten cate et al.,1998]. Este desfecho era esperado visto que já está estabelecido que o dentifrício com 5000 ppm F proporciona uma melhor prevenção de lesões cariosas radiculares [Ekstrand et al.,2008; Ekstrand et al.,2013; Ekstrand et al.,2016; Norstroem et al., 2010].

Este achado tem uma importante relevância clínica visto que, com o envelhecimento da população em muitos países [Schimidt et al., 2011], lesões de cárie radicular serão cada vez mais presentes na rotina dos consultórios odontológicos e nesse contexto estudos que possam auxiliar na prevenção e controle dessas lesões são imprescindíveis. Este é o primeiro trabalho que avalia a importância do dentifrício fluoretado de alta concentração no controle da cárie em dentina utilizando diferentes frequências de sacarose.

Em relação a biomassa, pode-se observar que essa aumentou proporcionalmente com a frequência de sacarose a qual os blocos de dentina foram expostos (Figs 2 e 5), ratificando o potencial cariogênico da sacarose e corroborando com achados já existentes na literatura [Rateitschak-Plüss e Guggenheim,1982; Cahuana-Vasquez et al., 2007]. O aumento da biomassa deve-se principalmente a maior produção de polissacarídeos extracelulares insolúveis (PEC) que preenchem grande volume da matriz do biofilme. Esses PEC estão diretamente relacionados com a cariogenicidade da sacarose, pois possibilitam um biofilme mais poroso, e com valores de pH mais baixos [Dibdin e Shellis, 1988].

Na presente pesquisa, observou-se que a quantidade de flúor fracamente ligado (CaF_2) foi inversamente proporcional ao aumento da frequência de exposição a sacarose, mesmo na presença de dentifrício fluoretado de alta concentração (Fig 3 e 6). Isso pode ser explicado pelo fato de que o CaF_2 formado em superfícies dentárias após a aplicação de flúor é instável [Falcão A. et al.;2016] e ao se aumentar a frequência de sacarose, o pH do biofilme diminui [Pearce et al.,1998] e isso faz com que os níveis de CaF_2 reduzam em razão da liberação do íon F fracamente ligado para formação de cristais de fluorapatita. Após a regularização do pH o volume de CaF_2 estabiliza [Rolla et., 1989]. Esse dado é de extrema relevância pois sinaliza para a necessidade de consumo consciente do açúcar, principalmente no que diz respeito a frequência de ingestão, mesmo com a utilização de produtos fluoretados de alta concentração.

A desmineralização da dentina causada pelo aumento da frequência de exposição a sacarose pode ser explicada em parte pela diminuição dos depósitos de CaF_2 formado no substrato. Esses depósitos tem papel relevante no processo de remineralização, pois existe uma relação diretamente proporcional entre sua concentração no substrato dental, no fluido do biofilme e aqueles processos [Tenuta et al., 2008]. Esta baixa concentração de CaF_2 observada de forma geral, também pode ser justificada pela última exposição ao dentifrício antes da análise ter ocorrido há 10 horas.

Apesar das limitações provenientes de um estudo *in situ*, os resultados sugerem que o dentifrício fluoretado de alta concentração é capaz de controlar a desmineralização da dentina quando a frequência de uso de sacarose não for superior a 6x/dia. No entanto, outros estudos devem ser realizados afim de confirmá-los.

3.6 AGRADECIMENTOS

Este estudo teve apoio financeiro do CNPQ (Nº 474318/2013-3) - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo apoio financeiro. Os autores agradecem imensamente aos voluntários que participaram desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Aires CP, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Koo H, Cury JA. Effect of sucrose concentration on dental biofilm formed in situ and on enamel demineralization. *Caries Res.* 2006;40(1):28–32.
2. Caslavská 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; 20:333-339.
3. Ccahuana-Vásquez 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.
4. Cenci MS, Tenuta LM, Pereira-Cenci T, Del Bel Cury AA, ten Cate JM, Cury JA: Effect of microleakage and fluoride on enamel-dentine demineralization around restorations. *Caries Res.* 2008; 42:369–379.
5. Cury JA, Rebello MAB, Del Bel Cury AA: In situ relationship between sucrose exposure and the composition of dental plaque. *Caries Res* 1997; 31:356–360.
6. Cury JA, Francisco SB, Del Bel Cury AA, Tabchoury CPM: In situ study of sucrose exposure, mutans streptococci in dental plaque and dental caries. *Braz Dent J* 2001; 12: 101– 104.
7. Cury JA, Francisco SB, Simões GS, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP: Effect of a calcium carbonate-based dentifrice on enamel demineralization in situ. *Caries Res.* 2003; 37: 194-199.
8. Cury JA, Tenuta LM. How to maintain a cariostatic fluoride concentration in the oral environment. *Adv Dent Res.* 2008;20(1):13-6.
9. Cury JA, Tenuta LT. Enamel remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions? *Braz Oral Res.* 2009; 23 (1) :23-30.
10. Cury JA, de Oliveira BH, Dos Santos AP, Tenuta LM. Are fluoride releasing dental materials clinically effective on caries control? *Dent Mater.* 2016 Mar;32(3):323-33.

11. Dibdin GH, Shellis RP. Physical and biochemical studies of *Streptococcus mutans* sediments suggest new factors linking the cariogenicity of plaque with its extracellular polysaccharide content. *J Dent Res.* 1988; 67: 890–895.
12. Duggal MS, Toumba KJ, Amaechi BT, Kowash MB, Hogham SM: Enamel demineralization in situ with various frequencies of carbohydrate consumption with and without fluoride toothpaste. *J Dent Res* 2001; 80: 1721–1724.
13. Ekstrand K, Martignon S, Holm-Pedersen P. Development and evaluation of two root caries controlling programmes for home-based frail people older than 75 years. *Gerodontology.* 2008; 25:67–75.
14. Ekstrand KR, Poulsen JE, Hede B, Twetman S, Qvist V, Ellwood RP: A randomized clinical trial of the anti-caries efficacy of 5,000 compared to 1,450 ppm fluoridated toothpaste on root caries lesions in elderly disabled nursing home residents. *Caries Res.* 2013; 47:391–398
15. Ekstrand KR. High Fluoride Dentifrices for Elderly and Vulnerable Adults: Does It Work and if So, Then Caries Res.? 2016;50(1):15-21.
16. Falcão A, Masson N, Leitão TJ, Botelho JN, Ferreira-Nóbilo Nde P, Tabchoury CP, Tenuta LM, Cury JA. Fluoride rinse effect on retention of CaF₂ formed on enamel/dentine by fluoride application. *Braz Oral Res.* 2016;30.
17. Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res.* 2004; 38: 182–191.
18. Fernández, CE, Tenuta, LMA, Cury, JA. Validation of a Cariogenic Biofilm Model to Evaluate the Effect of Fluoride on Enamel and Root Dentine Demineralization. 2016: PLoS ONE 11(1).
19. 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: 339–344.
20. Nóbrega D.F, Fernández C.E, Del Bel Cury A.A, Tenuta L.M, Cury J.A. Frequency of Fluoride Dentifrice Use and Caries Lesions Inhibition and Repair. *Caries Res.* 2016; 50:133-140.

21. Nordström A, Birkhed D. Preventive effect of high-fluoride dentifrice (5,000 ppm) in caries-active adolescents: a 2-year clinical trial. *Caries Res.* 2010;44(3):323-31.
22. Paes Leme AF, Dalcico R, Tabchoury CPM, 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; 83:71–75.
23. Paes Leme AF, Koo H, Bellato CM, Bedi G, Cury JA. The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation—new insights. *J Dent Res.* 2006; 85(10):878–887.
24. Pearce E: Plaque minerals and dental caries. *N Z. Dent J* 1998; 94: 12–15.
25. Pecharki GD, Cury JA, Paes Leme AF, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Rosalen PL, et al. Effect of sucrose containing iron (II) on dental biofilm and enamel demineralization *in situ*. *Caries Res.* 2005; 39: 123–9.
26. Pessan JP, Conceição JM, Grizzo LT, Székely M, Fazakas Z, Buzalaf MA. Intraoral fluoride levels after use of conventional and high-fluoride dentifrices. *Clin Oral Investig.* 2015 May;19(4):955-8.
27. Rateitschak-Plüss EM, Guggenheim B. Effects of a carbohydrate-free diet and sugar substitutes on dental plaque accumulation. *J Clin Periodontol.* 1982; 9:239–51.
28. Ribeiro CCC, Tabchoury CPM, Del Bel Cury AA, Tenuta LMA, Rosalen PL, Cury JA: Effect of starch on the cariogenic potential of sucrose. *Br J Nutr* 2005; 94: 44–50.
29. Rölla G. Why is sucrose so cariogenic? The role of glucosyltransferase and polysaccharides. *Scand J Dent Res* 1989; 97:115–119.
30. Scheie AA, Arneberg P, Orstavik D, Afseth J. Microbial composition, pH-depressing capacity and acidogenicity of 3-week smooth surface plaque developed on sucrose-regulated diets in man. *Caries Res.* 1984; 18:74–86.
31. Schmidt MI, Duncan BB, Silva GA, Menezes AM, Monteiro CA, Barreto SM, et al. Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. *Lancet.* 2011;377(9781):1949-61.

32. Srinivasan M, Schimmel M, Riesen M, Ilgner A, Wicht MJ, Warncke M, Ellwood RP, Nitschke I, Müller F, Noack MJ. High-fluoride toothpaste: a multicenter randomized controlled trial in adults. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2014 Aug;42(4):333-40.
33. ten Cate JM: Review on fluoride, with special emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. *Eur J Oral Sci* 1997; 105:461–465.
34. Ten Cate JM, Damen JJ, Buijs MJ. Inhibition of dentin demineralization by fluoride in vitro. *Caries Res.* 1998;32(2):141–7.
35. Tenuta LM, Cerezetti RV, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP, Cury JA. Fluoride release from CaF₂ and enamel demineralization. *J Dent Res.* 2008 Nov;87(11):1032-6.
36. Tenuta, LM. Cury, JA. Fluoride: its role in dentistry. *Brazilian Oral Research*, 2010; 24(1): 9-17.
37. Vale GC, Tabchoury CP, Arthur RA, Del Bel Cury AA, Paes Leme AF, Cury JA. Temporal relationship between sucrose-associated changes in dental biofilm composition and enamel demineralization. *Caries Res.* 2007; 41(5):406–412.
38. Vale GC, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Tenuta LM, ten Cate JM, Cury JA. APF and dentifrice effect on root dentin demineralization and biofilm. *J Dent Res.* 2011 Jan;90(1):77-81.
39. Vale GC, Cruz PF, Bohn AC, de Moura MS. Salivary fluoride levels after use of high-fluoride dentifrice. *The Scient World Journ.* 2015; 2015:302717.
40. Zero DT, Rahbek I, Fu J, Proskin HM, Featherstone JDB. Comparison of the iodide permeability test, the surface microhardness test, and mineral dissolution of bovine enamel following acid challenge. *Caries Res.* 1990; 24:181-188.

APÊNDICES

APÊNDICE 1



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

1. Título da Pesquisa

EFEITO DO DENTIFRÍCIO COM ALTA CONCENTRAÇÃO DE FLÚOR NA DESMINERALIZAÇÃO DA DENTINA EXPOSTA A DIFERENTES FREQUÊNCIAS DE SACAROSE

2. Objetivos da Pesquisa

Objetiva-se por meio dessa pesquisa, avaliar as modificações na composição do biofilme mediante a exposição à sacarose assim como a desmineralização da dentina na presença do dentifrício com alta concentração de flúor.

3. Justificativa

Cárie é uma doença bacteriana açúcar- dependente, e entre os carboidratos da dieta a sacarose é considerada a mais cariogênica desde a sua fermentação em ácidos e também a metabolização intra e extracelular de polissacarídeos (IPS, EPS) por microorganismos do biofilme dental. Fluoreto (F) tem sido considerado a base de medidas para o controle de cárie, quer seja do ponto de vista de uso individual como de saúde pública. O mecanismo de ação do F está associado à sua frequente utilização em baixas concentrações, inibindo a desmineralização e favorecendo a remineralização do substrato dental, o que denota o seu efeito físico-químico. Estudos in situ anteriores demonstraram que a desmineralização do esmalte na presença de fluoretos só acontece a partir de uma exposição superior a 6x/ dia de sacarose. No entanto, o comportamento da dentina mediante exposição a frequências variadas de sacarose na presença de um dentifrício com alta concentração de flúor ainda não foi elucidado.

4. Procedimentos

Um estudo in situ cruzado com duração de 3 fases com 7 dias cada e intervalo de 5 dias entre as fases (washout) será conduzido e 10 voluntários adultos com boa saúde geral participarão desta pesquisa. Preliminarmente, blocos de dentina serão obtidos a partir de incisivos bovinos e sua dureza inicial será determinada. Nas fases experimentais, os voluntários utilizarão um dispositivo palatino confeccionado em

resina acrílica autopolimerizável, nos quais serão colocados 4 blocos de dentina bovina, sendo 2 blocos de cada lado. Durante as fases, os participantes utilizarão dentifrício com alta concentração de flúor e nos períodos de washout o dentifrício não-fluoretado. Em cada fase Os voluntários serão instruídos a remover os aparelhos de cavidade oral e pingar duas gotas da solução de sacarose em cada conjunto de blocos de dentina (uma gota em cada bloco) de acordo com a frequência de exposição à sacarose determinadas em cada uma delas: (1) 0 ou 2 vezes / dia (11.00 e as 21.00 h); (2) 4 vezes/ dia (8,00, 11,00, 15,30 e 21,00 h) ou 6 vezes / dia (8,00, 11,00, 14.00, 15.30, 19.00 e 21.00 h); (3) 8 vezes / dia (8,00, 9,30, 11,00, 14.00, 15.30, 17.00, 19.00 e 21.00 h) ou 10 vezes / dia (8,00, 9.30, 11.00, 12.30, 14.00, 15.30, 17.00, 19.00, 20.00 e 21.00 h) e 5 min mais tarde, o dispositivo será reinserido na boca. Os voluntários também serão instruídos para usar os aparelhos o tempo todo, removendo-os somente durante as refeições ou ingestão de líquidos. Ao final das etapas experimentais, a dureza de superfície será novamente medida e descrita como porcentagem de perda de dureza de superfície (%PDS), e o biofilme dental formado sobre os substratos dentais será coletado para a avaliação da concentração de flúor, cálcio e fósforo inorgânico.

5. Desconfortos e Riscos

Os voluntários poderão apresentar discreto mau hálito durante o período experimental, o que poderá ser resolvido com adequada higiene dental. O uso da solução de sacarose será apenas como gotas sobre os blocos dentais presentes nos dispositivos intra-orais, não implicando em qualquer aumento de cárie dental nos voluntários. O dispositivo intra-oral pode causar um leve desconforto, que é, entretanto, semelhante ao desconforto causado por um aparelho ortodôntico móvel. Durante todo o período da pesquisa, acompanhamentos semanais serão realizados, para verificar as condições do aparelho e da sua saúde bucal.

6. Benefícios esperados

O benefício que os voluntários terão será um auxílio indireto, contribuindo para a realização deste projeto e o para a ciência.

7. Métodos alternativos existentes

Não há métodos alternativos para obtenção das informações desejadas.

8. Forma de acompanhamento e assistência

Os pesquisadores envolvidos na pesquisa estarão à disposição dos voluntários para ajuste no aparelho intra-oral a fim de minimizar qualquer desconforto, antes do início e durante todo o estudo.

9. Garantia de esclarecimento

O voluntário tem garantia de que receberá resposta ou esclarecimento de qualquer dúvida quanto aos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados à pesquisa ainda que isso possa afetar a vontade do indivíduo em continuar participando. Qualquer dúvida ou problema com o dispositivo intra-oral, por favor, comunicar-nos com a maior brevidade possível.

Tel: 99860-9903 (Fabiana) (Prof. Dr Gláuber – 9 9912- 9200)

10. Formas de ressarcimento

Os voluntários serão ressarcidos de eventuais despesas com o transporte-alimentação para a coleta das amostras contidas nos dispositivos.

11. Formas de indenização

Não há danos previsíveis decorrentes desta pesquisa e, portanto, não há previsão de indenização.

12. Garantia de sigilo

Os pesquisadores asseguram a sua privacidade quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa.

13. Liberdade para se recusar em participar da pesquisa

A decisão de fazer parte desta pesquisa é voluntária. O voluntário pode escolher se quer ou não participar, assim como poderá desistir de participar a qualquer momento, sem qualquer prejuízo ou punição, inclusive do ponto de vista acadêmico.

14. Possibilidade de inclusão em grupo controle ou placebo

Não há possibilidade de inclusão em grupo experimental ou placebo.

**SUA ASSINATURA INDICA QUE VOCÊ DECIDIU PARTICIPAR DA PESQUISA
COMO VOLUNTÁRIO E QUE LEU E ENTENDEU TODAS AS INFORMAÇÕES
ACIMA EXPLICADAS.**

Nome do voluntário
voluntário

Assinatura do

RG:

ATENÇÃO: A SUA PARTICIPAÇÃO EM QUALQUER TIPO DE PESQUISA É VOLUNTÁRIA. EM CASO DE DÚVIDA QUANTO AOS SEUS DIREITOS ESCREVA PARA O COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UFPI. Campus Universitário Ministro Petrônio Portella - Bairro Ininga. Pró Reitoria de Pesquisa - PROPESQ. CEP: 64.049-550 - Teresina - PI. **Telefone:** 86 3237-2332 **E-mail:** cep.ufpi@ufpi.br

APÊNDICE 2

INSTRUÇÕES AOS VOLUNTÁRIOS

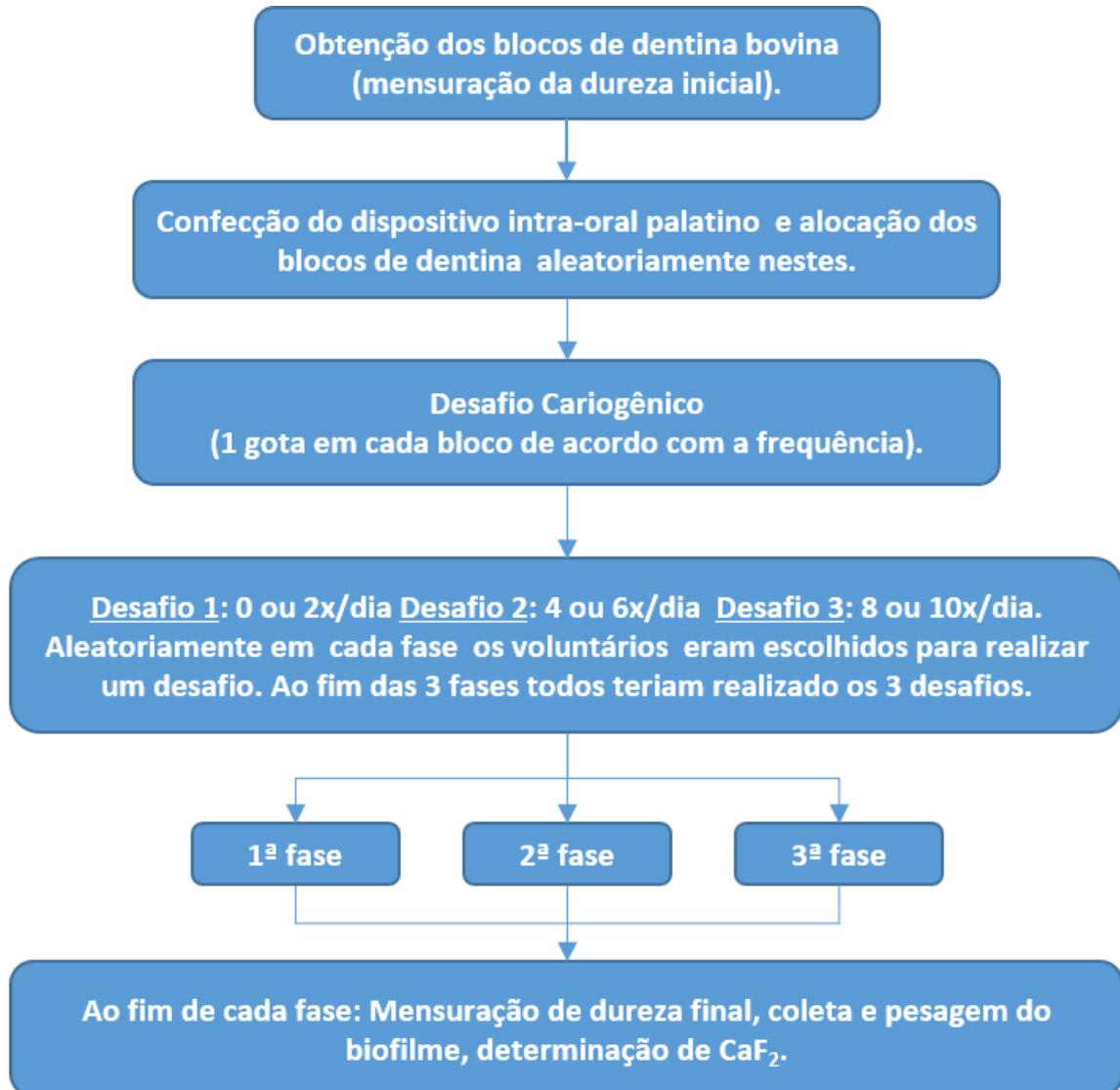
- O kit entregue no início do experimento contém: 2 (dois) frascos de solução de sacarose 20%, o aparelho a ser utilizado, 1 (um) porta-aparelho, 1 (um) dentifrício com alta concentração de flúor, 1 (um) dentifrício NÃO fluoretado, 1 (um) pacote de gaze e 2 (duas) escovas de dente;
- Essa primeira fase compreenderá os dias 09,10,11,12,13,14,15 / Washout 16,17,18,19,20;
- Gotejar a solução de sacarose nos horários determinados e de acordo com as instruções dispostas na caixinha do aparelho;
- Após o gotejamento da sacarose de acordo com as instruções, esperar 5 minutos e então colocar o aparelho de volta na boca;
- Após o uso, os frascos de sacarose devem ser mantidos dentro da geladeira.
- O aparelho deve ser utilizado durante todo o dia e à noite, só remover da boca durante as refeições ou quando for ingerir algum alimento ou bebida, inclusive água;
- Nos momentos em que o aparelho estiver fora da boca (refeições) esse deve ser deixado no porta-aparelho com gaze umedecida em água;
- O kit contém duas escovas, uma deverá ser utilizada, EXCLUSIVAMENTE, associada ao dentifrício NÃO fluoretado e a outra EXCLUSIVAMENTE associada ao dentifrício fluoretado;
- Escovar os dentes 3 vezes ao dia com o dentifrício fluoretado indicado durante a fase da pesquisa. No período entre uma fase e outra (washout) escovar com o dentifrício não-fluoretado também disponibilizado no kit. Escovar também o aparelho, mas **NÃO** a telinha, porém a espuma da escovação do aparelho deverá ser levemente levada sobre a telinha com a escova; não colocar a água do enxágue diretamente sobre o aparelho;
- Não utilizar bochechos, fio dental com flúor, clorexidina, alimentos que possam ser fonte de flúor (chá preto e chá verde).

Agradecemos a sua participação e colaboração!!

Prof. Dr. Gláuber Vale e a mestrandia Fabiana Rolim

APÊNDICE 3

Fluxograma do experimento



APÊNDICE 4

Imagens do aparelho intra-oral

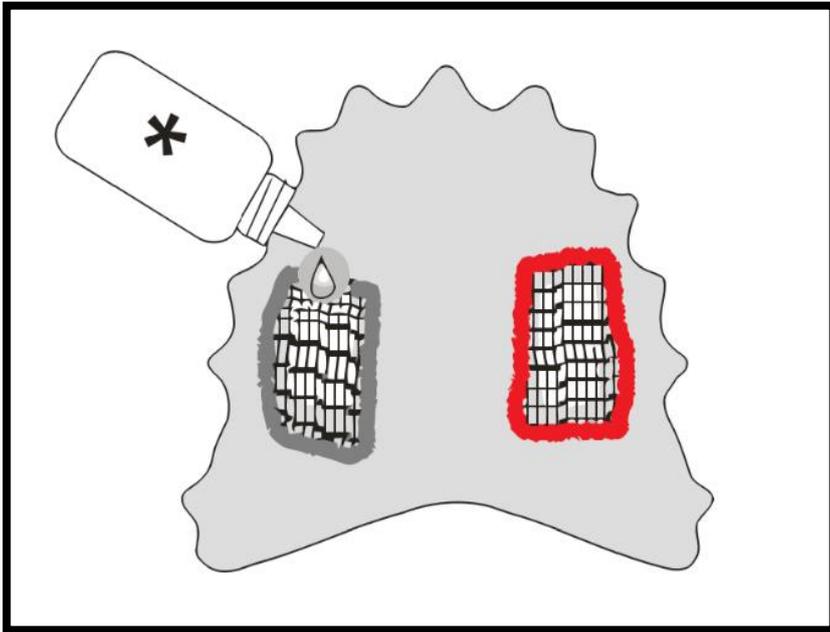


Figura7- Esboço do aparelho e da realização do desafio cariogênico. * sol. sacarose 20%. Gotejada (1 gota em cada bloco de dentina) na frequência indicada em cada



desafio.

Figura 8- Imagem real do aparelho intra-oral palatino utilizado neste experimento.