**AVALIAÇÃO *IN VIVO* DA CINÉTICA DO FLÚOR NA
SALIVA, INCORPORAÇÃO AO ESMALTE
E BIODISPONIBILIDADE
APÓS O USO DE GOMA DE MASCAR FLUORETADA**

**##### Maria Fernanda
Borro Bijella**

**Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Bauru, da Universidade
de São Paulo, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Doutor em
Odontologia, área de Odontopediatria.**

(Edição Revisada)

**BAURU
2004**

**AVALIAÇÃO *IN VIVO* DA CINÉTICA DO FLÚOR NA
SALIVA, INCORPORAÇÃO AO ESMALTE
E BIODISPONIBILIDADE
APÓS O USO DE GOMA DE MASCAR FLUORETADA**

**Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Bauru, da Universidade
de São Paulo, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Doutor em
Odontologia, área de Odontopediatria.**

(Edição Revisada)

Orientadora:

**Prof.^a Dr.^a Maria Francisca Thereza
Tibiriçá Borro Bijella**

Co-orientadora:

Prof.^a Dr.^a Marília Afonso Rabelo Buzalaf

**BAURU
2004**

Bijella, Maria Fernanda Borro
B489a Avaliação in vivo da cinética do flúor na saliva, incorporação ao esmalte e biodisponibilidade após o uso de goma de mascar fluoretada / Maria Fernanda Borro Bijella. -- Bauru, 2004.
xxvi, 140 p. : il. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) -- Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo.

Orientadora:

Prof.^a Dr.^a Maria Francisca Thereza Borro Bijella

Co-orientadora:

Prof.^a Dr.^a Marília Afonso Rabelo Buzalaf

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, por processos fotocopiadores e/ou meios eletrônicos.

Assinatura da autora:

Data:

Projetos de Pesquisa aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa, conforme Ofício n.º CEP/15 2004/FOB de 05/07/2004.

DADOS CURRICULARES

MARIA FERNANDA BORRO BIJELLA

2 de outubro de 1975

Nascimento

Bauru – SP

Filiação

Vitoriano Truvijo Bijella

Maria Francisca Thereza Borro Bijella

1994 – 1997

Curso de Graduação em Odontologia
– Universidade do Sagrado Coração –
Bauru.

1995 – 1996

Bolsista do PIBIC/CNPq.

1998 – 2000

Curso de Pós-Graduação em
Odontologia ao nível de Mestrado, Área
de Odontopediatria – Faculdade de
Odontologia de Bauru – Universidade
de São Paulo.

2001 – 2004

Curso de Pós-Graduação em
Odontologia ao nível de Doutorado,
Área de Odontopediatria – Faculdade
de Odontologia de Bauru –
Universidade de São Paulo.

2001 – 2003

Bolsista CAPES.

Associações

ABOPREV - Associação Brasileira de Odontologia de Promoção de Saúde.

APCD - Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas.

CRO-SP - Conselho Regional de Odontologia do Estado de São Paulo

GRUPO - Grupo Brasileiro de Professores de Odontopediatria e Ortodontia.

IADR - International Association Dental Research.

SBPqO - Sociedade Brasileira de Pesquisas Odontológicas.

QUE DEUS NÃO PERMITA QUE EU PERCA...

O OTIMISMO, mesmo sabendo que o futuro que nos espera não é assim tão alegre;

O EQUILÍBRIO, mesmo sabendo que inúmeras forças querem que eu caia;

A LUZ e o BRILHO NO OLHAR, mesmo sabendo que muitas coisas que verei no mundo, escurecerão meus olhos;

A GARRA, mesmo sabendo que a derrota e a perda são adversários perigosos;

A RAZÃO, mesmo sabendo que as tentações da vida são inúmeras e deliciosas;

O SENTIMENTO DE JUSTIÇA, mesmo sabendo que o prejudicado possa ser eu;

O AMOR POR MINHA FAMÍLIA, mesmo sabendo que ela muitas vezes me exigiria esforços incríveis para manter a sua harmonia.

a vontade de VIVER, mesmo sabendo que a vida é, em muitos momentos, dolorosa;

a vontade de TER GRANDES AMIGOS, mesmo sabendo que, com as voltas do mundo, eles acabam indo embora de nossas vidas;

a vontade de AJUDAR AS PESSOAS, mesmo sabendo que muitas delas são incapazes de ver, reconhecer e retribuir esta ajuda;

a vontade de DOAR ESTE ENORME AMOR que existe em meu coração, mesmo sabendo que muitas vezes ele será submetido e até rejeitado;

a vontade de SER GRANDE, mesmo sabendo que o mundo pode ser pequeno;

E ACIMA DE TUDO...

Que eu jamais me esqueça que DEUS ME AMA INFINITAMENTE, que um pequeno grão de alegria e esperança dentro de cada um é capaz de mudar e transformar qualquer coisa, pois...

A VIDA É CONSTRUÍDA NOS SONHOS E CONCRETIZADA NO AMOR!

Francisco Cândido Xavier

Dedico este Trabalho à Minha Família:

Ao meu pai, *Vitoriano*, que dedicou sua saúde em favor de minha educação e mostrou-me o verdadeiro significado da família e do trabalho universitário.

À minha mãe *Maria Francisca*, minha ETERNA orientadora! Exemplo de honestidade, força e humildade. Valores, corrompidos pela sociedade moderna, mas necessários para o correto desenvolvimento humano e científico do indivíduo. Minha admiração por suas atitudes e comportamentos torna-se referência de vida!

Ao meu irmão *Ricardo*, perfeccionista em tudo o que faz... Sempre ao meu lado incentivando e guiando meus passos, valorizando minhas conquistas!!!

E à minha cunhada *Cecília*, por seu jeito meigo e tranquilo, sempre destacando o lado bom das coisas.

Pessoas especiais sabem dividir seu tempo com os outros. São honestas nas atitudes, são sinceras e compassivas, e sabem que o amor é parte de tudo. Pessoas especiais têm coragem de se doar aos outros, sem nenhum interesse oculto. Não têm medo de ser vulnerável, acreditam que são únicas e gostam de ser quem são. Pessoas especiais se importam com a felicidade dos outros e os ajudam a conquistá-la. Pessoas especiais são aquelas que realmente tornam a vida mais bela e mais feliz.

Amo Vocês!

AGRADECIMIENTOS

Meu Agradecimento Especial:

À *Marília* (Prof.^a Dr.^a *Marília Afonso Rabello Buzalaf*), que com sua doçura, confiou em mim... Meus agradecimentos, não só pela sua enorme colaboração no desenvolvimento deste trabalho como minha co-orientadora, mas também pela amizade oferecida. Minha sincera e impagável gratidão.

À minha tia e madrinha, *Maria do Carmo*, constante companheira de minha mãe. Agradeço o apoio e carinho incondicional que você sempre me dedicou.

Aos meus amigos, *Patrícia, Cadu, Paula e Livia*, pela amizade e por todos os momentos que passamos juntos. Vocês são irmãos que Deus me permitiu escolher!

Às colegas *Fernanda, Vanessa, Kelly e Priscila*, pelo auxílio na parte prática deste estudo e por sua disponibilidade e prontidão em ajudar-me no Laboratório de Bioquímica.

“Difícil querer definir o amigo.

*Amigo é quem tentou e fez,
e não tem o egoísmo de não querer compartilhar o que aprendeu.
É quem fica enfurecido por enxergar seu erro,
mas sabe que a perfeição é utopia.
Amigo é pra sempre, mesmo que o sempre não exista.”*

Anônimo

Agradeço Ainda:

Aos meus *Tios e Primos*, pelos laços que nos unem

A todos os *Professores* do Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Bauru – USP, pelos novos ensinamentos ministrados.

Aos colegas do curso de Doutorado *Cleide (Pity), Daniela, José Vitor, Ana Luísa e Paloma*, pelos bons momentos e inúmeros obstáculos superados na busca deste objetivo.

Aos funcionários da Disciplina de Odontopediatria *"Dona" Lia, Fátima, Lílian e Estela*, pela amizade, carinho e colaboração em todos os momentos.

Ao *Marcelo* (Biblioteca) pela amizade e ajuda na formatação deste trabalho.

Ao *Prof. Dr. José Roberto Pereira Lauris*, pelos ensinamentos e orientação na análise estatística dos resultados.

À *Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo*, na pessoa de sua Diretora, *Prof.^a. Dr.^a. Maria Fidela de Lima Navarro*, e ao *Prof. Dr. José Carlos Perreira*, Presidente da Comissão de Pós-Graduação, pelas oportunidades concedidas.

À *CAPES*, pelo apoio financeiro.

Aos funcionários *Edmauro* (Endodontia), *Thelma e Ovídio* (Bioquímica) por estarem sempre prontos em me ajudar e pela atenção dispensada.

Aos *Funcionários da Biblioteca* pela atenção e constante orientação oferecida durante o desenvolvimento de minha tese.

À disciplina de *Bioquímica*, pela cessão de suas dependências e equipamentos imprescindíveis para a realização deste trabalho.

A todos aqueles que, de uma maneira ou de outra, colaboraram com a realização deste trabalho, despertando algum tipo de sentimento capaz de não me deixar desistir!

Muito Obrigada!

*“Ter problemas na vida é inevitável,
Ser derrtado por eles é opcional”.*

Roger Crawford

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	xvi
LISTA DE TABELAS	xix
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xxii
RESUMO	xxv
1 INTRODUÇÃO	2
2 REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1 Estudos sobre liberação de flúor por goma de mascar .	15
2.2 Incorporação de flúor ao esmalte dentário	28
2.3 Biodisponibilidade do flúor liberado pela goma de mascar de mascar	32
3 PROPOSIÇÃO	37
4 MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1 Determinação da amostra	39
4.2 Procedimento experimental 1. ^a fase	40
4.2.1 Obtenção dos “baselines”	40
4.2.2 Obtenção das amostras	42
4.3 Procedimento experimental 2. ^a fase	43
4.3.1 Obtenção das amostras	44
4.3.1.1 Coleta de urina	44
4.3.1.2 Coleta de saliva do ducto da glândula parótida	45
4.4 Análise das amostras	48

4.4.1	Análise de Flúor e Fósforo das biópsias	48
4.4.2	Determinação da concentração de flúor na saliva – 1 ^a fase	49
4.4.2.1	Análise da concentração de flúor pelo método direto	49
4.4.2.2	Análise da concentração de flúor após difusão facilitada por HMDS-Taves	50
4.4.3	Determinação da concentração de flúor – 2. ^a fase	54
4.4.3.1	Preparo da dieta para análise da concentração de flúor no lanche	54
4.4.3.2	Análise da concentração de flúor na saliva do ducto após difusão facilitada por HMDS-Taves ¹⁰² , modificada por Whitford ¹¹⁸	55
4.4.3.3	Análise da concentração de flúor na urina	58
4.4.4	Análise da concentração de flúor nas gomas de mascar	58
4.4.5	Validação das análises	60
4.5	Análise estatística	61
5	RESULTADOS	63
5.1	Liberação de flúor na saliva	63
5.2	Incorporação do flúor no esmalte dentário	70
5.3	Biodisponibilidade do flúor	75
5.3.1	Saliva do ducto da glândula parótida	75
5.3.2	Urina	77
6	DISCUSSÃO	81
6.1	Liberação do flúor na saliva	81
6.2	Incorporação do flúor no esmalte dentário	90
6.3	Biodisponibilidade do Flúor liberado pela goma de mascar	94
7	CONCLUSÕES	105
ANEXOS		108
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		112
ABSTRACT		139

STARS

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1** - Crianças sentadas coletando a saliva estimulada .. 41
- FIGURA 2** - Fita mágica pintada para melhor visualização da área demarcada para a biópsia 41
- FIGURA 3** - Destaque para a colocação do ácido, proteção dos tecidos com algodão 41
- FIGURA 4** - Embalagem comercial dos chicletes pesquisados ... 42
- FIGURA 5** - Frascos utilizados para coleta de urina dos voluntários 45
- FIGURA 6** - Secagem da saída do ducto da parótida com gaze estéril 46
- FIGURA 7** - A: Visão externa do coletor; B: Visão interna do coletor 46
- FIGURA 8** - Coletor de saliva montado com cânula e pêra, pronto para uso 47
- FIGURA 9** - Detalhe do coletor de saliva posicionado na saída do ducto da parótida 47
- FIGURA 10** - Visualização de todo o conjunto no ato da coleta . 47
- FIGURA 11** - Detalhe da gota de saliva sendo coletada no “eppendorf” 47

FIGURA 12 - “Eppendorfs” com saliva identificados	47
FIGURA 13 - Leitura imediata do flúor presente na biópsia	48
FIGURA 14 - Material utilizado para técnica	52
FIGURA 15 - Colocação do NaOH na tampa central	52
FIGURA 16 - Destaque da placa vedada com vaselina após colocação do HMDS	52
FIGURA 17 - Mesa agitadora orbital plana	52
FIGURA 18 - Remoção da tampa central após 12h de agitação .	52
FIGURA 19 - Estufa a 60°C	52
FIGURA 20 - Detalhe dos cristais de NaF formados	53
FIGURA 21 - Colocação de ácido acético nos tubos de ensaio ...	53
FIGURA 22 - Detalhe do tubo de ensaio	53
FIGURA 23 - Detalhe do agitador de tubos	53
FIGURA 24 - Coleta dos NaF após diluição com ácido	53
FIGURA 25 - Eletrodo Orion 96-09, acoplado a aparelho analisador de pH/fluoretos	53
FIGURA 26 - Placa de petri com vaselina	57
FIGURA 27 - Confeção das 3 gotas de NaOH	57
FIGURA 28 - Inserção do HMDS pelo orifício	57
FIGURA 29 - Padrões Pré-difundidos e difundidos prontos para agitação	57
FIGURA 30 - Mesa agitadora (velocidade 3-4)	57

FIGURA 31 - Eletrodo Orion 9409 e mini-eletrodo de referência calomelano	57
FIGURA 32 - Conjunto montado	59
FIGURA 33 - Conjunto no agitador magnético	59
FIGURA 34 - Detalhe do chiclete diluído em banho-maria	59
FIGURA 35 - Material utilizado para regulação do volume	59
FIGURA 36 - Frasco identificado para armazenamento	59
FIGURA 37 - Gráfico da quantidade total de flúor liberado (mg F^-) e desvio padrão nos diferentes tempos do experimento	66
FIGURA 38 - Gráfico mostrando a diferença, para cada indivíduo, da concentração de flúor no esmalte (ppm F^-) nos diferentes chicletes utilizados	74
FIGURA 39 - Gráfico ilustrando o comportamento da concentração de flúor presente na saliva do ducto da glândula parótida, para cada indivíduo	77

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1** - Volume da saliva por voluntário (mL); média total e erro padrão, obtidos com cada goma avaliada 64
- TABELA 2** - Parâmetros para o teste de Análise de variância a 2 critérios utilizando-se os volumes de saliva obtidos para cada goma de mascar 65
- TABELA 3** - Teste Tukey utilizando-se a média dos valores para comparações múltiplas entre os intervalos de tempo avaliados 65
- TABELA 4** - Média (X) e erro padrão (ep) da quantidade total de flúor liberado (mg F⁻) nos diferentes tempos do experimento 66
- TABELA 5** - Parâmetros para o teste de Análise de variância a 2 critérios utilizando-se quantidade total de flúor liberado (mg F⁻) obtidos para cada goma de mascar 67
- TABELA 6** - Teste Tukey utilizando-se a média dos valores para comparações múltiplas entre os intervalos de tempo avaliados na liberação de flúor do Happydent® 68

TABELA 7 - Teste Tukey utilizando-se a média dos valores para comparações múltiplas entre os intervalos de tempo avaliados na liberação de flúor do Trident®	68
TABELA 8 - Quantidade total de flúor nas gomas de mascar (mg F ⁻) por voluntário	69
TABELA 9 - Porcentagem da ingestão máxima diária correspondente a cada chiclete em relação à idade/peso médio da criança	70
TABELA 10 - Valores em ppm F ⁻ obtidos nas biopsias feitas antes e depois do uso do Trident®	71
TABELA 11 - Valores em ppm F ⁻ obtidos nas biopsias feitas antes e depois do uso do Happydent®	71
TABELA 12 - Parâmetros do teste t utilizados para avaliar o flúor (mg F ⁻) incorporado ao esmalte obtidos através das duas gomas testadas	72
TABELA 13 - Parâmetros do teste t utilizados para avaliar o flúor (mg F ⁻) incorporado ao esmalte obtidos através das duas gomas testadas	73

TABELA 14 - Parâmetros do teste t utilizados para avaliar o flúor (mg F ⁻) incorporado ao esmalte obtidos através das duas gomas testadas	72
TABELA 15 - Resultados do teste ANOVA a 1 critério de medidas repetidas para os valores de ppm F ⁻ obtidos pela saliva do ducto nos diversos tempos avaliados	74
TABELA 16 - Teste Tukey utilizando-se a média dos valores de ppm F ⁻ obtidos pela saliva do ducto nos diversos tempos avaliados	75
TABELA 17 - Distribuição dos valores totais do volume de urina coletada e pH médio durante todo o experimento de acordo com cada voluntários	77
TABELA 18 - Valores da concentração de flúor excretada através da urina (mg F ⁻)	77
TABELA 19 - Resultados do teste t pareado para comparação da concentração de flúor (mg F ⁻) encontrado na urina, antes e depois do experimento	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Ca^{++} – íon cálcio

CaF_2 – fluoreto de cálcio

cm – centímetro

CO_2 – gás carbonico

des – desmineralização

dp – desvio padrão

ep – erro padrão

F^- – íon flúor

[F] – concentração do íon flúor

gl – grau de liberdade

h – horas

HCl – ácido clorídrico

H_2SO_4 – ácido sulfúrico

HMDS – Hexametildissiloxano

in situ (latim) – em sítio, no local

in vivo (latim) – no ser humano

in vitro (latim) – em laboratório

Kg – Kilograma

L – litro

min – minutos

mg – miligrama

mL – mililitro

mV – milivoltagem

MFP – monofluorfosfato

NaF – fluoreto de sódio

NaOH – hidróxido de sódio

P – Fósforo

p – nível de significância (probabilidade)

ppm – parte por milhão

pH – potencial hidrogeniônico

QM – quadrado médio

re – remineralização

TISAB – tampão de ajuste de força iônica total

$\bar{X}$ – média

μg – microgramas

μL – microlitro

$^{\circ}\text{C}$ – graus Celsius

% – porcentagem

RESUMO

RESUMO

Há um relacionamento direto entre o uso do flúor e a prevenção da dental dentária. Devido ao aumento da fluorose dentária, deve-se dar ênfase ao controle da ingestão diária de flúor, e, mais que isto, à biodisponibilidade do mesmo. Sendo assim, o objetivo deste trabalho, cruzado e duplo-cego, foi analisar a cinética do flúor liberado na saliva total pela goma de mascar Happydent (0,3 mg F como MFP), sua capacidade de incorporação ao esmalte dentário e sua biodisponibilidade através da saliva do ducto da glândula parótida e urina. Na 1ª fase do experimento a saliva de 10 voluntários foi coletada durante 15 min (tempos 0,3,6,9,12 e 15 min) e duas biópsias, uma antes da mastigação (biópsia “baseline”) e outra após, foram realizadas através da aplicação de 5 µL de HCl a 0,5 M, sobre área delimitada na superfície do incisivo, por 15 seg, seguidas da neutralização da área por aplicação de 5 µL de NaOH a 0,25 N, por 2 vezes. A quantidade de flúor tanto na saliva quanto nas biópsias foi medida com o auxílio de eletrodo íon-específico. As concentrações médias de flúor liberada na saliva total após o uso do Happydent® e Trident® foram de 0,187 e 0,002 mg F, respectivamente. A goma de mascar Happydent® foi capaz de produzir uma incorporação média de flúor ao esmalte dentário correspondente a 1474 ppm.

Na 2ª fase, após jejum de 12h, cinco voluntários receberam 3 gomas de Happydent (≈ 1 mg MFP) e foram coletadas amostras de saliva do ducto da glândula parótida: antes do início do experimento (“baseline”), a cada 3 min durante os 20 min iniciais, a cada 20 min nas primeiras 2 h, a cada 40 min até 4 h e, por fim, em intervalos de 1 h até completarem-se 8 h do início do experimento. Amostras de urina foram coletadas um dia antes e durante o estudo, por 9 h. O F presente na saliva do ducto foi analisado após difusão facilitada por HMDS e o da urina pelo método direto. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente através da análise da variância, teste Tukey para comparações múltiplas e teste t, com nível de significância de 5%. Apesar dos altos teores de flúor originados na saliva total, após o uso do Happydent[®], terem capacidade de incorporação ao esmalte dentário e serem capazes de produzir um aumento nas concentrações de flúor da saliva do ducto da parótida, tais valores não foram suficientes para serem detectados na urina. Concluiu-se que a alta liberação de flúor proveniente da goma de mascar Happydent representa um fator predisponente para a fluorose dentária, o que inviabiliza a sua utilização por crianças na faixa etária de risco. No entanto, esta goma pode ser útil para auxiliar na prevenção de cáries dentárias em crianças acima da faixa etária de risco para fluorose dentária, o que deveria ser avaliado clinicamente.

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O efeito do Flúor (F) na prevenção de cárie dentária foi observado por McKay, no início dos anos de 1900, em Colorado Springs (McKAY, 1933 ⁷⁹). Desde então vem sendo utilizado na odontologia e sua ação terapêutica para o declínio da cárie dentária é indiscutível, resultando numa melhora significativa na saúde bucal da população. Embora haja consenso na relação existente entre o uso do flúor e a redução de cárie dentária, o flúor pode ser uma substância tóxica capaz de causar efeitos colaterais quando são consumidas altas doses, ou mesmo quando baixas doses são consumidas regularmente.

Nas duas últimas décadas, estudos têm demonstrado um declínio na prevalência da cárie dentária, em diferentes países. (CANGUSSU et al., 2002 ²¹; CANGUSSU; COSTA, 2001 ²²; GILLCRIST; BRUMLEY; BLACKFORD, 2001 ⁴⁹; SOUSA; MARCENES; SHEIHAM, 2002 ⁹⁸; BURT, 2002 ¹⁵; VELAZQUEZ et al., 2003 ¹¹⁰) Além disso, vários estudos foram realizados para testar sua eficácia, tanto na forma sistêmica, agindo durante a

amelogênese, quanto na forma tópica, atuando na interface esmalte-placa-saliva (OLIVERY; EKSTRAND; LAGERLÖF, 1987 ⁸¹; GROENEVELD; VAN ECK; BACKER DIRKS, 1990 ⁵¹; BUZALAF; CURY; WHITFORD, 2001 ¹⁹; TEN CATE, 1997 ¹⁰⁵; LIMEBACK, 1999 ⁶⁹).

Entretanto, paralelamente a isto, tem-se verificado um aumento na prevalência de fluorose dentária tanto nos países economicamente desenvolvidos quanto nos países em desenvolvimento (LEVERETT, 1986 ⁶⁵; JACKSON et al., 1999 ⁶⁰; PEREIRA et al., 2000 ⁸⁴; TABARI et al., 2000 ¹⁰¹; TSUTSUI; YAGI; HOROWITZ, 2000 ¹⁰⁹). A preocupação com o aumento na prevalência de fluorose fez com que várias pesquisas fossem desenvolvidas para a verificação das razões deste aumento, como também a identificação dos fatores de risco (MASCARENHAS, 2000 ⁷⁶; BUZALAF et al., 2001 ¹⁸; LEVY, 2003 ⁶⁶).

Atualmente, sabe-se que o uso freqüente e repetido de baixa concentração de flúor, promovendo níveis baixos, mas constantes, deste íon na saliva é o método mais eficiente no combate à cárie dentária (SJOGREN et al., 1997 ⁹⁵; TEN CATE, 1997 ¹⁰⁵; FEATHERSTONE, 1999 ⁴²). Níveis entre 1 e 10 ppm de flúor diminuem a solubilidade do esmalte e aumentam a velocidade de

remineralização, facilitando a precipitação de minerais na superfície do esmalte (LAMB et al., 1993 ⁶⁴).

O método de uso do flúor com melhor relação custo/benefício, capaz de beneficiar os vários grupos etários e níveis sócio-econômicos é a fluoretação da água de abastecimento (KARGUL; CAGLAR; TANBOGA, 2003 ⁶³) que de um modo geral, leva a uma redução na incidência de cárie de aproximadamente 50% (BUZALAF; CURY; WHITFORD, 2001 ¹⁹). Entretanto, o uso deste método pode levar ao chamado “efeito halo”, onde produtos manufaturados em regiões que contém flúor na água de abastecimento difundem o flúor para uma grande parte da população, inclusive em regiões não fluoretadas. Sendo assim, seu papel na prevalência de fluorose dentária não pode ser desprezado.

No entanto, para que os efeitos adversos do flúor no organismo possam ser sentidos, é necessário que o mesmo seja absorvido a partir do trato gastro-intestinal e atinja a circulação sistêmica, ou seja, esteja biodisponível (RITSCHER, 1984 ⁸⁶).

Seus efeitos podem causar desde distúrbios gástricos reversíveis e redução temporária na capacidade de concentração urinária até a fluorose dentária ou esquelética e, até mesmo a morte (WHITFORD, 1996 ¹¹⁸). Inicialmente esta fluorose dentária

foi considerada um distúrbio de formação que seguia uma relação linear de dose-efeito (DEAN, 1942 ²⁸), porém sabe-se atualmente que existe uma relação de suscetibilidade, através da genética, para o desenvolvimento da fluorose. Desta forma, elevações na ingestão de fluoretos por uma criança na fase de formação dentária podem resultar em fluorose, o que determina que a prevenção deve concentrar-se em crianças com menos de 6 anos de idade (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1978 ¹⁰⁷; BURT, 1988 ¹⁴; ISHII; SUCKLING, 1991 ⁵⁷; EVANS, DARVELL, 1995 ³⁹; AOBA; FEJERSKOV, 2002 ³).

Apesar da sua gênese dúbia, baseada em evidências empíricas, o conceito “ingestão diária de flúor ótima para crianças” (atualmente de 0,05 a 0,07 mg F-/ Kg/ dia) estimado por McCCLURE ⁷⁸ (1943), recomendado em função do peso corporal por FARKAS; FARKAS ⁴⁰ (1974) e alguns anos depois reforçado por OPHAUG; SINGER; HARLAND ⁸² (1980), e por BURT, ¹³ (1992), até hoje, ainda não é precisamente conhecido (GUHA-CHOWDHURY; DRUMMOND; SMILLIE, 1996 ⁵²), devendo-se ressaltar a necessidade de serem consideradas todas as fontes de flúor, sem exceção, quando se pretende estimar este valor (LEVY, KIRITSY, WARREN, 1995 ⁶⁷; FOMON, EKSTRAND, ZIEGLER, 2000 ⁴⁸).

Com o objetivo de otimizar o principal modo de ação do flúor, ou seja, o modo tópico (LIMEBACK, 1999 ⁶⁹), tem-se concentrado esforços na busca de dispositivos alternativos para se aplicar drogas na cavidade bucal como, por exemplo, produtos de uso profissional, entre os quais se encontram soluções, géis, pastas profiláticas e vernizes com alta concentração de flúor (WHITFORD et al., 1995 ¹¹⁹) ou os de uso “caseiro”, como dentifrícios (PENDRYS; KATZ, 1989 ⁸³; MASCARENHAS; BURT, 1998 ⁷⁷; MARTINEZ-MIER, et al. 2003 ⁷⁵), enxagüatórios bucais (FDI Commission, 2002 ⁴¹; MARINHO, et al., 2003 ⁷³) e, mais recentemente, a goma de mascar (OLIVERBY; EKSTRAND; LAGERGÖF, 1987 ⁸¹; SJÖGREN et al., 1997 ⁹⁵).

Os alimentos, as bebidas, a água de consumo e os produtos odontológicos fluoretados, atualmente, são considerados como as maiores fontes de ingestão de flúor para indivíduos acima de um ano de idade (BURT, 1992 ¹³; WHITFORD, 1994 ¹¹⁷; EKSTRAND, 1999 ³⁶). É importante salientar que houve uma mudança considerável dos hábitos alimentares das crianças nos últimos anos, tendo aumentado o consumo de alimentos e bebidas processados industrialmente (BUZALAF et al, 2002 ¹⁷). Como, também, o fato de que a incidência de fluorose tem sido atribuída mais a outras fontes (60%) do que à água propriamente dita (40%)

(BUZALAF; CURY; WHITFORD, 2001 ¹⁹; LEVY; KIRITSY; WARREN, 1995 ⁶⁷; FOMON; EKSTRAND; ZIEGLER, 2000 ⁴⁸).

O uso de doces ou confeitos contendo flúor pode envolver um risco, a não ser que o flúor contido seja liberado bem lentamente. (EMSLIE et al., 1961 ³⁷) A utilização de gomas de mascar para administração tópicas de flúor é um método de prevenção de cárie que tem recebido pouca atenção pela literatura mundial, todavia, nos últimos 20 anos, países como USA, Finlândia, Holanda e Suécia persistem na elucidação sobre o caráter promissor das gomas de mascar.

Estudos têm demonstrado que a goma de mascar por si só já aumenta o fluxo salivar, facilitando assim, a limpeza dos substratos que permaneceram na boca (JENKINS; EDGAR, 1989 ⁶¹; SJÖGREN, et al., 1993 ⁹⁴; MACHIULSKIENE et al., 2001 ⁷¹; SJÖGREN et al., 2002 ⁹³). Outros ainda a apresentam como um veículo útil para a utilização de agentes como flúor, clorexidina, fosfato de cálcio e, sódio (TELLEFSEN et al. 1996 ¹⁰³, SJÖGREN et al., 1997 ⁹⁵; SIMONS et al., 2002 ⁹¹). A adição de flúor à goma de mascar provoca um aumento do pH da saliva e da placa; um aumento na concentração de cálcio e íons fosfato e também na remineralização do esmalte (LAMB et al., 1993 ⁶⁴).

A ação anticariogênica eficaz das gomas de mascar contendo flúor já foi comprovada (LAMB et al., 1993 ⁶⁴; SJÖGREN et al., 1997 ⁹⁵). Entretanto, não há dados com relação ao risco de fluorose que esse veículo possa promover, sendo o maior problema o efeito cumulativo do flúor sistêmico decorrente da associação de várias fontes de flúor. (BUZALAF, CURY, WHITFORD, 2001 ¹⁹).

Assim, torna-se interessante um trabalho que pretenda analisar a ação da goma de mascar, recentemente introduzida no mercado brasileiro (Happydent) e cuja concentração de flúor pode ser mais um fator de risco de fluorose dentária para crianças de até 7 anos de idade.

REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

O uso de produtos fluoretados tem promovido melhorias significativas na saúde bucal e na qualidade de vida das populações, através da redução do índice de cárie dentária (BURT, 1995 ¹⁶). Entretanto, apesar desta colaboração, inúmeros estudos têm destacado o primeiro sinal clínico do efeito tóxico dessa substância – um aumento na prevalência da fluorose dentária (TSUTSUI, YAGI, HOROWITZ, 2000 ¹⁰⁹; FEJERSKOV, 1994 ⁴⁵; BURT, 1995 ¹⁶; BROTHWELL; LIMEBACK, 1999 ¹⁰; BUZALAF et al., 2001 ¹⁸; LIMA; CURY, 2001 ⁶⁸), principalmente nos países onde o flúor é considerado o principal meio de prevenção em termos de saúde coletiva.

Até a década de 70, a única fonte de exposição coletiva ao flúor era a água de abastecimento público (LIMA; CURY, 2001 ⁶⁸), mas devido à introdução no mercado de vários métodos alternativos como suplementos, produtos de aplicação profissional, enxagüatórios e dentifrícios (TABARI et al, 2000; ¹⁰¹ ROLLA; OGAARD; CRUZ, 1991 ⁸⁸; ISMAIL, 1994 ⁵⁸; JOHNSTON,

1994 ⁶²; TOUMBA, 2001 ¹⁰⁸; ZIMMER, 2001 ¹²²; BRAMBILLA, 2001 ⁷), o flúor alcança até comunidades onde não há água de abastecimento fluoretada, o que é conhecido como “efeito halo”. (ADAIR et al., 1999 ¹; SALES-PERES; BASTOS, 2002 ⁸⁹).

A fluorose dentária origina-se da exposição do germe dentário, durante o seu processo de formação, a altas concentrações do íon flúor, sendo definida como um defeito qualitativo do esmalte (LIMA; CURY, 2001 ⁶⁸). Todavia, segundo CUTRESS; SUCKLING²⁷ (1990), não se deve utilizar o termo “exposição excessiva” pois há indivíduos que desenvolvem a fluorose em níveis aparentemente baixos de flúor (menores que 1 ppm), afinal, além da dosagem de flúor, outros fatores interferem na severidade da fluorose: baixo peso corporal, taxa de crescimento esquelético e períodos de remodelamento ósseo constituem-se fases de maior absorção do flúor; estado nutricional, altitude e alterações da atividade renal e da homeostase do cálcio também são fatores relevantes (DENBESTEN, 1999 ²⁹). Neste sentido, a doença é mais freqüente em dentes de mineralização tardia (dentição permanente), alertando a comunidade científica para a necessidade de um acompanhamento contínuo e efetivo, para a detecção de uma possível tendência de aumento da fluorose dentária.

Segundo FEJERSKOV et al. (1994) ⁴⁶ há uma relação direta entre o aumento da concentração de flúor a partir de diversas fontes e o grau de fluorose dentária. Eles estimaram uma ingestão de 0,06 a 0,3 mg de flúor em crianças de quatro a sete anos durante a escovação. A simples supervisão das crianças por um adulto durante a escovação e a instrução para cuspir todo o dentífrício remanescente evita as ingestões acidentais ou exageradas de flúor, que pode provocar a intoxicação aguda, causando náuseas, vômitos e até a morte ou ainda as intoxicações crônicas, causando fluorose dentária ou esquelética.

BUZALAF, CURY, WHITFORD. (2001) ¹⁹ relataram que vários estudos foram realizados para identificar os fatores de risco e as razões do aumento da incidência da fluorose, entretanto, estes trabalhos, utilizam populações diferentes, com várias fontes de exposição ao flúor, além de utilizar vários índices de diagnóstico. Essa falta de padronização nas pesquisas torna difícil a comparação dos resultados e uma conclusão sobre o assunto. No entanto, sabe-se que o fator mais importante para o desenvolvimento da fluorose é a quantidade total de flúor ingerido, a partir das diversas fontes de flúor durante o período crítico, que vai dos 11 meses aos 7 anos de idade.

Apesar de serem encontradas prevalências variáveis de fluorose dentária em alguns municípios brasileiros, é sugestivo que exista a possibilidade de um maior risco do acometimento da população pela difusão maciça do uso de fluoretos (CLARK et al. 1994 ²⁴), especialmente os dentifrícios fluoretados, que tiveram seu uso regulamentado e difundido no país somente na década de 90 (VILLENNA; BORGES; CURY, 1996 ¹¹⁴). Assim, embora o mecanismo de ação do flúor ainda não tenha sido completamente elucidado, existem evidências que demonstram que o seu efeito cariostático está relacionado à presença de flúor iônico ou ionizável na fase aquosa da superfície dos cristais de apatita (FEJERSKOV; THYLSTRUP; LASEN, 1981 ⁴⁷; RÖLLA, 1988 ⁸⁷), que inibiria o fenômeno de desmineralização e ativaria o da remineralização (ARENDS; CHRISTOFFERSEN, 1990 ⁴).

Desse modo, a saliva teria um papel importante nesse mecanismo de ação porque quando supersaturada em relação ao cálcio e ao fosfato, vai dirigir a força no sentido de levar os minerais de volta ao dente (TEN CATE, FEATHERSTONE, 1991 ¹⁰⁶; MORENO, KRESAK, ZARADNICK, 1977 ⁸⁰). À medida que a saliva flui na placa dentária, seus componentes-tampões (bicarbonato, fosfato e peptídeos) neutralizam os ácidos produzidos pelas bactérias e o pH retorna à normalidade, ao menos enquanto o

fluxo salivar é normal. Este fenômeno diminui e/ou paralisa a dissolução do mineral sub-superficial (BUZALAF, 2002 ¹⁷).

Da mesma maneira, o fluxo salivar é considerado um dos mais importantes parâmetros relacionados com a saúde bucal e a composição da saliva está diretamente relacionada com o fluxo salivar. Estudos sobre taxas de fluxo salivar em humanos têm sido conduzidos, principalmente, com adultos (ENGEL-BRILL, 1996 ³⁸; BERGDHL, 2000 ⁶), sendo os realizados com crianças mais limitados (BRETZ, et al., 2001 ⁸; SONESSON; ELIASSON; MATSSON, 2003 ⁹⁷).

Trabalhos de revisão de literatura como os de EDGAR; GEDDES, 1990 ³¹; EDGAR; HIGHAM; MANNING em 1994 ³², ITTHAGARUN; WEI em 1997 ⁵⁹ e EDGAR em 1998 ³⁰ dão ênfase à importância da estimulação do fluxo salivar em programas de prevenção da cárie dentária, considerando o uso da goma de mascar como um importante aliado para isto e também, um possível veículo para administração de alguns agentes como o flúor, a clorexidina ou o cálcio.

Além disso, trabalhos *in situ* como o de SJÖGREN et al, 2002 ⁹³ ou clínicos como os de JENKINS; EDGAR em 1989 ⁶¹; MACHIULSKIENE; NYVAD; BAELUM, em 2001 ⁷¹, SZÖKE, BANOCZY; PROSKIN também em 2001 ⁹⁹ e 2002 ¹⁰⁰ ou mesmo o

de ANDERSON, ORCHARDSON, em 2003 ², utilizaram gomas de mascar para a estimulação da saliva, e destacavam a importância das mesmas, devido ao aumento do fluxo salivar, o que levaria a um efeito benéfico na prevenção da cárie dentária.

Com finalidade de direcionar e facilitar a leitura, a revisão de literatura foi subdividida em três itens: *estudos sobre liberação de flúor por gomas de mascar; incorporação de flúor ao esmalte dentário e biodisponibilidade do flúor liberado pela goma de mascar*, os quais constituem a proposição desta tese.

2.1 Estudos sobre liberação de flúor por goma de mascar

A goma de mascar tem sido sugerida como veículo para administração tópica de flúor aos dentes, por ser um método alternativo aceitável, executado diariamente pelas próprias crianças, sem a necessidade de supervisão.

Entre os trabalhos da literatura encontrados foi possível observar que a maior parte dos que avaliam as gomas de mascar contendo flúor, as utilizam durante um período de aproximadamente 20 minutos; isto ocorre, porque, segundo EMSLIE et al. (1961) ³⁷, 80 a 90% do flúor presente na goma de mascar é liberado em um período de 10 a 15 minutos e ainda,

segundo BARABOLAK et al. (1991) ⁵ o tempo médio de mastigação de um chiclete tem sido considerado ser de 36 minutos. Sendo assim, a goma de mascar poderia tornar-se um veículo relativamente seguro para a administração tópica de flúor em crianças, desde que não seja permitido as mesmas mastigarem mais de 10 pedaços por dia.

BRUNN; GIVSKOV, em 1978 ¹², estudaram a liberação de flúor de gomas de mascar e a concentração deste flúor na saliva integral, medindo o flúor proveniente de uma goma de mascar em diferentes intervalos após o início do processo de mastigação. Observaram que os conteúdos residuais de flúor foram 78, 32, e 6% dos 0,25 mg iniciais na goma de mascar, após a mastigação por 2, 5 e 10 minutos, respectivamente. Quando a goma foi mascada por 10 minutos, o flúor na saliva aumentou de 0,05 para 11,7 e 15,3 ppm após 2 e 5 minutos, respectivamente; seguido por uma queda para 3,9 ppm após 10 minutos. Todavia, 60 minutos após o início da mastigação ainda foram registradas concentrações excedendo o nível de pré-ingestão. Os mesmos autores, em 1979 ¹¹, realizaram um estudo com objetivo de comparar as concentrações de flúor na saliva após mastigação de tabletes mastigáveis de flúor, tabletes simples ou goma de mascar contendo flúor administrados em doses comumente usadas nos

países escandinavos. Para isto mediram as concentrações de flúor em amostras de saliva coletadas de 16 voluntários. Cada preparação de flúor foi administrada em uma dose baixa (0,21-0,25 mg F), com mastigação de 10 minutos, ou em uma dose alta (0,42-0,50 mg F) com mastigação de 15 minutos. Toda a saliva foi coletada (0,5-1,0 mL) em diferentes intervalos de 2, 5, 10, 30 e 60 minutos após a mastigação. As amostras permaneceram estocadas a -18°C, até a leitura que foi realizada através de cromatografia a gás. Os dados foram analisados pelos testes Bartlett ($p < 0,001$), Friedmann e teste t. Os níveis de repouso intermediário de flúor na saliva variaram de 0,003 a 0,05 ppm, com picos abrangendo de 15-25 ppm flúor no grupo de dose baixa e 25-40 ppm no grupo de dose alta, sendo registrados 5 minutos após a ingestão. Após 30 minutos, as concentrações de flúor na saliva diminuíram a níveis abaixo de 1 ppm e aproximaram-se aos níveis de repouso, após 60 minutos da ingestão. A disponibilidade das concentrações de flúor na saliva foi similar com cada uma das preparações aplicadas em dose baixa. Quando usado em dose alta, a goma de mascar e os tabletes simples forneceram significativamente mais flúor na saliva do que tabletes mastigáveis. Os dados, segundo os autores, podem sugerir que as gomas de

mascar com flúor são adequadas como um veículo para administração de flúor, objetivando um efeito cariostático tópico.

Em 1985, EKSTRAND et al.³⁴ realizaram um estudo duplo cego com 40 voluntários moradores em áreas com 0,2 ppm de flúor. Este estudo foi dividido em duas partes (20 voluntários cada), a primeira com um período total de 27 dias (10+7+10) e a segunda com 34 dias (10+14+10). Uma goma de mascar sem açúcar, contendo 0,25 mg de NaF foi utilizada no experimento e outra goma idêntica à primeira, porém sem flúor foi utilizada como placebo. No primeiro experimento os voluntários foram aconselhados a mastigar 4 gomas por dia, durante 7 dias. O pH da placa de 3 dias foi determinado antes e depois de cada período experimental seguindo um bochecho de 30 segundos com 10 mL de solução de sacarose a 15%. A queda do pH foi significativamente menor após o uso da goma de mascar fluoretada ($p < 0,001$). Na segunda parte do estudo os voluntários participaram de um experimento parecido. Nele a atividade da sacarose na produção ácida da placa dentária foi determinada, *in vitro*, com a ajuda do método de titulação, utilizando o peso úmido da placa dentária e o número total de organismos cultivados, *Streptococcus mutans* e *lactobacilos*, expressado através do número de colônias por mg de placa. Nenhum efeito significativo

foi encontrado em qualquer destes parâmetros depois de usada a goma de mascar com flúor quando comparada à goma de mascar placebo. Assim, os resultados indicaram que níveis ligeiramente elevados de flúor na saliva durante o dia, alcançado por uso repetido de gomas de mascar fluoretadas durante 7 dias, são suficientes para influenciar na acidogenicidade da placa dentária *in vivo*.

Em 1987, a concentração de flúor em saliva integral e o efeito de variações na taxa de fluxo salivar foram estudados por OLIVEBY; EKSTRAND; LAGERLÖF ⁸¹ em 5 voluntários, com idade entre 22-36 anos, após o uso de uma goma de mascar (Fluomin[®]) contendo 0,25 mg de NaF. A concentração basal de flúor durante 2 dias consecutivos variou entre 0,0057 e 0,021 ppm. A liberação de flúor na saliva foi estudada, através da coleta de saliva total, nos tempos 0, 6, 12, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 240 minutos após a mastigação por 10 minutos de um pedaço da goma de mascar. A liberação de flúor mostrou três fases no declínio da curva e o efeito de múltipla dosagem da goma de mascar com flúor foi estudado por 7 dias. Uma goma de mascar com 0,25 mg de NaF foi mascarada a cada 2 horas por 10 minutos, sendo utilizada das 8:00 horas da manhã até as 22:00 horas, totalizando uma exposição diária de 2 mg de NaF. A saliva integral foi amostrada

freqüentemente e os sujeitos com taxa de fluxo salivar estimulada variando entre 0,9 e 2,5 mL/min apresentaram um nível intermediário de estabilidade de flúor na saliva variando de 0,0133 a 0,0304 ppm. Isto estava em contraste aos sujeitos com baixa taxa de fluxo salivar, variando entre 0,4 e 0,6 mL/min, onde a concentração de flúor variou de 0,0893 a 0,3648 ppm.

Em 1989, HATTAB et al.⁵⁵, com o objetivo de avaliar o efeito da goma de mascar contendo flúor (Fluogum®, contendo 0,113 mg F/tablete adoçado com xylitol/sorbitol) sobre uma lesão de cárie natural, observaram que a utilização de uma ou duas gomas de mascar durante 15 minutos foi capaz de elevar a concentração de flúor na saliva para um pico de 1,13 ppm, 5 minutos depois de mascar uma goma e para 2,73 ppm 10 minutos depois de mascar duas gomas. A área sob a curva, da concentração de flúor na saliva versus o tempo, obtida após a mastigação de uma ou duas gomas foi de 0,78 h. $\mu\text{g/mL}$ e 1,89 h. $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Os autores destacam a ocorrência de uma alta correlação positiva ($r=0,78$) entre o fluxo salivar e a eliminação do flúor.

Em 1993, SJÖGREN et al.⁹⁴ realizaram um estudo com o objetivo de investigar o efeito de limpeza da saliva e de sua estimulação através do uso de uma nova goma de mascar com flúor e 3 produtos fluoretados utilizados durante muitos anos para

a prevenção da cárie dentária na Escandinávia. Para este trabalho selecionaram 20 crianças (idade entre 10-12 anos), 20 adultos (24 – 58 anos) e 15 pacientes com xerostomia (44-65 anos). Foram testados 2 tabletes de flúor e duas gomas de mascar contendo flúor, todos com 0,25 mg de fluoreto de sódio. As gomas de mascar foram utilizadas por 15 minutos e os tabletes até sua dissolução na boca. As amostras de saliva total foram coletadas nos tempos 0, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30 e 45 minutos após o início da mastigação. Os resultados obtidos mostraram não haver diferença estatisticamente significativa entre os produtos testados, porém os pacientes com xerostomia apresentaram uma maior concentração de flúor na saliva. Com estes dados os autores concluíram que tanto os tabletes quanto as gomas de mascar possuem aproximadamente a mesma capacidade de limpeza e estimulação do fluxo salivar.

Em 1997 SJÖGREN et al.⁹⁵ realizaram um estudo sobre a concentração de flúor na saliva e a recuperação do pH da placa no lado da dentição de mastigação e não mastigação, durante e após mastigar um pedaço de goma de mascar contendo 0,25 mg F como NaF. Foram utilizados dez indivíduos, os quais foram impedidos de escovar os dentes por 3 dias. No quarto dia, eles enxaguaram a boca por 1 minuto com 10 mL de solução de sacarose a 10%.

Quando o pH da placa atingiu um valor crítico, eles começaram a mascar um chiclete durante 5, 10, 15, 20, 30 ou 45 minutos. As medições das concentrações de flúor na saliva e do pH da placa proximal foram realizadas em 2 locais contra-laterais por até 60 minutos através do método de micro-contato. Em cada indivíduo, os lados da mastigação e da não mastigação foram registrados. Concentrações de flúor duas ou três vezes mais altas na saliva foram encontradas no lado da mastigação em relação ao lado da não mastigação ($p < 0,05$ ou $p < 0,01$). A recuperação mais evidente de pH da placa após o enxágüe com sacarose foi, também, registrado para o lado da mastigação, mas a diferença entre os lados da mastigação e da não mastigação foi menos óbvia que a verificada para a concentração de flúor na saliva. Por isso, este estudo mostrou que as concentrações de flúor na saliva após a mastigação deste chiclete contendo flúor foram mais altas no lado da mastigação, como também a recuperação do pH da placa após o enxágüe com sacarose foi maior após o uso desta goma de mascar.

TEN CATE, 1999 ¹⁰⁴, sugeriu que o flúor, mesmo em baixas concentrações é necessário nos fluidos bucais e a incorporação do flúor da goma de mascar pode estar associada a um reservatório bucal, o qual serviria como um depósito de flúor, que seria

liberado gradualmente na saliva, durante a mastigação, mantendo potencialmente um certo grau de proteção contra a cárie dentária por um período. A presença de flúor, além de proteção frente à dissolução, promoveria uma aceleração no processo de remineralização, ou seja, na superfície dos cristais parcialmente dissolvidas no interior da lesão se formaria uma nova superfície mais mineralizada. O cristal parcialmente dissolvido atuaria como "nucleador" para a remineralização. O flúor agiria aumentando a velocidade deste processo de remineralização, exatamente por se adsorver a superfície e atrair íons cálcio. Esta nova camada formada vai, preferencialmente, captar flúor da solução que circunda os cristais e excluir o carbonato (TEN CATE; FEATERSTONE, 1991 ¹⁰⁶). Conseqüentemente, esta camada terá uma composição entre hidroxiapatita e fluorapatita, sendo comumente descrita como flúor-hidroxiapatita (FEATERSTONE et al., 1990 ⁴³). O flúor acelera este processo, agindo de modo a trazer íons cálcio e fosfato juntos, sendo preferencialmente incluso na reação química que acontece, originando um produto final com solubilidade mais baixa (FEATERSTONE, 1999 ⁴²).

LIN; LIN; LU, em 2001 ⁷⁰, realizaram um estudo com o propósito de medir os valores gerados do fluxo salivar estimulado por uma goma de mascar sem açúcar (com sorbitol), uma goma de

mascar com flúor e uma cera de parafina (controle). Para isto, seis voluntários saudáveis foram instruídos a mascar um tipo de goma 5 vezes ao dia durante 21 dias para cada grupo. Amostras de saliva estimulada foram coletadas para cada voluntário no 7.º, 14.º, 21.º dia, sempre às 3 horas da tarde. A saliva foi coletada em 1, 3, 5 e 8 minutos depois do início da mastigação da cera ou goma. Valores do fluxo salivar e do conteúdo de flúor liberado pelo chiclete na saliva foram medidos para cada grupo. A média total dos valores do fluxo salivar para a cera de parafina (controle), a goma de mascar sem açúcar e a goma de mascar com flúor foi de $1,7 \pm 0,6$; $2,0 \pm 0,6$ e $2,1 \pm 0,7$ mL/min, respectivamente. O valor do fluxo salivar para a goma de mascar com flúor foi significativamente maior que o da cera de parafina ($p=0,002$), entretanto não houve diferença significativa entre a cera de parafina (controle) e a goma de mascar sem açúcar ($p=0,104$) e a goma de mascar sem açúcar e a goma de mascar com flúor ($p=0,563$). A concentração de flúor durante os oito minutos de mastigação do chiclete ficou entre 1,8 e 4,2 ppm. Sendo assim, os autores concluíram que a mastigação de chicletes contendo flúor é capaz de liberar baixa concentração de flúor na saliva. A associação dos chicletes com flúor e da estimulação do fluxo

salivar pode ser considerada uma perspectiva de método para a prevenção da cárie dentária.

SJÖGREN et al., em 2002 ⁹³, avaliaram *in situ* o efeito de gomas de mascar sem açúcar contendo flúor e uréia, utilizando como controle um chiclete sem qualquer ingrediente ativo ou nenhuma goma. Quinze voluntários com idade média de 28 ± 7 anos e baixa atividade de cárie foram recrutados para este estudo duplo-cego e cruzado. Blocos de dentina e esmalte desmineralizado previamente foram embutidos em discos plásticos circulares e colados às superfícies linguais de caninos e primeiro pré-molares. O trabalho foi dividido em dois grandes grupos (F) para goma de mascar com flúor e (U) para goma de mascar com uréia. Cada grupo realizou três períodos experimentais, onde os voluntários mastigavam 6 gomas por dia durante 4 semanas. São eles: subgrupo G para as gomas Fluorette® (0,25 mg NaF) ou V6® (20 mg uréia); subgrupo PG para goma placebo e subgrupo NG para nenhuma goma. Os discos foram removidos e analisados através de micro-radiografias transversais. Os resultados revelaram que o uso freqüente de gomas de mascar sem açúcar é suficiente para impedir maior desmineralização nos espécimes previamente desmineralizados. Comparando goma de mascar com flúor, uréia ou placebo, os dados mostraram não haver diferença

entre os produtos, exceto por um efeito inibitório no lado da dentição onde a goma com flúor foi mastigada.

BRIGHENTI et al. ⁹, realizaram em 2001 um trabalho com objetivo de observar a cinética do F na saliva após a utilização da goma de mascar Happydent. Para isto, utilizaram quinze voluntários, com idades entre 7 e 9 anos. Após a coleta da saliva a medição do flúor foi realizada com eletrodo íon específico. Os dados foram analisados através de ANOVA a 2 critérios e teste de Tukey ($p < 0,05$) e apresentaram concentrações médias ($\mu\text{g/mL}$) $\pm$ Dp de F na saliva entre $0,166 \pm 0,086$ a $0,005 \pm 0,034$ e de $0,002 \pm 0,002$ a $0,005 \pm 0,003$ para o Happydent® e o Trident®, respectivamente. Os autores, analisando os altos teores de flúor, estatisticamente significantes, originados na saliva após o uso do Happydent concluíram que o uso da mesma pode ser um fator de risco a fluorose. Destacaram a importância de evitar-se o uso do produto por crianças na faixa etária de risco para fluorose dentária, enfatizando a necessidade de mais trabalhos clínicos a respeito do assunto.

Em 2003, SILVA et al. ⁹⁰ realizaram um trabalho para avaliar a ação de duas gomas de mascar com flúor (MaxFlúor® e Fluorette®) sobre os níveis salivares de *Streptococcus mutans* na redução do acúmulo de placa bacteriana, recuperação do pH da

placa e liberação de flúor na saliva. A amostra foi composta por 25 crianças de 6 a 7 anos, de ambos os sexos. As crianças foram divididas em dois grupos, a saber: Grupo I, formado por 15 crianças, para avaliação do acúmulo de placa e da alteração na microbiota cariogênica; Grupo II, formado por 10 crianças para análise da recuperação do pH da placa com o uso das gomas de mascar. Para as crianças do grupo II foi solicitada a suspensão da higiene bucal 48 horas antes do experimento. No início, para cada grupo, foi realizado um bochecho com sacarose; a placa foi coletada durante o uso das gomas de mascar (controle, sem uso de goma de mascar; goma de mascar base; goma de mascar com flúor 1 (Max Flúor® - 0,226 mg de F); goma de mascar com flúor 2 (Fluorette® - 0,25 mg de F)). As amostras de placa foram coletadas nos tempos 0, 5, 10, 15, 20 e 25 minutos de uso de cada goma de mascar, em vários dentes nas superfícies livres, formando um “pool” de placas que preencheu uma medida padrão correspondente a, aproximadamente, 0,8 mg para a leituras do pH. Os valores obtidos para as gomas de mascar fluoretadas foram comparados com os obtidos pela goma de mascar base, pela goma de mascar com sacarose e pelo controle, que foram os valores obtidos sem o uso de goma de mascar. Para análise da liberação de flúor foram coletadas amostras de saliva estimulada

nos intervalos de tempo de: 0-2,5; 2,5-5; 5-10 e 10-20 minutos. Nos resultados obtidos, somente a goma de mascar Fluorette® reduziu o acúmulo de placa, produziu uma redução de tempo significativa na recuperação do pH e manteve a liberação de flúor na cavidade bucal por todo o tempo experimental. A Max Flúor® liberou todo seu flúor nos 5 minutos iniciais de mastigação. Não houve diferença significativa para o número de colônias (UFC) de *Streptococcus mutans* com o uso das gomas de mascar estudadas.

2.2 Incorporação de flúor ao esmalte dentário

A retenção de flúor na boca após a aplicação de produtos fluoretados está associada à formação de CaF_2 , que é um reservatório de flúor controlado pelo pH, e o libera quando este cai para níveis abaixo de 5,5 (TEN CATE, 1997 ¹⁰⁵). Sendo assim, a formação de CaF_2 no esmalte e na placa bacteriana torna-se um importante mecanismo cariostático do flúor, pois o mantém na cavidade bucal por mais tempo.

Todavia, MARTENS; VERBEECK (1998) ⁷⁴, em seu artigo de revisão da literatura sobre fontes de flúor na cavidade bucal, discutiram os mecanismos físico-químicos de interação do flúor

com o esmalte durante o processo de desmineralização e remineralização, concluindo que o flúor incorporado ao esmalte durante sua formação tem efeito mínimo na prevenção da cárie dentária e que o íon flúor presente no fluido bucal e incorporado ao dente após a erupção do mesmo na cavidade bucal, tem maior importância durante o desafio cariogênico. Este fato, também, foi discutido através das revisões realizadas por LIMEBACK, 1999 ⁶⁹ e FEATHERSTONE, 1999 ⁴².

Atualmente, há na literatura um consenso de que um suprimento constante de baixos níveis de flúor na cavidade bucal, particularmente na interface placa/saliva/esmalte, é o meio mais efetivo na prevenção da cárie dentária (TEN CATE, 1997 ¹⁰⁵; FEATHERSTONE, 1999 ⁴²).

HATTAB et al. em 1989 ⁵⁵, anteriormente citado, procuraram também verificar o efeito remineralizador de uma goma de mascar contendo flúor. Para tanto, foram utilizadas placas acrílicas contendo blocos de esmalte, as quais foram usadas por três voluntários. Depois de três dias, mastigando um total de 15 gomas (Fluogum®, contendo 0,113 mg F/chiclete adocicada com xylitol/sorbitol), houve uma redução significativa tanto na profundidade da lesão quanto no tamanho do corpo da lesão ($p < 0,001$). Todavia, os autores concluíram ser necessários

mais trabalhos para documentar o poder cariostático dos chicletes contendo flúor.

Em 1991, CASLAVSKA et al.²³ estudaram as concentrações de flúor em biópsias de esmalte de incisivos centrais superiores 6 semanas e 18 meses depois do tratamento com flúor. Foram utilizadas 46 crianças com idade entre 11-13 anos, moradoras de uma comunidade com água fluoretada, para o estudo de curto prazo. Nele, biópsias foram obtidas antes e depois do tratamento com NH_4F ou NaF e mostraram que grandes quantias de flúor foram depositadas no esmalte tratado com NH_4F (concentração média de 84.723 ppm), indicando formação substancial de CaF_2 . O tratamento com NaF resultou em concentrações médias de 7.818 ppm de flúor. No estudo de 18 meses, 58 crianças com idade entre 9-12 anos moradoras de comunidades com deficiência na fluoretação da água, receberam aplicações tópicas semestrais de 0,62 M de NH_4F (pH 4,4) durante 3 minutos. Neste estudo biópsias a partir dos dentes tratados com placebo foram analisados com relação ao flúor total (média 1.733 ppm). Os valores médios para o flúor total foram de 1.669 ppm e 2.085 ppm nos dentes tratados com placebo e nos grupos tratados com NH_4F , respectivamente. O aumento de flúor no esmalte depois do tratamento com flúor esteve somente marginalmente significativo.

Com estes resultados os autores concluíram que quantidades muito substanciais de CaF_2 estão presentes no esmalte 6 semanas após o tratamento e pequenas quantidades podem persistir na superfície do esmalte tanto tempo quanto 18 meses.

LAMB et al., em 1993 ⁶⁴, realizaram um estudo *in situ* para avaliar a capacidade de remineralização de lesões de esmalte através do uso de gomas de mascar com flúor. Espécimes de esmalte humano, com lesões de sub-superfície foram montadas em aparelhos removíveis, os quais foram utilizados por 6 adultos. Os voluntários utilizaram dentifrício sem flúor três vezes por dia e mascaram cinco gomas de mascar com flúor (0,1 mg F) ou cinco gomas de mascar sem flúor por dia, ambas sem açúcar. Análises da microdureza superficial foram realizadas em (1) somente esmalte; (2) lesões; (3) após exposição intrabucal, e (4) depois do teste de resistência ácida. Espécimes separados receberam condicionamento e o flúor incorporado foi medido. Análises da imagem de microradiografias foram desempenhadas para todos os regimes e os valores de delta Z foram calculados e convertidos para porcentagem de mineralização. Valores obtidos após o uso de goma de mascar com flúor foram significativamente mais altos ($p < 0,05$) que os valores após a goma de mascar controle ou o teste

de resistência ácida. A incorporação do flúor foi de até 70 micrômetros de profundidade.

2.3 Biodisponibilidade do flúor liberado pela goma de mascar

RITSCHER, em 1984 ⁸⁶, afirmou que a biodisponibilidade é regulamentada na FDA, sendo reconhecida como medições de respostas farmacológicas e eficácia clínica. Entretanto, o autor destaca que a maior parte, ou praticamente todos os estudos de biodisponibilidade são baseados em níveis sanguíneos ou dados de excreção urinária. Quando explicitamente correlacionado, estes testes podem refletir a real eficácia clínica, mesmo esta sendo complexa (estados de doença, condição do nutricional) e os fatores que influenciam a absorção são numerosas (ingestão de comida, ritmo do circadiano, idade, etc.). Desta forma, um teste em um pequeno tamanho de amostra pode unicamente ser considerado como um teste controle biológico de qualidade sob condições especificadas. O problema de avaliação dos dados puros, por vários métodos fármaco-cinéticos é também discutido neste trabalho pelo autor.

É importante entender que a saliva é um biomarcador de exposição de meia vida curta, ou seja, pode refletir diferentes

períodos de exposição a um evento. Em outras palavras, indica uma exposição que ocorreu poucos minutos ou horas atrás, da mesma forma que se pode classificar também o plasma, o soro e a urina. Em uma revisão de literatura, HENDERSON, 1995 ⁵⁶, ressaltou o potencial dos marcadores biológicos para ajudar a determinar o grau em que exposições ambientais ou ocupacionais a agentes químicos exógenos resultariam em efeitos prejudiciais para a saúde. Esses marcadores biológicos de exposição têm sido extensivamente investigados, e modelos matemáticos da toxicidade dos agentes foram desenvolvidos para relatar exposições a doses internas. Em 1996, o mesmo autor, juntamente com WARD ¹¹⁶ destacariam, através de outra revisão de literatura o aumento na utilização de marcadores biológicos para avaliar riscos de doenças futuras. Os autores afirmaram que os bio-marcadores são pontos finais observáveis em um contínuo de eventos que vão desde a exposição a agentes tóxicos até a doenças resultantes dessa exposição. Todavia, alertaram que embora tenha havido um progresso significativo no desenvolvimento técnico de biomarcadores, a implementação de sua utilização em populações humanas progrediu muito mais lentamente.

Alguns biomarcadores estão relacionados a outros. É o caso já relatado, no trabalho realizado por WHITFORD; THOMAS;

ADAIR, 1999 ¹²¹, que investigaram a relação entre concentrações do flúor na saliva total, saliva do ducto da parótida, e plasma em 17 crianças com idade entre 5-10 anos. Duas amostras de saliva estimulada foram obtidas de cada criança. Antes que a segunda amostra fosse obtida, cada criança realizou vários bochechos com um total de 100 mL de água deionizada. Amostras de saliva da glândula parótida foram obtidas por uso de uma taça de Lashley. As concentrações de flúor foram determinadas através do eletrodo ion-específico depois de realizada a difusão com HMDS. A realização dos bochechos, com água deionizada, não reduziu significativamente a concentração de flúor na saliva total. As concentrações de flúor na saliva total não estiveram significativamente relacionadas com aquelas encontradas no plasma ou saliva do ducto da parótida, entretanto as concentrações de flúor na saliva do ducto da parótida foram significativamente relacionadas com as concentrações de flúor do plasma ($p < 0,0001$) por uma constante de proporcionalidade de 0,80. Sendo assim, os autores concluíram que as concentrações de flúor na saliva do ducto da parótida podem ser utilizadas para estimar concentrações de flúor no plasma de crianças com idade entre 5 e 10 anos.

Entretanto, não foi possível encontrar estudos em humanos sobre a biodisponibilidade de flúor a partir da goma de mascar fluoretada ou itens alimentícios específicos, com exceção do chá (SIMPSON; SHAW; SMITH, 2001⁹²), das proteínas de peixe (HATTAB, 1988⁵⁴; CAMARGO, 2003²⁰), do leite fluoretado (VILLA et al., 1989¹¹¹; WANG; BIAN; CÃO, 2001¹¹⁵) e do sal fluoretado (MACPHERSON; STEPHEN, 2001⁷²), todavia pode-se observar uma grande diferença entre o flúor total e o flúor realmente disponível, o que destaca a importância de tais medições, as quais seriam úteis na discussão da dosagem segura e adequada para definição da utilização do flúor nos planos de prevenção de cárie dentária.

Segundo WHITFORD, em 1996¹¹⁸, o flúor distribui-se rapidamente pelo organismo após a sua ingestão. Os níveis plasmáticos geralmente começam a apresentar sinais de aumento, 10 minutos após a ingestão, o pico máximo é atingido entre 20 a 60 minutos, e então, retornam para os níveis de pré-ingestão depois de 3 a 11 horas, dependendo da dose.

PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

O presente trabalho propõe-se a analisar, *in vivo*, a ação da goma de mascar, recentemente introduzida no mercado brasileiro, Happydent, utilizando-se para isto:

- À cinética do flúor, liberado por esta goma de mascar, na saliva total;
- À capacidade de incorporação ao esmalte dentário deste flúor, através de biopsias *in vivo*;
- À biodisponibilidade deste flúor, através da análise da saliva do ducto da glândula parótida.

MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

Previamente ao início deste estudo, o projeto de pesquisa foi submetido à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru – USP, que aprovou o seu desenvolvimento (Anexo 1).

4.1 Determinação da amostra

Participaram deste estudo cruzado e duplo-cego 10 indivíduos com idades entre 8 e 9 anos, residentes na cidade de Bauru, Estado de São Paulo, abastecida com água fluoretada (fluoretação em torno de 0,7 ppm). Como condição para participação do experimento, foi estabelecido o bom estado de saúde bucal e geral das crianças, bem como a não utilização de aparelhos ortodônticos ou de medicamentos que poderiam interferir no fluxo salivar.

Inicialmente realizou-se um encontro com os voluntários, juntamente com os pais e/ou responsáveis, onde os mesmos foram devidamente esclarecidos quanto aos objetivos e as etapas

da metodologia a ser empregada no estudo, assim como da necessidade de seguir corretamente o protocolo, deixando-se claro, que a qualquer momento poderiam desistir de participar do experimento e que os dados obtidos seriam confidenciais. Após estas explicações, os voluntários que decidiram participar, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (documento necessário para o Comitê de Ética – Anexo IV) e receberam instruções para escovar os dentes da maneira usual, com dentifrício não fluoretado fornecido pelas pesquisadoras.

4.2 Procedimento experimental 1.^a fase

4.2.1 Obtenção dos “baselines”

Após sete dias da reunião inicial, os pacientes receberam profilaxia com jato de bicarbonato de sódio Profident (Dabi-Atante) nos incisivos centrais superiores, sendo realizada a coleta de saliva e a biópsia utilizada como “baseline” do experimento. Para isto, o fluxo salivar foi estimulado mastigando-se um pedaço de borracha (garrotes esterilizados). Toda saliva formada durante 3 minutos foi coletada num recipiente de plástico previamente pesado, de tal forma que, pesando-se novamente o recipiente após

a coleta e dividindo-se este valor por 3 obteve-se o fluxo (mL/minuto, considerando-se a densidade igual a 1,0) e o volume correto da saliva (Fig. 1).

FIGURA 1 - Crianças sentadas coletando a saliva estimulada

A biópsia de esmalte foi realizada pela colocação de 5 μ L de HCl a 0,5 M, por 5 segundos sobre o esmalte demarcado por um orifício com 0,9 mm de diâmetro feito na fita adesiva – 3M (área de 2,54 mm² - Fig. 2).

FIGURA 2 - Fita mágica pintada para melhor visualização da área demarcada para a biópsia

FIGURA 3 - Destaque para a colocação do ácido, proteção dos tecidos com algodão

Após a proteção dos tecidos gengivais com rolos de algodão o ácido foi dispensado usando-se uma pipeta, formando uma hemi-esfera sobre a superfície do esmalte demarcada (Fig. 3). Decorridos os 5 segundos, o ácido foi removido por aspiração através da ponteira plástica acoplada à pipeta e foi colocado sobre uma placa de Petri plástica, contendo 50 μ L de TISAB II. Duas lavagens separadas no sítio da biópsia, cada uma delas usando 5,0 μ L de NaOH a 0,25 M foram então realizadas, por 5 segundos cada, para neutralizar e permitir a coleta de qualquer ácido remanescente. As lavagens com NaOH foram adicionadas à mesma placa (WHITFORD et al., 1995 ¹¹⁹).

4.2.2 Obtenção das amostras

Cinco pacientes utilizaram goma de mascar sem flúor Trident® - Adams (Lote 21/22), e os outros cinco pacientes utilizaram goma de mascar fluoretada Happydent® - Prefetti (Lote 2803A) - Fig. 4.

FIGURA 4 - Embalagens comerciais dos chicletes pesquisados, ambos com o sabor de hortelã

Em ambos os grupos a saliva estimulada foi coletada, nos intervalos de 3, 6, 9, 12 e 15 minutos após o Início da mastigação da goma de mascar correspondente, em recipientes plásticos previamente pesados. Durante esse período os voluntários permaneceram sentados e não ingeriram comida ou bebida alguma.

Entre 15 e 20 minutos após a implantação do regime, outra biópsia foi realizada em outra área distinta do mesmo incisivo, seguindo o protocolo anteriormente descrito. As duas biópsias foram realizadas na superfície vestibular, no terço médio, sendo a primeira na distal e a segunda na porção mesial do incisivo.

Após um intervalo de uma semana, utilizando dentifrício placebo (sem flúor), período de “wash-out”, os pacientes compareceram em outra seção idêntica à previamente descrita, com exceção de que, os chicletes utilizados foram respectivamente trocados em relação aos usados na primeira etapa. A biópsia foi realizada no incisivo homólogo ao analisado anteriormente.

4.3 Procedimento experimental 2.^a fase

Para esta parte do experimento 5 voluntários fizeram jejum por 12 horas (durante a noite) no dia anterior ao período

experimental. Todos os experimentos começaram às 9 horas e os voluntários mastigaram 3 gomas de mascar Happydent (± 1 mg F) durante 15 minutos. Não foi permitida a ingestão de nenhum alimento sólido ou líquido até às 11 horas, quando os voluntários receberam um lanche padronizado (Lanche feito com pão de forma, 4 rodelas de tomate, 2 folhas de alface e cenoura ralada e um copo de suco de laranja puro, sem açúcar). Durante o período experimental de 8 horas, somente estes alimentos foram permitidos.

4.3.1 Obtenção das amostras

4.3.1.1 Coleta de urina

A urina foi coletada durante as 24 horas antecedente à ingestão de F (dia controle) até 9 horas depois. Os voluntários foram instruídos para coletar sua urina somente em frascos plásticos rotulados que lhes foram fornecidos. A coleta de urina do dia controle começou às 9 horas sendo armazenada no frasco 1 que continha toda a urina coletada até as 21 horas. No frasco 2 foi armazenada toda a urina coletada das 21 horas do dia anterior à ingestão de flúor até às 9 horas do dia experimental, quando o flúor foi ingerido. O frasco 3 continha toda a urina coletada das 9

horas até as 18 horas do dia experimental. Todos os frascos (Fig. 5) contendo amostras de urina foram mantidos permanentemente fechados em um refrigerador até que eles fossem levados ao laboratório. O volume e o pH de cada amostra individual foi imediatamente determinado, e uma amostra (50 mL) de cada frasco foi congelada (-20°C) até a análise do flúor que foi realizada dentro de 48 horas.

FIGURA 5 - Frascos utilizados para coleta de urina dos voluntários

4.3.1.2 Coleta de saliva do ducto da glândula parótida

O orifício do ducto da glândula parótida foi localizado e a mucosa circundante limpa com uma gaze umedecida em água deionizada e, então, seca (Fig 6). Foram coletadas, no experimento, um total de 20 amostras de saliva com o uso de um

dispositivo de alumínio desenvolvido para este fim, denominado Taça de Lashley (Fig. 7).

FIGURA 6 - Secagem da saída do ducto da parótida com gaze estéril

FIGURA 7 - A: Visão externa do coletor;
B: Visão interna do coletor

Três gotas de suco de limão foram pingadas sobre a língua dos voluntários para estimular o fluxo salivar. Cada amostra foi coletada durante três minutos, descartando-se as primeiras 5 gotas para evitar que houvesse contaminação da amostra com algum possível remanescente de flúor na mucosa bucal. As 20 amostras foram coletadas antes do início do experimento (“baseline”), a cada 3 minutos durante os 20 minutos iniciais, a cada 20 minutos nas primeiras duas horas, a cada 40 minutos até 4 horas de experimento e, por fim, em intervalos de 1 hora até completar-se 8 horas do início do experimento. As amostras de saliva foram armazenadas a uma temperatura de -20°C até a análise do flúor (Figs. 8, 9, 10, 11 e 12).

FIGURA 8 - Taça de Lashley montada com cânula e pêra, pronto para uso

FIGURA 9 - Detalhe do coletor de saliva posicionado na saída do ducto da parótida

FIGURA 10 - Visualização de todo o conjunto no ato da coleta

FIGURA 11 - Detalhe da gota de saliva sendo coletada no "eppendorf"

FIGURA 12 - "Eppendorfs" com saliva identificados

4.4 Análise das amostras

4.4.1 Análise de Flúor e Fósforo das biópsias

A análise do flúor presente nas biópsias de esmalte foi realizada imediatamente após cada coleta, usando-se o eletrodo F^- sensível (Orion 9409) e um microeletrodo calomelano de referência, acoplado ao aparelho analisador de pH/ F^- (Procyon, SA 720). Para tanto, a solução de biópsia, juntamente com 50 μL de TISAB II (Total Ionic Strength Adjustment Buffer) tiveram seu volume completado para 65 μL com água deionizada, previamente à análise (Fig. 13).

FIGURA 13 - Leitura imediata do flúor presente na biópsia

Os padrões de F^- foram preparados em triplicata. Para o cálculo da massa de esmalte removida pela biópsia, foi analisada a concentração de P presente, através do método colorimétrico de FISKE; SUBARROW ⁴⁷ (1925). O valor encontrado na análise foi convertido em área, considerando-se que aproximadamente 17,4% do peso do esmalte é de P, e que a densidade do esmalte é de 2,95 g/cm³. Os padrões de P foram preparados em duplicata

4.4.2 Determinação da concentração de flúor na saliva – 1ª fase

Duas metodologias foram utilizadas para a determinação da concentração de flúor, o método direto (para as amostras do Happydent®) e a técnica de difusão facilitada por HMDS – Taves¹⁰², utilizada para determinar a quantidade de flúor nas salivas do “baseline” e do chiclete Trident®, por apresentarem baixa concentração de flúor ao serem submetidas ao método direto.

4.4.2.1 Análise da concentração de flúor pelo método direto

O flúor ionizável presente nos padrões e nas amostras foi determinado por meio de eletrodo específico para íon F (Orion 96-09, Research Inc.), acoplado a aparelho analisador de

pH/fluoretos (Procyon, modelo SA 720). Para o caso da goma de mascar (Happydent®) contendo MFP (flúor ionizável), foi realizada uma hidrólise ácida prévia onde 0,25 mL de cada amostra de saliva foram tratadas com 0,25 mL de ácido clorídrico 2M por 1 hora a 45°C. Depois foi feita a neutralização com 0,5 mL de hidróxido de sódio 1,0 M e tamponamento com 0,1 mL de TISAB III.

A concentração de flúor nas amostras foi calculada a partir da regressão linear das curvas de calibração, obtidas por padrões com concentrações de flúor variando de 0,05 a 6,4 ppm F, preparados em triplicata e difundidos da mesma maneira.

4.4.2.2 Análise da concentração de flúor após difusão facilitada por HMDS-Taves¹⁰² (1968)

Preparação das soluções

A quantidade de flúor presente nas amostras do “baseline” e do chiclete Trident® foi analisada depois de difusão facilitada por HMDS, usando-se o eletrodo específico para íon F (Orion 96-09, Research Inc.), acoplado a aparelho analisador de pH/fluoretos (Procyon, modelo SA 720). Para tanto, 3,0 mL de cada amostra de

saliva foram colocadas em placas de Petri plásticas (Falcon, n.º 1007) (Fig. 14). No centro desta placa foi fixada com vaselina uma tampa de polietileno (Falcon n.º 2030), na qual foi colocada 0,1 mL de NaOH 1,65 N (Fig. 15). A placa foi fechada e sua tampa vedada com vaselina sólida. Por um orifício, feito previamente na tampa com ferro de solda, foi colocado 1,0 mL de HMDS em HCL 6M, sendo o orifício imediatamente vedado com vaselina (Fig. 16). As placas foram colocadas em uma mesa agitadora orbital plana (Nova Técnica, modelo NT 145) em velocidade 4-5, durante 12 horas (Fig. 17). Em seguida, as tampas de polietileno foram removidas, identificadas (Fig. 18) e colocadas em estufa a 60° C por 3 horas (Fig. 19). A tampa com os cristais de NaF (Fig. 20) foi, então, encaixada no tubo de ensaio de poliestireno (Falcon, n.º 2017) contendo 0,4 mL de ácido acético 0,66 M, (Fig. 21) que foi invertido e agitado vigorosamente no agitador de tubos (Fig. 22 e 23), para dissolver os cristais de NaF (Fig. 24), e em seguida foram realizadas as leituras (Fig. 25). Os padrões de flúor foram preparados em triplicata e difundidos da mesma maneira.

FIGURA 14 - Material utilizado para técnica

FIGURA 15 - Colocação do NaOH na tampa central

FIGURA 16 - Destaque da placa vedada com vaselina após colocação do HMDS

FIGURA 17 - Mesa agitadora orbital plana

FIGURA 18 - Remoção da tampa central após 12h de agitação

FIGURA 19 - Estufa à 60°C

FIGURA 20 - Detalhe dos cristais de NaF formados

FIGURA 21 - Colocação de ácido acético nos tubos de ensaio

FIGURA 22 - Detalhe do tubo de ensaio

FIGURA 23 - Detalhe do agitador de tubos

FIGURA 24 - Coleta dos NaF após diluição com ácido

FIGURA 25 - Eletrodo Orion 96-09, acoplado a aparelho analisador de pH/fluoretos

4.4.3 Determinação da concentração de flúor – 2.^a fase

4.4.3.1 Preparo da dieta para análise da concentração de flúor no lanche

A fim de se estimar a ingestão de flúor a partir da dieta, foi utilizado o método da dieta duplicada. Este procedimento foi feito para todo o lanche e suco ingeridos durante o experimento, pois o objetivo foi quantificar a concentração de flúor fornecido a partir da dieta. Uma porção de alimento igual à fornecida aos voluntários, durante o lanche padrão, foi reservada. As amostras foram previamente homogeneizadas em um liquidificador com um volume conhecido de água deionizada, e o volume total foi posteriormente medido em um “becker” graduado. As amostras foram então armazenadas, em recipientes plásticos adequadamente rotulados, a -20°C até a análise de flúor após difusão facilitada por HMDS-Taves, modificada por Whitford¹¹⁸. Como esta técnica foi também utilizada para a análise da saliva do ducto da glândula parótida, estas amostras foram analisadas no mesmo momento que as amostras de saliva.

4.4.3.2 Análise da concentração de flúor na saliva do ducto após difusão facilitada por HMDS-Taves¹⁰², modificada por Whitford¹¹⁸

As concentrações de flúor na saliva do ducto foram analisadas em duplicata após terem passado a noite em difusão facilitada em HMDS¹¹⁸, utilizando-se o eletrodo íon-específico (Orion Research, Cambridge, Mass., USA, modelo 9409) e um mini-eletrodo de referência calomelano (Accumet, #13-620-79), ambos acoplados ao potenciômetro (Orion Research, modelo EA 940).

Preparação das soluções

As amostras foram preparadas previamente com HMDS- H_2SO_4 aquecido em razão de se remover CO_2 , antes da difusão ser realizada. Para a difusão, água deionizada foi colocada no fundo de uma placa plástica de difusão (Falcon, 1007) junto com as amostras e foi passada vaselina na periferia interna da tampa (Fig. 26). Na mesma tampa foram colocadas 3 gotas somando 50 μL de NaOH 0,05 M sobre a parte interna (Fig. 27) e selada para o fundo, tomando o cuidado de evitar bolhas de ar na vaselina. 2

mL de H_2SO_4 3,0 M saturado com HMDS foram adicionados ao fundo através de um pequeno orifício previamente feito por queima, na porção de cima da placa de difusão (Fig. 28). Após isto, o orifício foi imediatamente selado com vaselina. Os padrões de flúor foram preparados em triplicata e difundidos da mesma maneira que as amostras. Além disso, padrões de flúor não difundidos foram preparados com as mesmas soluções (NaOH 0,05 M, ácido acético 0,20 M, mais NaF) que foram usados para preparar os padrões difundidos e as amostras. Os padrões pré-difundidos foram feitos para se ter exatamente a mesma concentração de flúor que nos padrões difundidos (Fig. 29). Durante o processo de difusão, o qual foi conduzido durante a noite, em temperatura ambiente, as soluções dentro das placas (Falcon, n.º 1007) ficaram sobre uma mesa agitadora (Fig. 30). No dia seguinte, as placas foram abertas, a tampa foi invertida e as gotas foram tamponadas com 25 μL de ácido acético 0,2 M. O volume final foi ajustado para 75 μL pela adição de água deionizada com o auxílio de uma pipeta. A análise do flúor com o eletrodo íon específico ORION 9409 e um eletrodo de referência calomelano ACCUMET (Fig. 31).

FIGURA 26 - Placa de petri com vaselina

FIGURA 27 - Confeção das 3 gotas de NaOH

FIGURA 28 - Inserção do HMDS pelo orifício

FIGURA 29 - Padrões Pré-difundidos e difundidos prontos para agitação

FIGURA 30 - Mesa agitadora (velocidade 3-4)

FIGURA 31 - Eletrodo Orion 9409 e mini-eletrodo de referência calomelano

4.4.3.3 Análise da concentração de flúor na urina

A análise do flúor nas amostras de urina foi realizada, utilizando-se o eletrodo íon-específico (Orion Research, Cambridge, MA, USA, modelo 9409), depois da amostra ser tamponada com igual volume de TIBAB II. Os padrões (contendo 0.05, 0.10, 0.20, 0.40, 0.80 e 1.6 ppm F) foram preparados através da diluição em série de uma solução de estoque de 100 ppm F (Orion). Os potenciais de milivoltagem foram convertidos em ppm F, utilizando para isso uma curva padrão com coeficiente de relação de $r \geq 0.99$.

4.4.4 Análise da concentração de flúor nas gomas de mascar

Preparo das amostras

De início, para retirar-se a goma do chiclete, este foi colocado em um “erlenmeyer” juntamente com 50 mL de água deionizada e encaixado, com auxílio de um peso de ferro, dentro de um “becker” com 200 mL de água, para obtenção de um banho-maria (Fig. 32). Todo este conjunto foi levado a um agitador magnético e mantido durante 5 minutos em ebulição (Figs. 33 e

34). Após este período, o “erlenmeyer” foi removido e deixado esfriar até a temperatura ambiente, para então, completar-se o volume com água deionizada através do balão de 100 mL (Fig. 35). A solução produzida foi armazenada a -20°C em frascos plásticos previamente identificados (Fig. 36).

FIGURA 32 - Conjunto montado

FIGURA 33 - Conjunto no agitador magnético

FIGURA 34 - Detalhe do chiclete diluído em banho-maria

FIGURA 35 - Material utilizado para regulação do volume

FIGURA 36 - Frasco identificado para armazenamento

As concentrações de flúor das gomas de mascar foram analisadas em duplicata depois de terem passado a noite em difusão facilitada em HMDS-Taves¹⁰², modificada por WHITFORD¹¹⁸ conforme descrita anteriormente.

4.4.5 Validação das análises

Para a validação das análises, as soluções-padrão empregadas na realização das curvas de calibração foram preparadas por diluição seriada de um estoque-padrão contendo 100 ppm F⁻ (Orion) e difundidas em triplicata, em concomitância com as amostras dos materiais a serem analisados.

As leituras obtidas em mV foram convertidas para µg de F⁻, através do Programa Excel (Microsoft). A média das leituras obtidas a partir dos padrões foi inserida na planilha, e então foi calculada a porcentagem de variação entre a quantidade de F⁻ medida e a esperada pelos padrões. Somente curvas de calibração com porcentagem de variação de até 10% para todos os padrões foram aceitas.

Todas as amostras foram mantidas em refrigeradores com temperatura controlada até o momento de sua análise.

4.5 Análise estatística

Para empregar os testes estatísticos mais adequados aos dados obtidos, foram confirmadas as pressuposições de homogeneidade das variáveis, normalidade e independência dos grupos. Desta forma: as variáveis, volume salivar e [F] na saliva total foram analisados estatisticamente através do teste de análise de variância a 2 critérios (2-way Anova) e as variáveis [F] urina e [F] saliva do ducto, através do teste de análise de variância a 1 critério (ANOVA). O teste de comparação de médias de Tukey ($p < 0,05$) testou cada fator (tempo e tipo de goma) individualmente dentro de cada variável.

O teste t-pareado foi selecionado para analisar estatisticamente a variável [F] incorporado ao esmalte depois do uso de cada goma de mascar.

O nível de significância adotado foi de 5% para todos os testes utilizados.

*

RESULTADOS

5 RESULTADOS

Os resultados obtidos foram apresentados separadamente de acordo com a proposição da pesquisa, com intuito de facilitar a discussão dos mesmos.

5.1 Liberação de flúor na saliva

A Tabela 1 mostra o volume de saliva produzido por voluntário, durante os 15 minutos experimentais, bem como a média e erro padrão obtidos através da mastigação do chiclete Happydent® ou Trident®.

TABELA 1 - Volume da saliva por voluntário (mL); média total e erro padrão, obtidos por cada goma avaliada

Voluntário	Happydent®	Trident®
1	8,12	6,55
2	15,85	14,70
3	34,43	32,28
4	17,63	16,04
5	20,38	15,75
6	16,61	10,74
7	21,13	23,91
8	20,06	23,77
9	39,25	35,55
10	21,50	19,89
X Total	21,50	19,92
Erro padrão	2,86	2,89

O teste estatístico foi primeiramente realizado de acordo com a Tabela 2, onde se pode observar que não houve diferença estatisticamente significativa ao nível de 5% entre o volume da saliva produzido com cada goma de mascar ($p=0,285$), entretanto, os resultados demonstraram existir diferença estatisticamente significativa em relação ao tempo.

TABELA 2 - Parâmetros para o teste de Análise de variância a 2 critérios utilizando-se os volumes de saliva obtidos para cada goma de mascar

FONTE DE VARIAÇÃO	gl EFEITO	QM EFEITO	gl ERRO	QM ERRO	F	p
Chiclete	1	1,56478	9	1,193328	1,31128	0,285263
Tempo	5*	86,29156*	45*	1,920496*	44,93192*	0,000000*
Interação	5	1,77264	45	1,302592	1,36086	0,269350

* Significante a 5%

Para responder quais médias podem ser consideradas diferentes entre si optou-se pela realização do teste de Tukey para comparações múltiplas (Tabela 3).

TABELA 3 - Teste Tukey utilizando-se a média dos valores para comparações múltiplas entre os intervalos de tempo avaliados (min)

Tempo	Média (X)
12-15	2,527331
9-12	2,692373
6-9	2,983456
Baseline	3,311455
3-6	4,227844
0-3	8,442550

Tanto a Tabela 4 quanto a Figura 37 mostram a média ($\bar{X}$) e erro padrão (ep) da quantidade total de flúor liberado (mg F^-) nos diferentes tempos do experimento.

TABELA 4 - Média ($\bar{X}$) e erro padrão (dp) da quantidade total de flúor liberado (mg F^-) nos diferentes tempos do experimento

Chiclete		Baseline	0-3	3-6	6-9	9-15	12-15
Happydent®	X	0,0002	0,1295	0,0348	0,0132	0,0109	0,0094
	dp	0,0004	0,0290	0,0125	0,0060	0,0040	0,0030
Trident®	X	0,0002	0,0008	0,0003	0,0002	0,0002	0,0002
	dp	0,0001	0,0005	0,0002	0,0001	0,0001	0,0002

FIGURA 37 - Gráfico da quantidade total de flúor liberado (mg F^-) e erro padrão nos diferentes tempos do experimento em minutos

A análise estatística (Anova 2-critérios) revelou que a concentração de flúor presente nas amostras de saliva após o uso do Happydent®, apesar de diminuir com o tempo, foi significativamente maior que aquela após o uso do Trident® em todos os tempos experimentais (Tabela 5).

TABELA 5 - Parâmetros para o teste de Análise de variância a 2 critérios utilizando-se quantidade total de flúor liberado (mg F⁻) obtidos para cada goma de mascar

FONTE DE VARIAÇÃO	gl EFEITO	QM EFEITO	gl ERRO	QM ERRO	F	p
Chiclete	1*	0,034249*	9*	0,000109*	315,4586*	0,00000*
Tempo	5*	0,014167*	45*	0,000103*	137,5469*	0,00000*
Interação	5*	0,013913*	45*	0,000101*	137,4563*	0,00000*

* Significante a 5%

Demonstrou também existir, além de diferença estatisticamente significativa ao nível de 5% entre os tempos, uma interação significativa entre os grupos. Desse modo, para a realização do teste de Tukey (Tabelas 6 e 7) os chicletes devem ser separados.

TABELA 6 - Teste Tukey utilizando-se a média dos valores para comparações múltiplas entre os intervalos de tempo avaliados na liberação de flúor do Happydent®

Tempo	Média (X)	
Baseline	0,000227	
12-15	0,009434	
9-12	0,010932	
6-9	0,013201	
3-6	0,034792	
0-3	0,129461	

TABELA 7 - Teste Tukey utilizando-se a média dos valores para comparações múltiplas entre os intervalos de tempo avaliados na liberação de flúor do Trident®

Tempo	Média (X)	
12-15	0,000198	
9-12	0,000210	
6-9	0,000230	
Baseline	0,000235	
3-6	0,000333	
0-3	0,000841	

A Tabela 8 apresenta a quantidade total de flúor por voluntário, em mg F⁻, para as duas gomas de mascar. Separando-se os valores de flúor liberados na mastigação e os retidos na goma após o experimento.

TABELA 8 - Quantidade total de flúor nas gomas de mascar (mg F⁻) por voluntário

Voluntário		Flúor Trident®		Flúor Happydent®		
N.º	Liberado	Retido na goma	Total	Liberado	Retido na goma	Total
1	0,0006	0,0030	0,0036	0,1126	0,0027	0,1153
2	0,0016	0,0035	0,0051	0,1907	0,0035	0,1942
3	0,0024	0,0031	0,0054	0,1727	0,0025	0,1751
4	0,0013	0,0021	0,0034	0,1652	0,0048	0,1700
5	0,0011	0,0014	0,0025	0,2088	0,0032	0,2120
6	0,0009	0,0027	0,0036	0,1752	0,0018	0,1769
7	0,0032	0,0033	0,0065	0,2273	0,0024	0,2297
8	0,0020	0,0025	0,0044	0,2251	0,0046	0,2296
9	0,0030	0,0014	0,0044	0,1999	0,0034	0,2033
10	0,0011	0,0032	0,0043	0,1914	0,0019	0,1933
X total	0,0017	0,0026	0,0043	0,1869	0,0031	0,1900
Erro padrão	0,0003	0,0002	0,0004	0,0106	0,0003	0,0107

A Tabela 9 representa a liberação média de flúor, em mg F⁻, para uma unidade de cada goma de mascar avaliada e seu significado (em porcentagem) com relação à dose máxima diária recomendada (BURT, 1992)¹³ para o risco de fluorose em cada idade, destacando-se as idades entre 3 e 7 anos quando a criança consome chiclete e apresenta risco de desenvolver fluorose dentária.

TABELA 9 - Porcentagem da ingestão máxima diária correspondente a cada chiclete em relação à idade/peso médio da criança

Idade	Peso médio Kg	Ingestão Máx (mg F⁻/dia)	Happydent %	Trident %
1	10	0,70	26,70	0,25
2	12	0,84	22,25	0,20
3	15	1,05	17,80	0,16
4	18	1,26	14,83	0,14
5	20	1,40	13,35	0,12
6	22	1,54	12,14	0,11
7	24	1,68	11,12	0,10
8	28	1,96	9,54	0,09
9	30	2,10	8,90	0,08
10	33	2,31	8,09	0,07
11	37	2,59	7,22	0,07
12	41	2,87	6,51	0,06
13	45	3,15	5,93	0,05

Os dados destacados em vermelho indicam a idade de utilização da goma de mascar com risco a fluorose.

5.2 Incorporação do flúor no esmalte dentário

A Tabela 10 expõe os valores e a diferença, para cada indivíduo, da concentração de flúor (ppm) nas biopsias feitas antes e depois do uso da goma de mascar controle (Trident®), bem como a média e desvio-padrão.

TABELA 10 - Valores em ppm F⁻ obtidos nas biopsias feitas antes e depois do uso do Trident®

Voluntário	1.^a biopsia (Baseline)	2.^a biópsia (após mastigação)	Diferença
1	6517	4395	-2122
2	7035	5073	-1962
3	5369	6912	1544
4	3427	2915	-512
5	8333	8217	-116
6	8276	8352	76
7	8263	8255	-8
8	3388	2496	-892
9	8286	8039	-246
10	2095	2790	694
X	6099	5744	-354
Erro padrão	755	785	351

A Tabela 11 mostra os valores e a diferença, para cada indivíduo, da concentração de flúor (ppm F⁻) nas biopsias feitas antes e depois do uso da goma de mascar experimental (Happydent®).

TABELA 11 - Valores em ppm F⁻ obtidos nas biopsias de esmalte feitas antes e depois do uso do Happydent®

Voluntário	1.^a biopsia (Baseline)	2.^a biópsia (após mastigação)	Diferença
1	5320	6370	1050
2	5889	9875	3986
3	2508	7614	5105
4	5659	5662	3
5	11518	13570	2052
6	8276	8352	76
7	3759	3937	178
8	8203	8405	203
9	2905	3787	882
10	2796	4007	1211
X	5683	7158	1475
Erro padrão	926	979	556

Foi realizado o teste t, onde pode-se observar a diferença estatisticamente significativa ao nível de 5% entre as gomas de mascar (Tabela 12).

TABELA 12 - Parâmetros do teste t utilizados para avaliar o flúor (mg F^-) incorporado ao esmalte obtidos através das duas gomas testadas

FONTE DE VARIAÇÃO	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	DIFERENÇA	t	df	p
Trident	-354*	1110*	1829*	3,04783*	9*	0,013841*
Happydent	1475*	1759*				

* Significante a 5%

Todavia, quando as gomas de mascar foram avaliadas individualmente, os resultados obtidos antes e após a biopsia do chiclete Trident® não demonstraram diferença estatisticamente significativa (Tabela 13), ao contrário da goma de mascar Happydent® que apresentou diferença estatisticamente significativa quando foi avaliada individualmente (Tabela 14).

TABELA 13 - Parâmetros do teste t utilizados para avaliar o flúor (mg F⁻) incorporado ao esmalte obtidos através da goma de mascar Trident®

FONTE DE VARIAÇÃO	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	DIFERENÇA	t	df	p
ANTES	6099	2387	-354	-1,00937	9	0,33916
DEPOIS	5744	2481				

* Significante a 5%

TABELA 14 - Parâmetros do teste t utilizados para avaliar o flúor (mg F⁻) incorporado ao esmalte obtidos através da goma de mascar Happydent®

FONTE DE VARIAÇÃO	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	DIFERENÇA	t	df	p
ANTES	5683*	2927*	1475*	2,65112*	9*	0,024625*
DEPOIS	7158*	3095*				

* Significante a 5%

A Figura 38 elucida a diferença de comportamento ocorrido com cada indivíduo na avaliação de incorporação de flúor pelo esmalte dentário.

FIGURA 38 - Gráfico mostrando a diferença, para cada indivíduo, da concentração de flúor no esmalte (ppm F⁻) nos diferentes chicletes utilizado

5.3 Biodisponibilidade do flúor

5.3.1 Saliva do ducto da glândula parótida

Em relação ao flúor encontrado na saliva do ducto, o teste estatístico (ANOVA 1- critério) foi realizado de acordo com a Tabela 15, onde se observa a diferença estatisticamente significativa ao nível de 5% entre os tempos experimentais.

TABELA 15 - Resultados do teste ANOVA a 1 critério de medidas repetidas para os valores de ppm F⁻ obtidos pela saliva do ducto nos diversos tempos avaliados após o uso do Happydent®

FONTE DE VARIACÃO	gl	QM	gl	QM	F	p-level
EFEITO	EFEITO	ERRO	ERRO			
TEMPO	18*	0,000841*	72*	0,000062*	13,54726*	0,00000*

* **Significante a 5%**

Desse modo, para responder quais médias podem ser consideradas diferentes entre si optou-se pela realização do teste de Tukey para comparações múltiplas (Tabela 16).

TABELA 16 - Teste Tukey utilizando-se a média dos valores de ppm F⁻ obtidos pela saliva do ducto nos diversos tempos avaliados para o chiclete Happydent®

TEMPO	MÉDIA	DP					
480	0,0113	0,0013					
420	0,0115	0,0010					
360	0,0116	0,0010					
300	0,0121	0,0017					
240	0,0130	0,0028					
200	0,0134	0,0010					
160	0,0140	0,0015					
120	0,0158	0,0010					
100	0,0187	0,0058					
80	0,0210	0,0061					
60	0,0221	0,0075					
40	0,0295	0,0145					
3	0,0323	0,0163					
6	0,0385	0,0106					
9	0,0392	0,0143					
12	0,0422	0,0159					
21	0,0422	0,0105					
15	0,0432	0,0195					
18	0,0445	0,0182					

A Figura 39 ilustra a semelhança no comportamento ocorrido com cada indivíduo nos vários períodos de avaliação. Destaca-se a ocorrência de maior valor para os tempos entre 15 e 21 minutos, como também uma união a partir de 120 minutos.

FIGURA 39 - Gráfico ilustrando o comportamento da concentração de flúor presente na saliva do ducto da glândula parótida, para cada indivíduo após o uso do Happydent®

5.3.2 Urina

As Tabelas 17 e 18 divulgam os parâmetros avaliados em relação à urina coletada por voluntário, durante as 33 horas experimentais (24 horas antes e 9 depois).

TABELA 17 - Distribuição dos valores totais do volume de urina coletada e pH médio durante todo o experimento de acordo com cada voluntários

Voluntário	Sexo	Volume Total de Urina (mL)	pH Urinário
1	M	1065	5,23
2	M	1175	5,26
3	F	1320	5,46
4	M	1460	5,36
5	F	1140	5,40

TABELA 18 - Valores da concentração de flúor excretada através da urina (mg F⁻), considerando valores totais de 24 horas para antes e 9 horas para depois.

Período experimental	mgF	1	2	3	4	5
Antes	total	1,536	1,317	1,488	2,125	1,478
	hora	0,064	0,055	0,062	0,089	0,062
depois	total	0,468	0,416	0,599	0,459	0,478
	hora	0,052	0,046	0,067	0,051	0,053

A Tabela 19 mostra não haver diferença estatisticamente significativa ao nível de 5% entre a concentração de flúor (mg F⁻) presente na urina coletada antes e após o período experimental.

TABELA 19 - Resultados do teste t pareado para comparação da concentração de flúor ($\text{mg F}^-/\text{hora}$) encontrado na urina, antes e depois do experimento

FONTE DE VARIÇÃO	MÉDIA (X)	dp X	N	DIFERENÇA (≠)	dp ≠	t	df	p
ANTES	0,066198	0,012954	5	0,012418	0,015423	1,800377	4	0,146174
DEPOIS	0,053781	0,007640						

* Significante a 5%

*

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Neste trabalho, foi proposta a investigação de diferentes metodologias para a análise do flúor liberado por uma goma de mascar. Sendo assim, a discussão será apresentada em tópicos de acordo com cada metodologia utilizada. Ao final uma abordagem geral será realizada.

6.1 Liberação do flúor na saliva

A cárie dentária é causada por ácidos produzidos por bactérias na placa que, lenta, mas progressivamente, desmineralizam o esmalte. Desde a década de 40, o flúor revelou-se um grande aliado à prevenção da cárie dentária (BURT, 1995)¹⁶ e sua capacidade em retardar ou prevenir o desenvolvimento da mesma envolve mecanismos que dependem largamente da concentração de flúor na saliva e, especialmente, na placa dentária. Sabe-se hoje que o uso freqüente e repetido de baixa concentração de flúor, promovendo níveis baixos e constantes na

saliva, é o meio mais eficiente no combate à cárie dentária (LAMB et al., 1993 ⁶⁴; OLIVERBY, EKSTRAND, LAGERLÖF, 1987 ⁸¹; SJÖGREN et al., 1997 ⁹⁵; TEN CATE, 1997 ¹⁰⁵; FEATHERSTONE, 1999; ⁴²).

Com o objetivo de otimizar o principal modo de ação do flúor, ou seja, o modo tópico (LIMEBACK, 1999 ⁶⁹; BRAMBILLA, 2001 ⁷; TOUMBA, 2001 ¹⁰⁸; ZIMMER, 2001 ¹²²), tem-se concentrado esforços na busca de dispositivos alternativos para se atingir níveis baixos e constantes deste íon na cavidade bucal. A utilização de gomas de mascar para administração tópica de flúor é um método de prevenção de cárie dentária que tem recebido pouca atenção pela literatura, todavia, nos últimos 20 anos, países como USA, Finlândia, Holanda e Suécia persistem na elucidação sobre o caráter promissor das gomas de mascar. (EDGAR, 1998 ²⁹; EKSTRAND et al., 1985 ³⁴; JENKINS, EDGAR, 1989 ⁶¹; SZOKE, PROSKIN, BANOCZY, 2001 ⁹⁹; ANDERSON, ORCHARDSON, 2003 ²).

Ignorando-se os dados existentes na literatura brasileira que atribuem 40% da ingestão total de flúor à água de abastecimento fluoretada e 60% a diversas outras fontes (CORREIA SAMPAIO, 1999 ²⁶; LIMA, CURY, 2001 ⁶⁸; BUZALAF, CURY, WHITFORD, 2001 ¹⁹; SALES-PERES, BASTOS, 2002 ⁸⁹), foi

lançada no mercado brasileiro uma destas gomas de mascar denominada Happydent® (0,3 mg de flúor, em cada unidade, segundo o fabricante) e sua venda é realizada livremente em embalagens com 10 ou 5 unidades.

A primeira parte deste estudo foi realizada com a finalidade de coletar dados quantitativos sobre a concentração de flúor na saliva total após dose única de flúor administrado através das gomas de mascar Happydent® e Trident®.

Levando-se em consideração que o flúor liberado através de um chiclete é provavelmente distribuído igualmente por todos os locais da boca, a técnica de amostragem usada nesta parte do experimento, contém uma mistura salivar de diferentes glândulas. Portanto resultará em uma concentração média de flúor na saliva total estimulada.

Sem dúvida alguma, o fluxo salivar é um dos mais importantes parâmetros relacionados com a saúde bucal (ENGELBRILL et al., 1996 ³⁸; BERGDHL, 2001 ⁶) e a composição da saliva está diretamente relacionada com o mesmo. Sendo assim, baseados nas afirmações de BRETZ et al, em 2001 ⁸ e SONESSON; ELIASSON; MATSSON em 2003 ⁹⁷, que constataram não haver diferença estatisticamente significativa entre o fluxo salivar de crianças com dentição decídua e mista, como também

entre os sexos, optou-se em utilizar como voluntários, nesta parte do experimento, crianças com idade entre 8-9 anos.

Nesta faixa etária é possível notar, nas crianças, um desenvolvimento psico-motor capaz de permitir o manejo necessário para um maior controle no correto desenvolvimento do protocolo selecionado, além de uma melhor colaboração na coleta das amostras.

Outro cuidado tomado em relação à análise do volume salivar estimulado foi à escolha do mesmo sabor para as gomas de mascar, pois, segundo GUINARD et al. em 1997 ⁵³, o fluxo salivar pode ser afetado pelo sabor da goma, mas não pela quantidade ou duração deste sabor. O sabor selecionado para a pesquisa foi o da hortelã, por ser mais comumente utilizado.

Para o cálculo do fluxo salivar de cada voluntário, as massas dos recipientes plásticos foram medidas antes e após a coleta das amostras de saliva. Considerando a densidade da saliva como 1 mg/mL, o volume salivar das amostras foi obtido subtraindo-se a massa inicial dos recipientes da massa final. Então, o fluxo salivar (mL/min) foi calculado dividindo-se o volume salivar obtido pelo período correspondente.

O período determinado para este estudo foi de 15 minutos para a coleta das amostras de saliva. Isto se justifica baseado nos

trabalhos de EMSLIE; VEALL; DUCKWORTH, em 1961 ³⁷, BRUNN, GIVSKOV, em 1978 ¹² e BARABOLAK, 1991 ⁵ que determinaram a liberação de flúor de uma goma de mascar e verificaram que 80% a 90% do mesmo foi liberado de 10 a 15 minutos. Concomitantemente a esse fato, no trabalho de BRIGHENTI et al. em 2002 ⁹ observou-se que além das crianças normalmente mastigarem um chiclete apenas durante a permanência do sabor, que tem sua duração média em torno de 15 minutos, os tempos seguintes não apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação à concentração de flúor encontrada na saliva.

Observando-se os resultados do volume total de saliva produzido pelos voluntários durante os 15 minutos experimentais, bem como a média e o erro padrão obtido, mostrados na Tabela 1, pode-se constatar comportamento semelhante entre as gomas de mascar avaliadas. Tal fato foi confirmado através do teste da Análise de Variância a dois critérios com significância ao nível de 5% (Tabela 2), que utilizou os critérios: tipo da goma de mascar e tempo de mastigação (0, 3, 6, 9, 15 minutos). Entretanto, tal teste também demonstrou existir diferença estatisticamente significativa entre os tempos. Sendo assim, para comparações individuais entre os tempos foi realizado o teste de Tukey ($p < 0,05$), apresentado na Tabela 3, onde se pode observar que a diferença

estatística refere-se apenas ao tempo 2 (3 min.). Este tempo corresponde ao início da mastigação, onde o sabor de hortelã está mais acentuado. Desta forma, estes dados corroboram com os trabalhos de GUINARD et al. em 1997 ⁵³ e BRETZ em 2001 ⁸.

Segundo BRUNN et.al. 1979¹¹, as gomas de mascar contendo flúor têm apresentado concentrações de flúor na saliva similar a outras fontes de flúor, tais como dentifrícios, tabletes e soluções para bochechos, sendo comprovada por HATTAB et al. 1989 ⁵⁵; CASLAVSKA et al, 1991 ²³; LAMB et al., 1993 ⁶⁴ e SJÖGREN et al., 1997 ⁹⁵ a eficácia de sua ação anticariogênica.

Todavia, é notório que a estimulação do fluxo salivar pela goma de mascar promove um efeito negativo na retenção de flúor na cavidade bucal, pois dilui a concentração do mesmo a um grau proporcional ao fluxo salivar individual (SJÖGREN et al. 1993 ⁹⁴). Desse modo, o fluxo salivar foi utilizado para se obter a quantidade total de flúor liberado, em mg F⁻, a partir da concentração obtida em ppm.

De forma semelhante aos trabalhos de SJÖGREN et al. 1997 ⁹⁵; SJÖGREN et al 2002 ⁹³; SILVA, 2003 ⁹⁰, no presente estudo, encontraram-se os maiores valores de flúor na saliva nos primeiros tempos experimentais após o uso de goma de mascar fluoretada, sendo que a concentração de flúor na saliva diminuiu

gradualmente. Tais valores estão expostos na Tabela 4, juntamente com o erro padrão obtido para cada tempo.

Na Figura 37, o gráfico ressalta tal comportamento, além de comprovar a ausência de flúor do chiclete controle. Nele, é possível visualizar também a diferença apresentada pela goma teste, entre o tempo 2 (3 min) e os demais.

Desta forma, as observações da experiência de dose única, descritas através da Tabela 4 e Figura 37, confirmam descobertas anteriores de uma rápida liberação inicial de flúor na cavidade bucal. (BRUUN; GIVSKOV, 1978 ¹²; HATTAB et al. 1989 ⁵⁵).

A análise estatística, apresentada na Tabela 5, revela que a concentração de flúor presente nas amostras de saliva após o uso do Happydent[®], apesar de diminuir com o tempo, foi significativamente maior que aquela após o uso do Trident[®] em todos os tempos experimentais. Demonstra também existir, além de diferença estatisticamente significativa ao nível de 5% entre os tempos, uma interação significativa entre os grupos no “baseline”.

Por existir esta interação significativa, optou-se por separar as gomas de mascar para a realização do teste de Tukey. Desse modo, a goma de mascar Happydent[®] foi avaliada na Tabela 6 e a goma controle Trident[®], na Tabela 7. Em ambas tabelas observa-se que o tempo 2 (3 min.) foi o que concentrou maior quantidade de flúor.

A Tabela 8 apresenta a quantidade total de flúor, por voluntário, em mg F⁻, durante todo o experimento, para as duas gomas de mascar. Apesar de haver uma grande variação entre os voluntários, é possível observar que houve liberação de flúor pelo chiclete fluoretado Happydent[®] (X= 0,187) não ocorrendo no chiclete controle Trident[®] (X=0,002). Pode-se observar, também, que uma quantidade de flúor semelhante fica retida na goma de ambos os chicles, o que poderia ser justificado pelas características do material utilizado na fabricação das mesmas. Outro aspecto que pode ser visualizado é a quantidade de flúor total, presente neste lote do chiclete Happydent[®] (L2803A), que demonstrou ser, nas condições deste estudo, menor do que o relatado pelo fabricante em sua embalagem.

Sabendo-se que a ingestão de flúor ocorre durante um longo período no qual as crianças crescem rapidamente e a sua dieta muda substancialmente, a ingestão de flúor em relação ao peso do corpo variará marcadamente em épocas diferentes, durante o período de formação dos dentes. Sendo assim, as estimativas devem ser interpretadas com cuidado.

Porém, considerando que o maior fator de risco para o desenvolvimento da fluorose dentária é a ingestão total de flúor a partir das diversas fontes disponíveis na natureza, a goma de

mascar Happydent[®], mesmo com quantidade menor que 0,3 mg F⁻ pode ser preocupante para crianças na faixa etária de risco, conforme descrito na Tabela 9, em que são apresentados os pesos médios para cada faixa etária. (SKOTOWSKI, HUNT, LEVY, 1995⁹⁶; ROLLA, OGAARD, CRUZ, 1991⁸⁸; ISMAIL, 1994⁵⁸; JOHNSTON, 1994⁶²).

Pode-se observar em destaque que um único tablete representa 17,8% da ingestão máxima diária recomendada para uma criança de 3 anos de idade e aproximadamente 11% para uma criança de 7 anos. Essa ingestão máxima diária foi calculada com base na quantidade máxima, geralmente mencionada na literatura, como sendo de 0,07mg F⁻/Kg massa corporal/dia (BURT, 1992¹³; FEJERSKOV, 1994⁴⁴; FEJERSKOV et al, 1994⁴⁵) e considerando a utilização de um único tablete, o que nem sempre ocorre, principalmente sendo este chiclete vendido livremente em embalagens comerciais com 5 ou 10 unidades.

Entretanto, para crianças acima de 7 anos, fora da idade de risco para fluorose, esta goma pode ser uma medida preventiva auxiliar interessante, porque além de estimular a salivação, a quantidade de flúor liberada pode favorecer a remineralização e prevenir a desmineralização local (MORENO, KRESAK, ZAHRADNIK; 1977⁸⁰; FEJERSKOV, THYLSTRUP, LARSEN, 1981

⁴⁶; ROLLA, 1988 ⁸⁷; ARENDS, CHRISTOFFERSEN, 1990 ⁴; TEN CATE, FEATHERSTONE, 1991 ¹⁰⁶).

6.2 Incorporação do flúor no esmalte dentário

Não resta dúvida que a doença cárie ainda ocupa o centro das atenções da pesquisa em Odontologia. Por seu caráter multifatorial, a doença deve ser prevenida, não apenas combatendo seu agente causal, como também aumentando a resistência do hospedeiro e melhorando as condições do meio-ambiente bucal.

Atualmente é de conhecimento geral que a cárie dentária é consequência do desequilíbrio entre os fenômenos de desmineralização e remineralização, que estão diretamente relacionados ao pH.

Embora o mecanismo de ação do flúor ainda não tenha sido completamente elucidado, pode-se afirmar que sua ação preventiva e terapêutica, quando presente em solução, é exercida de 3 maneiras: o flúor inibe as bactérias da placa dentária e a desmineralização, acelerando a remineralização (MARTENS, VERBEECK, 1998 ⁷⁴; FEATHERSTONE, 1999 ⁴²; LIMEBACK, 1999 ⁶⁹).

Na dinâmica do processo para a formação de uma lesão de cárie ocorre, inicialmente, uma queda do pH no meio ambiente da

placa e esmalte, condição esta em que a hidroxiapatita pode se dissolver. O flúor, estando presente no meio bucal é depositado sobre a área desmineralizada do dente sob a forma de fluorapatita ou fluorhidroxiapatita. Portanto, ao mesmo tempo em que estiver ocorrendo a desmineralização da hidroxiapatita estará ocorrendo à formação da fluorhidroxiapatita e conseqüentemente reposição de minerais (FEATHERSTONE, 1990 ⁴³; TEN CATE, FEATHERSTONE, 1991 ¹⁰⁶).

Pelo exposto, pode-se afirmar que o flúor inibe a desmineralização e ao mesmo tempo participa da remineralização, reconstruindo, junto com o cálcio e fósforo, o esmalte do dente. (FEATHERSTONE et al., 1990 ⁴³; TEN CATE; FEATHERSTONE, 1991 ¹⁰⁶), formando assim um produto final com solubilidade mais baixa (FEATHERSTONE, 1999 ⁴²).

Sendo assim, um dos pressupostos básicos para que um agente cumpra sua função é o fato dele possuir flúor ativo, reativo com o esmalte dentário e biodisponível. De nada adianta o fabricante adicionar o íon de flúor na formulação básica da goma, se este reagir com os outros componentes ainda dentro da embalagem (WHITFORD, 1996 ¹¹⁸).

HATTAB et al. em 1989 ⁵⁵, como também LAMB et al., em 1993 ⁶⁴, comprovaram em seus estudos *in situ* que o flúor liberado

por goma de mascar ($\cong 0,1$ mg F⁻/ unidade) apresenta este efeito remineralizador sobre lesões naturais de cárie dentária.

Norteados por esse pensamento decidiu-se pelo uso das biópsias *in vivo* para avaliar a real capacidade do flúor (MFP) liberado pela goma de mascar Happydent[®] em interagir com o esmalte (CASLAVSKA et al., 1991 ²³).

Para esta parte da análise, optou-se primeiramente em realizar uma profilaxia profissional com bicarbonato de sódio, no intuito de parear os participantes quanto ao tipo e a quantidade de placa bacteriana.

Como dito anteriormente, no capítulo de material e métodos, após a profilaxia profissional realizou-se uma biópsia inicial para obter-se os valores “baseline” de flúor presente no esmalte dentário de cada voluntário, e assim reduzir o valor obtido através da biópsia após a utilização da goma de mascar para então se obter a quantidade de flúor incorporada ao esmalte.

Os valores resultantes pelas biópsias bem como, a diferença, a média e o erro padrão foram expressos na Tabela 10, para o chiclete Trident[®] e na Tabela 11 para o Happydent[®].

Analizando-se, primeiramente a Tabela 10, pode-se notar que, para o Trident[®], a diferença entre as biópsias apresentou valores negativos. No entanto, é necessário destacar que, após a

análise estatística, realizada através do teste t e expressa na Tabela 13, ressalta-se que tais valores (biópsia feita antes e após o uso da goma) não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si ($p= 0,339$). Sendo assim, tal fato pode ser justificado através da sensibilidade analítica referente à técnica utilizada, uma vez que a média dos valores negativos corresponde a cerca de 5%, que coincide com a variação esperada na técnica analítica.

Correspondendo ao previamente esperado, quando os dados contidos na Tabela 11 são avaliados, pode-se observar um aumento na quantidade de flúor presente ao esmalte quando a 2.^a biópsia foi realizada após a utilização da goma Happydent® (valor da diferença positivo).

Corroborando com os resultados obtidos por LAMB et al. em 1993 ⁶⁴, a Tabela 12 apresenta os parâmetros utilizados no teste t para avaliar as duas gomas, demonstrando existir uma diferença estatisticamente significativa entre elas ($p= 0,014$).

Todavia, contrariamente ao que ocorreu com o Trident®, pode-se observar que quando o Happydent® foi avaliado individualmente pelo teste t, antes e depois do uso do chiclete (Tabela 14), ocorreu uma diferença estatisticamente significativa ($p= 0,025$), demonstrando a incorporação substancial de flúor. Estes resultados estão de acordo com os observados por CASLAVSKA et al, em 1991 ²³.

Com o propósito de elucidar o que realmente ocorreu nesta parte do experimento optou-se por confeccionar um gráfico, representado na Figura 38, onde a diferença de comportamento ocorrido, na avaliação de incorporação de flúor pelo esmalte dentário (ppm F⁻) foi demonstrada para cada indivíduo avaliado. Nele torna-se clara a incorporação de flúor proporcionada pela goma de mascar Happydent[®].

6.3 Biodisponibilidade do Flúor liberado pela goma de mascar

Qualquer que seja a fonte de flúor na dieta deve-se ter em mente que as estimativas de ingestão não são necessariamente equivalentes ao real acúmulo de flúor no corpo. Todavia, a possibilidade de ingestão do fluoreto liberado pela goma de mascar parece ser evidente. E, ao mesmo tempo, preocupante. Tal preocupação se justifica, pois, esta ingestão pode ser considerada uma fonte adicional de fluoreto, que viria somar-se às demais fontes deste íon.

Entretanto, para que os efeitos adversos do flúor no organismo possam ser sentidos é necessário que o mesmo seja absorvido a partir do trato gastro-intestinal e atinja a circulação sistêmica, ou seja, esteja biodisponível (RITSCHER, 1984 ⁸⁶ e

EKSTRAND et al., 1984 ³³).

Para o estudo da biodisponibilidade de agentes químicos exógenos, HENDERSON, 1995 ⁵⁶ e WARD, HENDERSON, em 1996 ¹¹⁶, através de revisões de literatura, destacaram o uso dos marcadores biológicos, também conhecidos como biomarcadores. Segundo o Committee on Biological Markers of the National Research Council, 1987 ²⁵, estes marcadores são definidos como indicadores que sinalizam eventos em sistemas biológicos ou amostras. É importante entender que um biomarcador não é usado como um teste para diagnóstico, mas como um indicador de uma alteração que poderia levar a uma doença clínica (GRANDJEAN, 1995 ⁵⁰).

A simplicidade de coleta é uma importante vantagem na escolha de um biomarcador de exposição. Apesar de a correlação entre as concentrações de flúor no plasma e a fluorose dentária estarem bem estabelecidas, as determinações de flúor através do plasma envolvem a coleta de sangue, procedimento mais difícil de ser realizado em humanos, principalmente quando se fala de crianças.

Como a fluorose dentária têm aumentado nos últimos anos, no mundo (BURT, 1988 ¹⁴; ADAIR et al., 1999 ¹; BROTHWELL, LIMEBACK, 1999 ¹⁰; todo, assim como no Brasil (CORREIA

SAMPAIO et al., 1999 ²⁶; BUZALAF, CURY; WITHFORD, 2001 ¹⁹; LIMA, CURY, 2001 ⁶⁸), indicadores dos níveis plasmáticos de flúor ao longo do tempo, cuja coleta seja simples e não invasiva, são de grande interesse.

Pelo acima exposto e amparando-se no trabalho de WHITFORD; THOMAS; ADAIR (1999) ¹²¹, para a análise da biodisponibilidade do flúor liberado pela goma de mascar Happydent optou-se, em substituição ao plasma, utilizar a saliva do ducto da glândula parótida como biomarcador para exposição ao flúor, bem como, a coleta da urina (também um biomarcador) para, monitorando os níveis de flúor urinário determinar a possível fração do total de ingestão diária de flúor excretada (VILLA, 1999 ¹¹¹; VILLA, ANABALON, CABEZAS 2000 ¹¹³).

Quando a avaliação da biodisponibilidade do flúor foi realizada através da saliva do ducto, a quantidade de flúor encontrada para cada voluntário nos diferentes tempos foi avaliada estatisticamente através do teste Anova, expressado na Tabela 15. Os resultados revelaram existir uma diferença estatisticamente significativa entre os tempos ($p=0,000$). Desta forma, os valores foram avaliados pelo teste Tukey para analisar a diferença entre os tempos (Tabela 16).

Deste modo, pode-se observar na Tabela 16 que o pico de flúor ocorrido no T18 não foi estatisticamente diferente do intervalo de tempo composto entre T3 e T40. Tal fato está de acordo com o trabalho de WHITFORD, 1996 ¹¹⁸, onde o mesmo afirmou que o flúor distribui-se rapidamente pelo organismo após a sua ingestão, tendo os níveis plasmáticos, geralmente, começando a apresentar sinais de aumento aos 10 minutos após a mesma e o pico máximo ocorrendo entre 20 a 60 minutos.

Relembrando-se que o ingrediente ativo na goma de mascar Happydent[®] é o monofluorfosfato de sódio (MFP) e que o flúor presente no MFP ($\text{Na}_2\text{PO}_3\text{F}$) não é iônico e sim covalentemente ligado ao fósforo, outro aspecto que pode ser comprovado na Tabela 16 refere-se ao trabalho de WHITFORD em 1990 ¹²⁰, onde o autor relatou que a absorção do flúor presente no MFP ocorreu principalmente, após hidrólise enzimática da molécula por fosfatase. Desta forma, após a administração oral, a absorção do MFP ocorre mais lentamente que a de outros compostos solúveis e iônicos, o que resulta em picos plasmáticos menores e tardios. Tais aspectos ficam claros após a ilustração dos dados na Figura 39.

Torna-se claro também a variação apresentada pelos voluntários que, apesar de não ser significativa estatisticamente, confirma o fato de vários fatores poderem afetar o modo como os

indivíduos respondem a uma mesma dose de flúor. Entre eles estão as desordens respiratórias, os fatores herdados ou genéticos, as dietas ricas em proteínas ou cálcio, etc.

Outro biomarcador avaliado foi a urina. Lembrando-se que a reabsorção de fluoreto pelos túbulos renais está diretamente ligada à formação de ácido fluorídrico que é função direta do pH ácido urinário, logo, quanto mais baixo for o pH, maior sua reabsorção.(WHITFORD, 1996 ¹¹⁸), optou-se em solicitar o jejum das crianças 12h antes do experimento (período noturno).

Por outro lado, sabendo-se que os alimentos têm relação direta com o pH da urina, padronizou-se, durante o período experimental, o lanche servido para os voluntários. Nesse aspecto, a Tabela 17 mostra o sexo, volume total de urina e pH da mesma e tem como intuito demonstrar não haver diferenças significativas para tais variáveis entre os voluntários.

Na Tabela 18, estão expressos os valores totais e por hora de flúor excretado através da urina, antes e após o período experimental (mg F⁻). Tais resultados levam à constatação de que as médias das concentrações do fluoreto na urina de todos os participantes da presente pesquisa parece não ter variado, apresentando-se com valores inferiores aqueles de antes do experimento. Não pode-se esquecer, entretanto, que os valores

totais obtidos antes do experimento correspondem ao período de 24 horas de coleta, diferentemente dos obtidos após o experimento que correspondem a apenas 9 horas de coleta.

Realizado o teste t (Tabela 19), os resultados levam a concluir que sob o ponto de vista estatístico, após a realização do experimento, os valores não apresentaram diferença ($p=0,15$), sugerindo não haver alteração na concentração de flúor na urina, em função da mastigação do chiclete Happydent®. Todavia, EKSTRAND; KOCH; PETERSSON, em 1983 ³⁵, já relataram a dificuldade em obter-se dados confiáveis a partir apenas da análise da urina. No trabalho de PESSAN et al. (2004) ⁸⁵ também não foi encontrada variação significativa na quantidade de flúor excretada na urina quando crianças de 4-7 anos usaram dentifrício placebo ou fluoretado (1500 ppm F).

De tudo o que foi discutido através dos 3 tópicos deste trabalho, pode-se afirmar que a variabilidade individual na ingestão de fluoretos tem sido um fato bem conhecido desde o começo da investigação epidemiológica na relação entre cárie dentária e flúor. Todavia, a goma de mascar Happydent® realmente apresentou uma liberação de flúor significativa, podendo ser considerada um coadjuvante ao risco de fluorose.

Por apresentar seu componente ativo ionizável (apesar de covalentemente ligado ao fósforo), este foi capaz de reagir com os cristais de hidroxiapatita presentes no esmalte dentário, incorporando-se ao mesmo. Este fato é outro aspecto importante corresponde à comprovação da biodisponibilidade deste componente.

Sabendo-se que o aumento na concentração de fluoreto na saliva do ducto reflete o aumento da concentração de fluoreto no sangue, e que estes aumentos são muito próximos um do outro, guardadas as proporções quanto à idade do indivíduo de determinado estudo, o fato de não ter colhido o sangue dos participantes não diminuiu em nada o valor dos resultados, aqui obtidos.

Apesar de HATTAB et al. (1989) ⁵⁵ concluírem que a goma de mascar oferece um risco mínimo de provocar efeitos adversos no usuário por provocar um aumento suave dos níveis plasmáticos de flúor após seu uso, observou-se nas condições deste estudo que o flúor presente no Happydent® apresentou características de biodisponibilidade.

Além disso, segundo EKSTRAND et al. 1984 ³², uma parte sensível do fluoreto ingerido deveria aparecer na urina e isto não se deu no presente estudo, talvez porque a cinética deste fluoreto

tenha outro enfoque, ou seja, tenha sido reabsorvido pelos túbulos renais, caindo novamente na corrente sanguínea e, iniciando assim novo ciclo de aproveitamento.

Seguindo este raciocínio, pode-se afirmar que, em áreas adequadamente fluoretadas, esta goma de mascar pode tornar-se perigosa ou não, dependendo da idade de seu usuário.

Perigosa, quando utilizada por crianças com idade inferior a 7 anos. Isto porque, como a ocorrência da fluorose dentária necessita de uma excessiva exposição sistêmica ao flúor na faixa etária onde o esmalte está em fase de calcificação ou maturação, a utilização do Happydent® acarretaria em mais uma fonte de exposição ao flúor.

Por outro lado, poderia atuar como um coadjuvante na prevenção da cárie dentária, para adolescentes, adultos e pessoas na terceira idade.

Devido à importância dos padrões de autocuidados para a prevenção e controle das doenças bucais (entre elas a cárie) pode-se apontar a relevância de produtos que facilitem tais cuidados.

Os adolescentes constituem a população mais problemática no quadro para a prevenção da cárie, por apresentarem características e atitudes singulares, e necessidades igualmente distintas. A adolescência é considerada uma fase de transição

entre a infância e a juventude (período compreendido entre 10 e 20 anos), no qual inúmeras mudanças físicas, cognitivas, emocionais e sociais ocorrem. Na busca de um equilíbrio físico-psíquico-social, o adolescente apresenta comportamentos extremos, ora exacerbando suas atitudes positivas, ora mostrando-se francamente negligente com seus cuidados à saúde. Não raro, a adolescência é tida como um período de risco aumentado à cárie dentária, em decorrência do precário controle de placa e redução dos cuidados com a escovação. Desta forma, a inclusão em sua dieta de gomas de mascar durante períodos mínimos de 15 minutos estaria, além de proporcionar níveis constantes de flúor, aumentando o fluxo salivar e facilitando assim, a limpeza dos substratos que permaneceram na cavidade bucal.

Os adultos, por sua vez, devido ao excesso de atividade diária, que muitas vezes dificulta a higiene bucal adequada estariam, também, beneficiando-se com o uso desta goma de mascar fluoretada após as refeições.

Outra faixa etária beneficiada com essa medida seria a população da terceira idade com suas dificuldades características, bem como a maior prevalência de cárie radicular que poderia com o uso da goma de mascar proporcionar benefícios consideráveis para sua saúde bucal.

Portanto, torna-se necessário que este assunto seja tratado com prudência, mas necessita-se que médicos e dentistas especialistas estejam adequadamente informados quanto ao tema para orientar corretamente seus pacientes, uma vez que, sendo comercializada livremente, apenas com uma pequena nota de “*não recomendado para crianças menores de 7 anos*” não é suficiente para inibir seu consumo.

Desta forma, novos trabalhos clínicos, abrangendo as diversas faixas etárias discutidas, devem ser realizados com o objetivo de confirmar suas propriedades benéficas em relação à prevenção da cárie dentária e assim ampliar seu uso.

CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos neste estudo e a análise estatística aplicada aos mesmos, pode-se concluir que:

1. A goma de mascar Happydent® liberou quantidade média de flúor, durante todo o período, de aproximadamente 0,187 mg F⁻, sendo estatisticamente significativamente em relação ao chiclete Trident® em todos os tempos experimentais;
2. O flúor liberado pela goma de mascar Happydent® apresentou capacidade de incorporação ao esmalte dentário;
3. Os teores de flúor originados na saliva total após o uso do Happydent® foram capazes de produzir um aumento nas concentrações plasmáticas, porém não foram suficientes para serem detectados na urina;
4. Deve-se evitar o uso do produto Happydent® por crianças na faixa etária de risco para fluorose dentária, pois a ingestão de flúor variou entre 17,8% e 11% da ingestão máxima diária recomendada para uma criança de 3 e 7 anos, respectivamente;

5. Os resultados, após os 3 experimentos, sugerem que o uso do Happydent® pode ser importante em termos de prevenção de cárie dentária em crianças acima de 7 anos, adolescentes, adultos ou idosos, o que deveria ser analisado clinicamente.

ANEXO S

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comitê de Ética em Pesquisa (3235-8356)

Of. nº CEP/15 2004/FOB

Bauru, 05 de julho de 2004.

Senhora Professora,

Em atenção ao Of. ODP/40 04/FOB-USP, informamos que os trabalhos de pesquisa citados abaixo desenvolvidos por Maria Fernanda Borro Bijella sob sua orientação, foram devidamente aprovados por este Comitê de Ética em Pesquisa, resultando no trabalho final **“Avaliação in vivo da cinética do flúor na saliva, incorporação ao esmalte e biodisponibilidade após o uso de goma de mascar fluoretada”**:

<i>Título do trabalho</i>	<i>Data de Aprovação</i>
Cinética do flúor na saliva após o uso de goma de mascar fluoretada Autoras: Fernanda Lourenção Brighenti e Maria Fernanda Borro Bijella	24/04/2002
Biodisponibilidade do flúor in vivo após o uso de goma de mascar fluoretada Autora: Maria Fernanda Borro Bijella e co-orientação da Profª Drª Marília Afonso Rabelo Buzalaf	26/11/2003
Incorporação do flúor ao esmalte dentário in vivo após o uso de goma de mascar fluoretada Autora: Maria Fernanda Borro Bijella e co-orientação da Profª Drª Marília Afonso Rabelo Buzalaf	11/11/2003

Sendo o que nos apresenta para o momento, despedimo-nos,

Atenciosamente,

Profª Drª Ana Lúcia Alvares Capelozza
Coordenadora

Ilmª Srª Profª Drª **Maria Francisca Thereza Borro Bijella**
DD. Docente do Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva

Universidade de São Paulo

Faculdade de Odontologia de Bauru

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-101 – C.P. 73
PABX (0XX14) 235-8000 – FAX (0XX14) 223-4679

Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva

e-mail: dep-oosc@fob.usp.br – Fone: (0XX14) 235-8218

Carta de Informação ao Paciente

Nome do paciente: _____

Vimos, por meio desta, dar informações aos senhores pais e/ou responsáveis sobre o trabalho intitulado **“INCORPORAÇÃO DE FLÚOR AO ESMALTE DENTÁRIO *IN VIVO* APÓS O USO DE GOMA DE MASCAR FLUORETADA”**.

O uso do flúor é muito importante para evitar cárie nos dentes. Atualmente, ele está presente na água de abastecimento e em muitos alimentos e bebidas industriais, pois a grande maioria dessas indústrias utiliza água com flúor para a fabricação de seus produtos.

Porém, o uso excessivo de flúor pode causar alguns problemas nos dentes, principalmente em crianças menores de sete anos de idade que tem os dentes permanentes ainda em formação. Esse tipo de alteração recebe o nome de **fluorose**.

Há algum tempo surgiu no mercado o chiclete da marca Happydent com flúor, que pode ser comprado livremente em qualquer padaria ou supermercado. O que parece ser uma solução para muitas pessoas passou a ser motivo de preocupação para os dentistas, porque ao se mascar esse chiclete há liberação de flúor, que acaba sendo ingerida pela criança. Se ela mascar muito dessa goma pode estar correndo o risco de ter fluorose.

Esse estudo tem como objetivo medir a concentração de flúor no esmalte dentário e na saliva de seus filhos. Na semana anterior ao experimento, os senhores pais e/ou responsáveis receberão uma pasta de dentes especial que deve ser utilizada pelos seus filhos toda vez que ele escovar os dentes. Na semana seguinte, os senhores deverão comparecer à Faculdade de Odontologia de Bauru, juntamente com seus filhos para que seja realizada a coleta de saliva e biópsia do esmalte. Eles deverão mascar o chiclete durante vinte minutos e, em intervalos regulares, deverão depositar a saliva em um pote. No primeiro dia eles irão mascar um chiclete controle (Trident) e, uma semana depois, o chiclete Happydent.

Seus filhos só poderão deixar de usar a pasta de dentes especial após mascarem a o chiclete Happydent, quando então receberão uma limpeza profissional dos dentes e antes de serem dispensados receberão um “Kit” com escova de dente e fio dental adequado para a higiene bucal de seus filhos.

É importante ressaltar que o principal objetivo é o benefício que este tipo de trabalho pode trazer para os seus (suas) filhos (as) e conhecidos com relação a prevenção da cárie e suas conseqüências.

Os pais/ou responsáveis juntamente com os voluntários terão a garantia de receber esclarecimento de qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa. Qualquer dúvida ou problema, por favor entrar em contato com a aluna de Doutorado Fernanda Bijella no telefone 3235-8218 (Disciplina de Odontopediatria). Caso queira apresentar reclamações em relação a sua participação na pesquisa, poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, da FOB-USP, pelo endereço da Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 (sala no prédio da Biblioteca, FOB/USP) ou pelo telefone (14)3235-8356.

Por estarem entendidos e de acordo com a presente carta de informação,

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o senhor (a) _____, portador (a) da cédula de identidade número _____, pai (ou responsável) pelo (a) adolescente, _____ portador (a) da cédula de identidade _____, após leitura minuciosa do exposto acima, devidamente explicado pela profissional em seus mínimos detalhes, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO em concordância em participar da pesquisa proposta no que lhe é cabível, conforme a CARTA DE INFORMAÇÃO AO PACIENTE. Fica claro que o paciente ou seu representante legal podem, a qualquer momento, retirar seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO e deixar de participar do estudo alvo da pesquisa a ciente que todo trabalho realizado torna-se informação confidencial guardada por força do sigilo profissional (Art. 9.º do Código de Ética Odontológica).

Bauru-SP, _____ de _____ de 2003.

Nome do pai/mãe ou responsável: _____

Assinatura do pai/mãe ou responsável

Maria Fernanda Borro Bijella
Pesquisadora Responsável

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADAIR, S.M. et al. Dental caries and fluorosis among children in a rural Georgia area. **Pediatr Dent**, v. 21, n. 2, p. 81-85, Mar.-Apr. 1999.
2. ANDERSON, L.A.; ORCHARDSON R. The effect of chewing bicarbonate-containing gum on salivary flow rate and pH in humans. **Arch Oral Biol**, v.48, n. 3, p. 201-204, Mar. 2003.
3. AOBA, T. ; FEJERSKOV, O. Dental fluorosis: chemistry and biology. **Crit Rev Oral Biol Med**, v. 13, n. 2, p. 155-170, 2002.
4. ARENDS, J.; CHRISTOFFERSEN, J. Nature and role of loosely bound fluoride in dental caries. **J Dent Res**, 69 Spec, p. 601-605; discussion, p. 634-636. Feb. 1990.

* NBR 10719 da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas)

** Normas recomendadas para uso no âmbito da Universidade de São Paulo, com base no documento.

“Referências Bibliográficas: exemplos”, emanados do Conselho Supervisor do Sistema Integrado de Bibliotecas da USP, em reunião de 20 de setembro de 1990.

5. BARABOLAK, R. et al. Gum chewing profiles in the U.S. population. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 19, n. 2, p. 125-126, Apr. 1991.
6. BERGDHL, M. Salivary flow and oral complaints in adult dental patients. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 28, n. 1, p. 59-66, Feb. 2000.
7. BRAMBILLA, E. Fluoride – Is it capable of fighting old and new dental diseases? **Caries Res**, v. 35, p. 6-9, 2001. Supplement 1.
8. BRETZ, W.A. et al. Unstimulated salivary flow rates of young children. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 91, n. 5, p. 541-545. May 2001.
9. BRIGHENT, F.L. et al. Cinética do flúor na saliva após o uso de goma de mascar fluoretada. **Pesqui Odontol Bras**, v. 16, p. 75, 2002. Suplemento. / Resumo Ib 112 / Trabalho apresentado na 19.^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica - SBPqO, Águas de Lindóia, 2002.

10. BROTHWELL, D.J.; LIMEBACK, A. Fluorosis risk in grade 2 students residing in a rural area with widely varying natural fluoride. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 26, p. 130-136, 1999.
11. BRUUN, C.; GIVSKOV, H. Fluoride concentrations in saliva in relation to chewing of various supplementary fluoride preparations. **Scand J Dent Res**, v. 87, n. 1, p. 1-6, Feb. 1979.
12. BRUUN, C.; GIVSKOV, H. Release of fluoride from fluoride-containing chewing gum. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 6, n. 1, p. 27-29, Jan. 1978.
13. BURT, B.A. The changing patterns of systemic fluoride intake. **J Dent Res**, v. 71, p. 1228-1237, 1992. Special Issue.
14. BURT, B.A. Dental caries, fluorosis, and fluoride exposure in Michigan schoolchildren. **J Dent Res**, v. 67, n. 5, p. 802-806, 1988.

15. BURT, B.A. Fluoridation and social equity. **J Public Health Dent**, v. 62, n. 4, p. 195-200, 2002.
16. BURT, B.A. Introduction to the Symposium. **J Public Health Dent**, v. 55, p. 37-38, 1995.
17. BUZALAF, M.A.R. et al. Fluoride content of infant foods in Brazil and risk of dental fluorosis. **J Dent Child**, v. 69, n. 2, p. 196-200, 2002.
18. BUZALAF, M.A.R. et al. Fluoride content of infant formulas prepared with deionized, bottled mineral and fluoridated drinking water. **J Dent Child**, v. 68, n. 1, p. 37-41, 2001.
19. BUZALAF, M.A.R.; CURY, J.A.; WHITFORD, G.M. Fluoride exposures and dental fluorosis: a literature review. **Rev Fac Odontol Bauru**, v. 9, n. 1/2, p. 1-10, Jan.-Jun. 2001.

20. CAMARGO, J.A. Fluoride toxicity to aquatic organisms: a review. **Chemosphere**, v. 50, n. 3, p. 251-264, Jan. 2003.
21. CANGUSSU, M.C. et al. A fluorose dentária no Brasil: uma revisão crítica. **Cad. Saúde Pública**, v. 18, n. 1, p. 7-15, jan.-fev. 2002.
22. CANGUSSU, M.C.; COSTA, M.C. Topical fluoride in the reduction of dental caries in adolescents in Salvador, BA, 1996. **Pesqui Odontol Bras**, v. 15, n. 4, p. 348-353, Oct.-Dec. 2001.
23. CASLAVSKA, V. et al. CaF₂ in enamel biopsies 6 weeks and 18 months after fluoride treatment. **Caries Res**, v. 25, n. 1, p. 21-26, 1991.
24. CLARK, D.C. et al. Influence of exposure to various fluoride technologies on the prevalence of dental fluorosis. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 22, n. 6, p. 461-464, Dec. 1994.

25. COMMITTEE ON BIOLOGICAL MARKERS OF THE NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Biological markers in environmental health research. **Environ Health**, v. 74, p. 3-9, 1987.
26. CORREIA SAMPAIO, F. et al. Dental fluorosis and nutritional status of 6- to 11-year-old children living in rural areas of Paraíba, Brazil. **Caries Res**, v. 33, n. 1, p. 66-73, 1999
27. CUTRESS, T.W.; SUCKLING, G.W. Differential diagnosis of dental fluorosis. **J Dent Res**, v. 69, Spec, p. 714-720; discussion 721, Feb. 1990.
28. DEAN, H.T. The investigation of physiological effects by the epidemiological method. In: MOULTON, F.R., ed. **Fluorine and dental health**. Washington, DC, American Association for the Advancement of Science, p. 23-31, 1942.

29. DENBESTEN, P.K. Biological mechanisms of dental fluorosis relevant to the use of fluoride supplements. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 27, p. 41-47, 1999.
30. EDGAR, W.M. Sugar substitutes, chewing gum and dental caries: a review. **Br Dent J**, v. 184, n. 1, p. 29-32, Jan. 1998.
31. EDGAR, W.M.; GEDDES, D.A. Chewing gum and dental health: a review. **Br Dent J**, v. 168, n.4, p. 173-177, Feb. 1990.
32. EDGAR, W.M.; HIGHAM, S.M.; MANNING, R.H. Saliva stimulation and caries prevention. **Adv Dent Res**, v. 8, n. 2, p. 239-245, Jul. 1994.
33. EKSTRAND, J. et al. Absorption and retention of dietary and supplemental fluoride by infants. **Adv Dent Res**, v. 8, n. 2, p. 175-180, 1984.

34. EKSTRAND, J. et al. Effect of repeated intake of a sugar free fluoride-containing chewing gum on acidogenicity and microbial composition of dental plaque. **Scand J Dent Res**, v. 93, n. 4, p. 309-314, Aug. 1985.
35. EKSTRAND, J.; KOCH, G.; PETERSSON, L.G. Plasma fluoride concentrations in pre-school children after ingestion of fluoride tablets and toothpaste. **Caries Res**, v. 17, n. 4, p. 379-384, 1983.
36. EKSTRAND, J.; OLIVEBY, A. Fluoride in the oral environment. **Acta Odontol Scand**, v. 57, p. 325-329, 1999.
37. EMSLIE, R.D.; VEALL, N.; DUCKWORTH, R. Chewing gum as a vehicle for the administration of fluoride: studies with F. **Br Dent J**, v. 110, n. 4, p. 121-127, Feb. 1961.
38. ENGEL-BRILL, N. et al. The effect of topical fluoride agents on saliva secretion. **J Oral Rehabil**, v. 23, n. 7, p. 501-504, Jul. 1996.

39. EVANS, R.W.; DARVELL, B.W. Refining the estimate of the critical period for susceptibility to enamel fluorosis in human maxillary central incisors. **J Public Health Dent**, v. 55, p. 238-249, 1995.
40. FARKAS, C.S.; FARKAS, E.J. Potential effect of food processing on fluoride content of infant foods. **Sci Total Environ**, v. 2, p. 399-405, 1974.
41. FDI COMMISSION. Mouthrinses and dental caries. **Int Dent J**, v. 52, n. 5, p. 337-345, Oct. 2002.
42. FEATHERSTONE, J.D.B. Prevention and reversal of dental caries: Role of low level fluoride. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 27, p. 31-40, 1999.
43. FEATHERSTONE, J.D.B. et al. Dependence of in vitro demineralization of apatite and remineralization of dental enamel on fluoride concentration. **J Dent Res**, v. 69, Spec, n. 620-625; discussion 634-636, Feb. 1990.

44. FEJERSKOV, O. **Fluorose dentária**: um manual para profissionais da saúde. São Paulo, Editora Santos, 1994.
45. FEJERSKOV, O. et al. Dental tissue effects of fluoride. **Adv Dent Res**, v. 8, n. 1, p. 15-31, Jun. 1994.
46. FEJERSKOV, O.; THYLSTRUP, A.; LARSEN, M.J. Rational use of fluorides in caries prevention. A concept based on possible cariostatic mechanisms. **Acta Odontol Scand**, v. 39, n. 4, p. 241-249, 1981.
47. FISKE C.H.; SUBBAROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. **J Biol Chem**, v. 66, n. 2, p. 375-400, 1925.
48. FOMON, S.J.; EKSTRAND, J.; ZIEGLER, E.E. Fluoride intake and prevalence of dental fluorosis: trends in fluoride intake with special attention to infants. **J Public Health Dent**, v. 60, n. 3, p. 131-139, 2000.

49. GILLCRIST, J.A.; BRUMLEY, D.E.; BLACKFORD, J.U.
Community Fluoridation Status and caries experience in children. **J Public Health Dent**, v. 61, n. 3, p. 168-171, 2001.
50. GRANDJEAN, P. Biomarkers in epidemiology. **Clin Chem**, v. 12, p. 1800-1803, 1995.
51. GROENEVELD, A.; VAN ECK, A.A.M.J.; BACKER DIRKS, O.
Fluoride in caries prevention: id the effect pre- or post-eruptive? **J Dent Res**, v. 69, p. 751-755, 1990. Special Issue.
52. GUHA CHOWDHURY, N.; DRUMMOND, B.K.; SMILLIE, A.C.
Total fluoride intake in children aged 3 to 4 years: a longitudinal study. **J Dent Res**, v. 75, n. 7, p. 1451-1457, 1996.
53. GUINARD, J.X. et al. Relation between saliva flow and flavor release from chewing gum. **Physiol Behav**, v. 61, n. 4, p. 591-596, Apr. 1997.

54. HATTAB, F.N. Pharmacokinetics of fluoride absorbed from dried seafoods by healthy adults. **Eur J Clin Pharmacol**, v. 34, n. 5, p. 489-493, 1988.
55. HATTAB, F.N. et al. Effect of fluoride-containing chewing gum on remineralization of carious lesions and on fluoride uptake in man. **Clin Prev Dent**, v. 11, n. 6, p. 6-11, Nov.-Dec. 1989.
56. HENDERSON, R.F. Strategies for use of biological markers of exposure. **Toxicol Lett**, v. 82-83, p. 379-83, Dec. 1995.
57. ISHII, T.; SUCKLING, G. The severity of dental fluorosis in children exposed to water with a high fluoride content for various periods of time. **J Dent Res**, v. 70, n. 6, p. 952-956, Jun. 1991.
58. ISMAIL, A.I. Fluoride supplements: current effectiveness, side effects, and recommendations. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 22, n. 3, p. 164-172, Jun. 1994.

59. ITTHAGARUN, A.; WEI, S.H. Chewing gum and saliva in oral health. **J Clin Dent**, v. 8, n. 6, p. 159-162, 1997.
60. JACKSON, R.D. et al. Dental fluorosis in children residing in communities with different water fluoride levels: 33 month follow-up. **Pediatr Dent**, v. 21, n. 4 p. 248-254, 1999.
61. JENKINS, G.N.; EDGAR, W.M. The effect of daily gum-chewing on salivary flow rates in man. **J Dent Res**, v. 68, n. 5, p. 786-90, May 1989.
62. JOHNSTON, D.W. Current status of professionally applied topical fluorides. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 22, n. 3, p. 159-163, Jun. 1994.
63. KARGUL, B.; CAGLAR, E.; TANBOGA, I. History of water fluoridation. **Clin Pediatr Dent**, v. 27, n. 3, p. 213-217, 2003.

64. LAMB, W.J. et al. In situ remineralization of subsurface enamel lesion after the use of a fluoride chewing gum. **Caries Res**, v. 27, n. 2, p. 111-116, 1993.
65. LEVERETT, D.H. Prevalence of dental fluorosis in fluoridated and in non- fluoridated communities a preliminary investigation. **J Public Health Dent**, v.46, p. 184-187, 1986.
66. LEVY, S.M. An update on fluorides and fluorosis. **J Can Dent Assoc**, v. 69, n. 5, p. 286-291, May 2003.
67. LEVY, S.M.; KIRITSY, M.C.; WARREN, J.J. Sources of fluoride intake in children. **J Public Health Dent**, v. 55, n. 1, p. 39-52, 1995.
68. LIMA, Y.B.O.; CURY, J.A. Fluoride intake by children from water and dentifrice. **Rev. Saúde Pública**, v. 35, n. 6, p. 576-581, Dec. 2001.

69. LIMEBACK, H. A re-examination of the pre-eruptive and post-eruptive mechanism of the anti-caries effects of fluoride: Is there any anti-caries benefit from swallowing fluoride? **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 27, p. 62-71, 1999.
70. LIN, Y.T.; LIN, Y.T.; LU, S.Y. Effects of fluoride chewing gum on stimulated salivary flow rate and fluoride content. **Chang Gung Med J**, v. 24, n. 1, p. 44-49, Jan. 2001.
71. MACHIULSKIENE, V.; NYVAD, B.; BAEUM, V. Caries preventive effect of sugar-substituted chewing gum. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 29, n. 4, p. 278-288, Aug. 2001.
72. MACPHERSON, L.M.; STEPHEN, K.W. The effect on human salivary fluoride concentration of consuming fluoridated salt-containing baked food items. **Arch Oral Biol**, v. 46, n. 10, p. 983-988, Oct. 2001.

73. MARINHO, V.C. et al. Fluoride mouthrinses for preventing dental caries in children and adolescents. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 3, CD002284, 2003.
74. MARTENS, L.C.; VERBEECK, R.M. Mechanism of action of fluorides in local / topical application. **Rev Belge Med Dent**, v. 53, n. 1, p. 295-308, 1998.
75. MARTINEZ-MIER, E.A. et al. Fluoride intake from foods, beverages and dentifrice by children in Mexico. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 31, n. 3, p. 221-230, Jun. 2003.
76. MASCARENHAS, A.K. Risk factors for dental fluorosis: a review of the recent literature. **Pediatr Dent**, v. 22, n. 4, p. 269-277, 2000.
77. MASCARENHAS, A.K.; BURT, B.A. Fluorosis risk from early exposure to fluoride toothpaste. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 26, n. 4, p. 241-248, Aug. 1998.

78. McCLURE, F.J. Ingestion of fluoride and dental caries. Quantitative relations based on food and water requirements of children 1 to 12 years old. **Amer J Dis Child**, v. 66, p. 362-369, 1943.
79. McKAY, F.S. Mottled enamel: The prevention of its further production through a change of water supply at Oakley, IDA. **J Amer Dent Ass**, v. 20, p. 1137-1149, 1933.
80. MORENO, E.C.; KRESAK, M.; ZAHRADNIK, R.T. Physicochemical aspects of fluoride-apatite systems relevant to the study of dental caries. **Caries Res**, v. 11, Suppl. 1, p. 142-171, 1977.
81. OLIVEBY, A.; EKSTRAND, J.; LAGERLOF, F. Effect of salivary flow rate on salivary fluoride clearance after use of a fluoride-containing chewing gum. **Caries Res**, v. 21, n. 5, p. 393-401, 1987.

82. OPHAUG, R.H.; SINGER, L.; HARLAND, B.F. Estimated fluoride intake of 6-month-old infants in four dietary regions of the United States. **Amer J Clin Nutr**, v. 33, p. 324-327, 1980a.
83. PENDRYS, D.G.; KATZ, R.V. Risk of enamel fluorosis associated with fluoride supplementation, infant formula, and fluoride dentifrice use. **Amer J Epidemiol**, v. 130, n. 6, p. 1199-1208, 1989.
84. PEREIRA, A.C. et al. Dental caries and fluorosis prevalence study in a nonfluoridated Brazilian community: trend analysis and toothpaste association. **J Dent Child**, v. 67, n. 2, p. 132-135, 2000.
85. PESSAN, J.P.; SILVA, S.M.B.; BUZALAF, M.A.R. Urinary fluoride output following the use of fluoride dentifrice alone or combined to varnish. **Caries Res**, 2004. (in put)
86. RITSCHER, W.A. What is bioavailability? Philosophy of bioavailability testing. **Methods Find Exp Clin Pharmacol**, v. 16, p. 777-786, 1984.

87. ROLLA, G. On the role of calcium fluoride in the cariostatic mechanism of fluoride. **Acta Odontol Scand**, v. 46, n. 6, p. 341-345, Dec. 1988.
88. ROLLA, G.; OGAARD, B.; CRUZ, R.D.E.A. Clinical effect and mechanism of cariostatic action of fluoride-containing toothpastes: a review. **Int Dent J**, v. 41, n. 3, p. 171-174, Jun. 1991.
89. SALES-PERES, S.H.; BASTOS, J.R. An epidemiological profile of dental caries in 12-year-old children residing in cities with and without fluoridated water supply in the central western area of the State of Sao Paulo, Brazil. **Cad Saúde Pública**, v. 18, n. 5, p. 1281-1288, Sept.-Oct. 2002.
90. SILVA, P.R. et al. Avaliação do efeito de duas gomas da mascar fluoretadas na microbiota cariogênica da saliva e na placa. **Rev Assoc Paul Cir Dent**, v. 57, n. 1, p. 58-62, jan./fev. 2003.

91. SIMONS, D. et al. The effect so medicated chewing gums on oral health in frail older people: a 1-year clinical trial. **J Am Geriatr Soc**, v. 50, n. 8, p. 1348-1353, Aug. 2002.
92. SIMPSON, A.; SHAW, L.; SMITH, A.J. Tooth surface pH during drinking of black tea. **Br Dent J**, v. 190, n. 7, p. 374-376, Apr. 2001.
93. SJOGREN, K. et al. Fluoride and urea chewing gums in an intra-oral experimental caries model. **Caries Res**, v. 36, n. 1, p. 64-69, Jan.-Feb., 2002.
94. SJOGREN, K. et al. Salivary fluoride clearance after a single intake of fluoride tablets and chewing gums in children, adults, and dry mouth patients. **Scand J Dent Res**, v. 101, n. 5, p. 274-278, Oct. 1993.
95. SJOGREN, K. et al. Salivary fluoride concentration and plaque pH after using a fluoride-containing chewing gum. **Caries Res**, v. 31, n. 5, p. 366-372, 1997.

96. SKOTOWSKI, M.C.; HUNT, R.J.; LEVY, S.M. Risk factors for dental fluorosis in pediatric dental patients. **J Public Health Dent**, v. 55, n. 3, p. 154-159, 1995.
97. SONESSON, M.; ELIASSON, L.; MATSSON, L. Minor salivary gland secretion in children and adults. **Arch Oral Biol**, v. 48, n. 7, p.535-539, Jul. 2003.
98. SOUSA, M.L.R.; MARCENES, W.; SHEIHAM, A. Caries reductions related to the use of fluorides: a retrospective cohort study. **Int Dent J**, v. 52, n. 5, p. 315-320, 2002.
99. SZOKE, J.; PROSKIN, H.M., BANOCZY, J. Effect of after-meal sucrose-free gum-chewing on clinical caries. **J Dent Res**, v. 80, n. 8, p. 1725-1729, 2001.
100. SZOKE, J.; PROSKIN, H.M.; BANOCZY, J. Effect of chewing sugar-free gum on dental caries. **Fogorv Sz**, v. 95, n 1, p. 21-25, Feb. 2002.

101. TABARI, E.D. et al. Dental fluorosis in permanent incisor teeth in relation to water fluoridation, social deprivation and toothpaste use in infancy. **Br Dent J**, v. 189, n. 4, p. 216-220, 2000.
102. TAVES, D.R. Separation of fluoride by rapid diffusion using hexamethyldisiloxane. **Talanta**, v. 15, p. 969-974, 1968.
103. TELLEFSEN, G. et al. Use of chlorhexidine chewing gum significantly reduces dental plaque formation compared to use of similar xylitol and sorbitol products. **J Periodontol**, v. 67, n. 3, p. 181-183, Mar. 1996.
104. TEN CATE, J.M. Current concepts on the theories of the mechanism of action of fluoride. **Acta Odontol Scand**, v. 57, n. 6, p. 325-329, 1999.
105. TEN CATE, J.M. Review on fluoride, with special emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. **Eur J Oral Sci**, v. 105, p. 461-465, 1997.

106. TEN CATE, J.M.; FEATHERSTONE, J.D. Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. **Crit Rev Oral Biol Med**, v. 2, n. 3, p. 283-296, 1991.
107. THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. Clinical appearance of dental fluorosis in permanent teeth in relation to histological changes. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 6, p. 329-337, 1978.
108. TOUMBA, K.J. Slow-release devices for fluoride delivery to high-risk individuals. **Caries Res**, v. 35, p. 10-13, 2001. Supplement 1.
109. TSUTSUI, A.; YAGI, M.; HOROWITZ, A.M. The prevalence of dental caries and fluorosis in japanese communities with up to 1.4 ppm of naturally occurring fluoride. **J Public Health Dent**, v. 60, n. 3, p. 147-153, 2000.

110. VELAZQUEZ, M.O. et al. Changes in the prevalence of dental caries in schoolchildren in three regions of México: surveys from 1987-1988 and 1997-1998. **Rev Panam Salud Publica**, v. 13, n. 5, p. 320-326, May, 2003.
111. VILLA, A. et al. Fluoride bioavailability from disodium monofluorophosphate fluoridated milk in children and rats. **Caries Res**, v. 23, n. 3, p. 179-183, 1989.
112. VILLA, A.E. et al. Estimation of the fraction of an ingested dose of fluoride excreted through urine in pre-school children. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 27, n. 4, p. 305-312, Aug. 1999.
113. VILLA, A.E., ANABALON. M., CABEZAS, L. The fractional urinary fluoride excretion in young children under stable fluoride intake conditions. **Community Dent Oral Epidemiol**, v.28, n. 5, p. 344-355, Oct 2000
114. VILLENA, R.S.; BORGES, D.G.; CURY, J.A. Evaluation of fluoride content of bottled drinking waters in Brazil. **Rev Saúde Pública**, v. 30, n. 6, p. 512-518, Dez. 1996.

115. WANG, W.; BIAN, J.; CAO, C. A study on the bioavailability of fluoride added into milk. **Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi**, v. 36, n. 2, p. 116-118, Mar. 2001.
116. WARD, J.B. JR; HENDERSON, R.E. Identification of needs in biomarker research. **Environ Health Perspect**, v. 5, p. 895-900, Oct. 1996. Suppl. 104.
117. WHITFORD, G.M. Intake and metabolism of fluoride. **Adv Dent Res**, v. 8, n. 1, p. 5-14. Jun. 1994.
118. WHITFORD, G.M. **The metabolism and toxicity of fluoride**. 2nd ed. Karger, Basel, 1996.
119. WHITFORD, G.M. et al. Enamel uptake and patient exposure to fluoride: comparison of APF gel and foam. **Pediatr Dent**, v. 17, n. 3, p. 199-203, May-Jun. 1995.
120. WHITFORD, G.M. The physiological and toxicological characteristics of fluoride. **J Dent. Res**, v. 69, p. 539-549, 1990. Special issue.

121. WHITFORD, G.M.; THOMAS, J.E.; ADAIR, S.M. Fluoride in whole saliva, parotid ductal saliva and plasma in children. **Arch Oral Biol**, v. 44, n. 10, p. 785-788, Oct. 1999.
122. ZIMMER, S. Caries-preventive effects of fluoride products when used in conjunction with fluoride dentifrice. **Caries Res**, v. 35, p. 18-21, 2001. Suppl. 1.

ABSTRACT

ABSTRACT

“FLUORIDE KINETICS IN SALIVA, UPTAKE IN ENAMEL AND BIOAVAILABILITY AFTER USING A FLUORIDE CHEWING GUM”

There is a direct relationship between the use of fluoride and the prevention of dental decay. The purpose of this study was to evaluate the fluoride kinetics in saliva, uptake in enamel and bioavailability after using the chewing gum Happydent® (0.3 mg F as MFP). Methods: In first phase, ten 8-9 year-old children participated in this double-blind crossover study. They received professional prophylaxis and total saliva (baseline) was collected for 3 min. A circular area (0.9 mm diameter) was demarcated on the buccal surface of the maxillary central incisor and an enamel biopsy (baseline) was obtained using 5 μ L of 0.5 M HCl. After 15 sec, the acid was removed and added to 50 μ L TISAB. Two

separate rinses of the biopsy site, each using 5 μ L of 0.25 M NaOH was done. The total saliva was collected for 3 min after 3, 6, 9, 12 and 15 min, while chewing. After the last saliva sample was collected, another acid-etch biopsy was performed on the same tooth. F was analyzed with the ion-specific electrode. Phosphorus in the biopsies was analyzed spectrophotometrically. The mean result of F released in saliva was 0.187 mg/ml and the mean fluoride uptake in enamel after chewing was 1.475 mg/Kg. In second phase, after to fast for 12h, the volunteers chewing 3 gums Happydent[®] ($\cong$ 1 mg MFP) and samples of duct saliva was collected for 8 hours, in different times. The urine was collected one day before and during the experiment. Fluoride concentrations were analyzed after the electrode following HMDS-facilitated diffusion and the urine by direct method. Conclusions: Data suggest the capacity of fluoride uptake in enamel. However, the high concentration of fluoride in duct saliva after the use of Happydent[®] have capacity to elevate plasma fluoride levels, but not enough to detect in urine. The conclusion was that children at the age of risk to dental fluorosis should not use the chewing gum Happydent[®]. In addition, the regular use of this gum may be significant in the prevention of dental caries and this should be clinically evaluated.