

FORMAÇÃO DE “CaF₂-like” NO ESMALTE CARIADO PELA APLICAÇÃO PROFISSIONAL DE FLUORETO E SUA RETENÇÃO DURANTE O PROCESSO DE REMINERALIZAÇÃO

Palavras-Chave: FLUORETO; APLICAÇÃO TÓPICA; REMINERALIZAÇÃO

Autores(as):

Aluna: Karoline Nogueira Teodoro, FOP-UNICAMP

Co-orientadora: PG Deborah Rackel Caldas da Rocha Gaspar, FOP-UNICAMP

Co-autor: PG Matheus Gonçalves Assunção, FOP-UNICAMP

Orientador: Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury, FOP-UNICAMP

INTRODUÇÃO:

A aplicação profissional de fluoreto (APF) é respaldada por evidências científicas quanto ao seu efeito anticárie (Marinho et al., 2013), sendo seu mecanismo de ação atribuído principalmente à formação de fluoreto fracamente ligado tipo CaF₂ (“CaF₂-like”) (ten Cate, 1997). Essa forma de fluoreto atua reduzindo a desmineralização do esmalte sadio e ativando a remineralização do esmalte cariado (Øgaard et al., 1994; Tenuta et al., 2008).

Entretanto, a relevância clínica da APF na prevenção da desmineralização pode ser questionada, considerando que cerca de 90% dos depósitos de “CaF₂-like” formados no esmalte cariado se dissolvem na saliva nas primeiras 48 h após a aplicação (Tenuta et al., 2008). Essa rápida dissolução decorre do fato de a saliva ser subsaturada em relação ao fluoreto de cálcio (Saxegaard et al., 1988).

Dessa forma, hipotetiza-se que os produtos liberados nas primeiras horas após a APF tenham maior relevância no estímulo à remineralização de lesões já existentes (“efeito terapêutico”), do que na prevenção de novas lesões. Esse efeito poderia ser indiretamente avaliado pelas concentrações de “CaF₂-like” formadas no esmalte cariado, bem como pela fração residual após a exposição salivar e pela porção retida durante o processo de remineralização. Essa análise contribuiria para compreender o quanto da lesão pode ser remineralizado logo após a aplicação e o quanto permanece disponível para modular novos desafios cariogênicos.

OBJETIVO:

Determinar as concentrações de “CaF₂-like” formadas no esmalte cariado, bem como a fração residual após a exposição à saliva e a quantidade retida durante o processo de remineralização, como indicadores da eficácia anticárie da aplicação tópica profissional de fluoreto (ATPF).

METODOLOGIA:

Foi conduzido um estudo *in vitro* utilizando blocos de esmalte bovino com lesões subsuperficiais de cárie (n = 7 por grupo), tratados com placebo (H₃PO₄, pH 4,5) ou com fluoreto fosfato acidulado (FFA – 12.300 ppm F, pH 4,5). Após a aplicação tópica profissional de fluoreto (ATPF) ou do placebo, os blocos foram submetidos a fluxo contínuo de saliva artificial para simular a dissolução dos depósitos de fluoreto fracamente ligado (“CaF₂-like”) que ocorre na cavidade bucal nas primeiras 24 e 48 horas após a aplicação. Com isso, foram definidos seis subgrupos experimentais:

1. P-0h (placebo, sem exposição salivar);
2. P-24h (placebo, após 24h de saliva);
3. P-48h (placebo, após 48h de saliva);
4. ATPF-0h;

5. ATPF-24h;
6. ATPF-48h.

Posteriormente, os blocos foram submetidos à ciclagem de pH utilizando um modelo validado de desmineralização (Re>Des), que simula condições de menor desafio cariogênico. Para isso, empregaram-se soluções: **Desmineralizante:** 1,28 mmol/L de Ca, 0,74 mmol/L de P, 0,03 µg F/mL, 0,1 mol/L de tampão acetato, pH 5,0. **Remineralizante:** 1,5 mmol/L de Ca, 0,9 mmol/L de P, 150 mmol/L de KCl, 0,05 mg F/mL em 0,1 mol/L de tampão Tris, pH 7,0.

A ciclagem consistiu em imersão diária dos blocos por 2 horas na solução desmineralizante e 22 horas na remineralizante, totalizando 8 ciclos (dias). Ao final da ciclagem, a concentração de “CaF₂-like” foi determinada nos blocos de esmalte e nas soluções de ciclagem, como indicador da liberação de fluoreto dos reservatórios. Para isso, os blocos foram individualmente imersos em 0,25 mL de KOH 1,0 mol/L sob agitação à temperatura ambiente por 24 horas (Caslavská et al., 1975). Após esse período, os extratos foram neutralizados e tamponados com 0,25 mL de TISAB II contendo HCl 1,0 mol/L, sendo então analisados por eletrodo íon-específico para fluoreto e analisador de íons, previamente calibrados com padrões de 0,031 a 4,00 µg F/mL em KOH 0,5 mol/L e TISAB II (com HCl 1 mol/L), na proporção 1:1 (v/v). A quantidade de “CaF₂-like” formada foi expressa como concentração de fluoreto por área de esmalte tratado (µg F/cm²).

A seguir, foi determinada a área líquida de desmineralização (ΔΔS) por meio de análise de microdureza. Os blocos foram seccionados longitudinalmente, obtendo-se dois hemiblocos. Um deles não foi exposto à saliva nem à ciclagem de pH (ΔS não exposto), enquanto o outro foi submetido a ambos os tratamentos (ΔS exposto). A área líquida de desmineralização foi calculada como ΔΔS = ΔS exposto – ΔS não exposto. Cada hemibloco foi embutido em resina acrílica e a superfície de corte foi polida. Em cada um, foram realizadas três linhas paralelas de 13 indentações cada, utilizando um indentador Knoop com carga de 25 g por 5 segundos, iniciando-se a 10 µm da superfície externa do esmalte até 300 µm de profundidade, com espaçamento de 100 µm entre as linhas. Os valores médios obtidos em cada ponto foram utilizados para cálculo da média final. Os dados de ΔΔS e de concentração de “CaF₂-like” foram analisados por ANOVA de dois fatores, seguida pelo teste de Tukey (α = 5%).

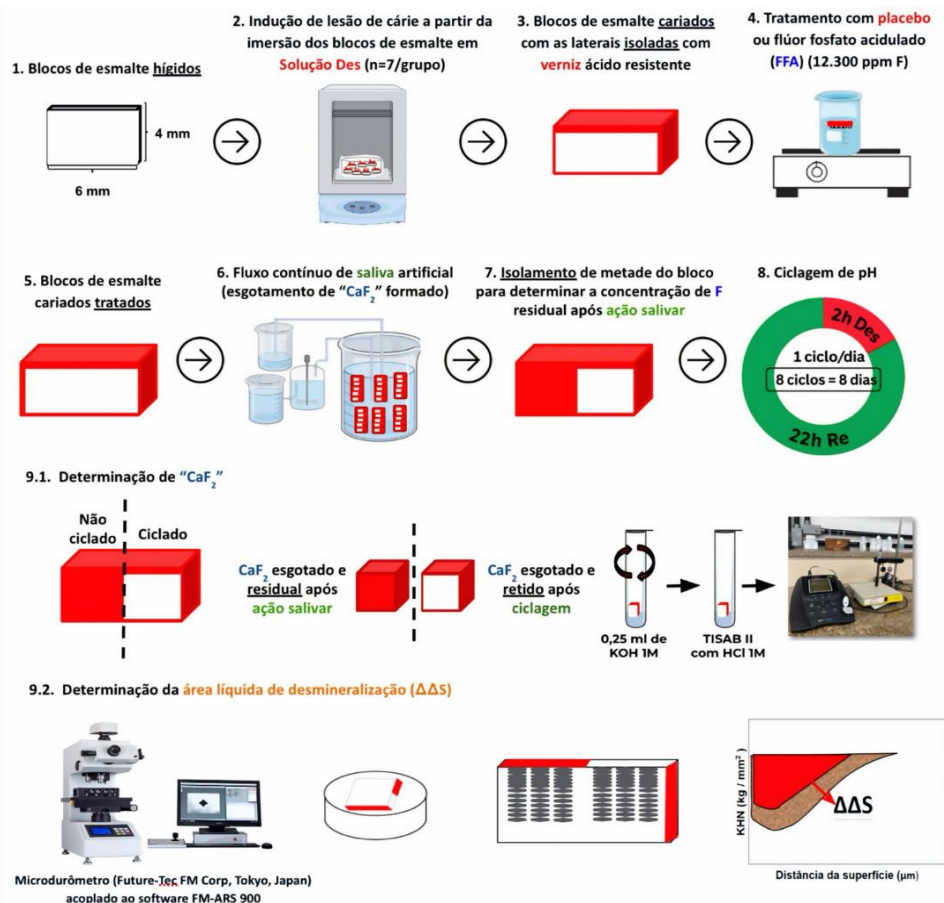


Figura 1. Fluxograma do experimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A **Figura 2** apresenta as médias ($\pm$ dp; $n = 7$ por grupo) da concentração de fluoreto ($\mu\text{g F/cm}^2$) na forma de “CaF₂-like” nos blocos tratados com placebo e com ATPF, nos tempos 0 h, 24 h e 48 h de imersão em saliva artificial, **sem** exposição à ciclagem de pH. Observa-se que, nos blocos tratados com ATPF, a concentração inicial de “CaF₂-like” foi **drasticamente reduzida** após 24 horas de imersão em saliva ($\sim 96\%$), mantendo-se baixa até 48 horas. Os valores médios observados foram:

1. $0,6 \pm 0,4$ A,a;
2. $1,0 \pm 0,5$ A,a;
3. $0,3 \pm 0,1$ A,a;
4. $77,6 \pm 52,1$ B,a;
5. $3,3 \pm 3,1$ A,b;
6. $5,9 \pm 1,8$ A,b.

Essa redução é explicada pelo fato de que a saliva é subsaturada em relação ao “CaF₂-like” depositado no esmalte após a ATPF, promovendo sua dissolução rápida.

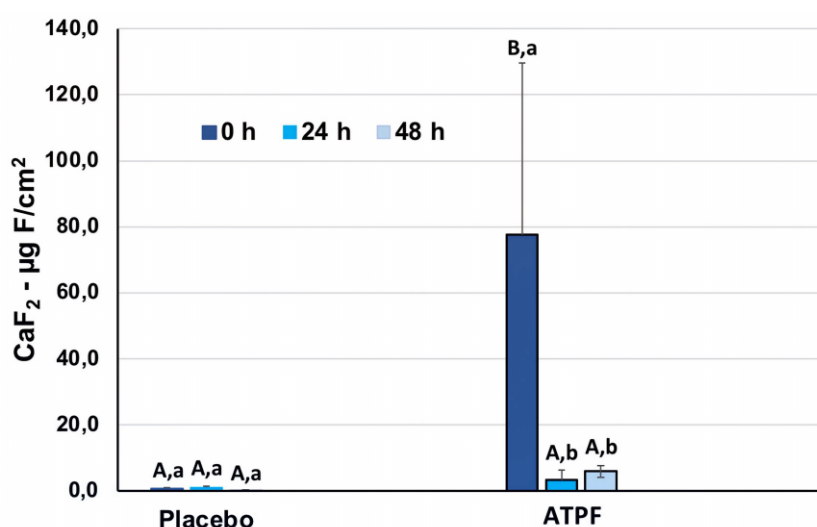


Figura 2. Média ($\pm$ dp; $n = 7$ por grupo) da concentração de “CaF₂-like” ($\mu\text{g F/cm}^2$) no esmalte dos blocos tratados com placebo ou ATPF, antes (0 h) e após 24 h e 48 h de imersão em saliva artificial, sem ciclagem de pH. Letras **maiúsculas** indicam diferenças significativas entre os tratamentos (placebo vs. ATPF); letras **minúsculas**, entre os tempos dentro de cada tratamento (ANOVA e teste de Tukey, $p < 0,05$).

A **Figura 3** mostra a concentração residual de “CaF₂-like” nos mesmos subgrupos após a exposição à **ciclagem de pH**, com os dados comparáveis aos da Figura 2. Verifica-se que, para os subgrupos ATPF-24h e ATPF-48h, a concentração já era baixa após a imersão em saliva, mantendo-se assim mesmo após a ciclagem. Os valores médios foram:

1. $0,5 \pm 0,1$ A,a;
2. $0,8 \pm 0,2$ A,a;
3. $0,6 \pm 0,2$ A,a;
4. $4,5 \pm 5,3$ B,a;
5. $1,0 \pm 0,7$ A,b;
6. $2,0 \pm 0,4$ B,a.

A maior redução ocorreu no subgrupo ATPF-0h ($\sim 95\%$), o que se explica pelo fato de que as soluções desmineralizante e remineralizante são também subsaturadas em relação ao “CaF₂-like”. Assim, a dissolução desses depósitos durante a ciclagem libera fluoreto, que pode favorecer a remineralização promovida pela solução Re-, supersaturada em íons Ca e Pi. Por outro lado, nos subgrupos ATPF-24h e ATPF-48h, a maior parte do “CaF₂-like” já

havia sido dissolvida pela saliva, resultando em menores concentrações residuais e menor disponibilidade de fluoreto para o processo de remineralização.

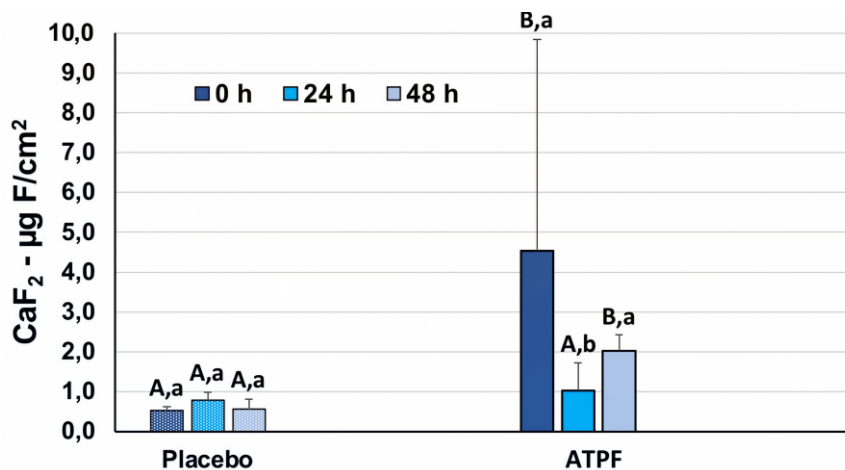


Figura 3. Média ($\pm$ dp; n = 7 por grupo) da concentração residual de “CaF₂-like” (μ g F/cm²) no esmalte dos blocos tratados com placebo ou ATPF, após imersão em saliva artificial por 0 h, 24 h ou 48 h, seguida de ciclagem de pH. Letras **maiúsculas** indicam diferenças entre tratamentos; letras **minúsculas**, entre os tempos dentro de cada tratamento (p < 0,05).

A **Figura 4** apresenta os valores da **área líquida de desmineralização ($\Delta\Delta S$, Kg/mm² × μ m)** nos blocos de esmalte tratados com placebo ou ATPF, nos diferentes tempos de imersão em saliva e após a ciclagem de pH. Os valores observados foram:

1. 1497,0 $\pm$ 5100,4 A,a;
2. 278,0 $\pm$ 2345,7 A,a;
3. 2575,0 $\pm$ 1810,5 A,a;
4. -6128,3 $\pm$ 2571,8 B,a;
5. -2693,6 $\pm$ 4322,4 AB,ab;
6. -1180,9 $\pm$ 1370,7 A,b.

Valores **negativos** de $\Delta\Delta S$ indicam **ganho mineral** em relação ao estado inicial dos blocos (efeito remineralizante), enquanto valores **positivos** indicam perda mineral (desmineralização). Assim, os blocos tratados com ATPF apresentaram remineralização significativa, especialmente no subgrupo ATPF-0h, que mostrou a maior retenção de “CaF₂-like” e o maior ganho mineral. Já os blocos tratados com placebo exibiram perda mineral, conforme esperado, pois o tratamento não continha fluoreto. Essa correlação reforça o papel do “CaF₂-like” como **reservatório de fluoreto disponível** para remineralização em ambientes com desafios cariogênicos moderados.

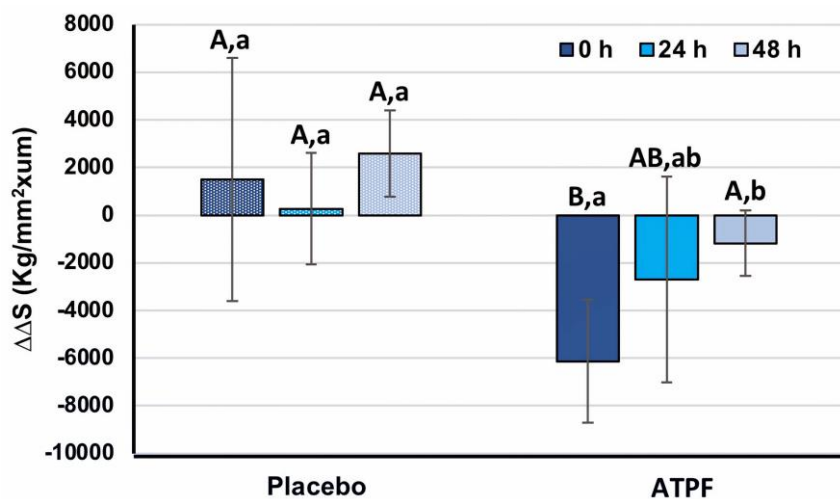


Figura 4. Área líquida de desmineralização ($\Delta\Delta S$) dos blocos de esmalte bovino (Kg/mm² × μ m) tratados com placebo ou ATPF (n = 7 por grupo), submetidos à imersão em saliva por diferentes tempos (0 h, 24 h e 48 h) e à ciclagem de pH no modelo Re > Des.

CONCLUSÃO:

A rápida dissolução do “CaF₂-like” nas primeiras 24–48 horas após a aplicação sugere que o efeito remineralizante da aplicação tópica profissional de fluoreto (ATPF) sobre lesões de mancha branca ocorre predominantemente nas primeiras horas após o procedimento.

BIBLIOGRAFIA

1. BRUUN, C.; GIVSKOV, H. Formation of calcium fluoride in enamel from semi- or low-concentrated fluoride agents in vitro. *Caries Research*, v. 27, n. 2, p. 96-99, 1993. doi: 10.1159/000261524.
2. CASLAVSKA, V.; MORENO, E. C.; BRUDEVOLD, F. Determination of the calcium fluoride formed from in vitro exposure of human enamel to fluoride solutions. *Archives of Oral Biology*, v. 20, p. 333-339, 1975.
3. DEL BEL CURY, A. A.; CERZETTI, R. V.; TENUTA, L. M. A.; OLIVEIRA, T. J.; CURY, J. A. Fluoride release to plaque fluid from enamel treated with fluoride gel and varnish. *Caries Research*, 58th ORCA Congress Abstract, 2011.
4. MARINHO, V. C.; WORTHINGTON, H. V.; WALSH, T.; CHONG, L. Y. Fluoride gels for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, v. 2015, n. 6, CD002280, 2015. doi: 10.1002/14651858.CD002280.pub2.
5. MARINHO, V. C.; WORTHINGTON, H. V.; WALSH, T.; CLARKSON, J. E. Fluoride varnishes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, v. 2013, n. 7, CD002279, 2013. doi: 10.1002/14651858.CD002279.pub2.
6. MELLBERG, J. R. Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *Journal of Dental Research*, v. 71, p. 913-919, abr. 1992. doi: 10.1177/002203459207100S25.
7. OGAARD, B.; RÖLLA, G.; DIJKMAN, T.; RUBEN, J.; ARENDS, J. Effect of fluoride mouthrinsing on caries lesion development in shark enamel: an in-situ caries model study. *Scandinavian Journal of Dental Research*, v. 99, n. 5, p. 372-377, 1991. doi: 10.1111/j.1600-0722.1991.tb01043.x.
8. OGAARD, B.; RÖLLA, G.; RUBEN, J.; ARENDS, J. Relative cariostatic effects of KOH-soluble and KOH-insoluble fluoride in situ. *Journal of Dental Research*, v. 69, n. 8, p. 1505-1507, 1990. doi: 10.1177/00220345900690081101.
9. QUEIROZ, C. S.; HARA, A. T.; PAES LEME, A. F.; CURY, J. A. pH-cycling models to evaluate the effect of low fluoride dentifrice on enamel de- and remineralization. *Brazilian Dental Journal*, v. 19, p. 21-27, 2008.
10. SAXEGAARD, E.; RÖLLA, G. Kinetics of acquisition and loss of calcium fluoride by enamel in vivo. *Caries Research*, v. 23, n. 6, p. 406-411, 1989. doi: 10.1159/000261218.
11. SCHWENDICKE, F.; SPLIETH, C.; BRESCHI, L.; BANERJEE, A.; FONTANA, M.; PARIS, S. et al. When to intervene in the caries process? An expert Delphi consensus statement. *Clinical Oral Investigations*, v. 23, n. 10, p. 3691-3703, out. 2019. doi: 10.1007/s00784-019-03058-w.
12. TEN CATE, J. M.; DUIJSTERS, P. P. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Research*, v. 16, n. 3, p. 201-210, 1982. doi: 10.1159/000260599.
13. TEN CATE, J. M. Review on fluoride, with special emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. *European Journal of Oral Sciences*, v. 105, n. 5 Pt 2, p. 461-465, out. 1997. doi: 10.1111/j.1600-0722.1997.tb00231.x.
14. TENUTA, L. M.; CERZETTI, R. V.; DEL BEL CURY, A. A.; TABCHOURY, C. P.; CURY, J. A. Fluoride release from calcium fluoride and enamel demineralization. *Journal of Dental Research*, v. 87, n. 11, p. 1032-1036, 2008. doi: 10.1177/154405910808701105.
15. WEYANT, R. J.; TRACY, S. L.; ANSELMO, T. T.; BELTRÁN-AGUILAR, E. D.; DONLY, K. J. et al. American Dental Association Council on Scientific Affairs Expert Panel on Topical Fluoride Caries Preventive Agents. Topical fluoride for caries prevention: executive summary of the updated clinical recommendations and supporting systematic review. *Journal of the American Dental Association*, v. 144, n. 11, p. 1279-1291, nov. 2013. doi: 10.14219/jada.archive.2013.0057.