

JOSE CARLOS SILVA ³⁸

**Estudo *in vitro* do efeito da relação F^-/MFP
na reatividade de dentifrícios com esmalte dental
humano e sua interferência com os fenômenos
de desmineralização e remineralização**

Tese apresentada a Faculdade de Odontologia
de Piracicaba, Universidade Estadual
de Campinas, para obtenção do título de
Doutor em Ciências; Área de concentração
em Biologia e Patologia Buco - Dental

PIRACICABA - SP
1992

Si38e

16451/BC

JOSE CARLOS SILVA

Este trabalho foi
devidamente revisado conforme
Resolução CCPE/UNICAMP/036/83
Piracicaba, 22 de abril de 1992
Jaime A. Cury

Jaime A. Cury
Professor de Bioquímica
FQP - UNICAMP

**Estudo *in vitro* do efeito da relação F⁻/MFP
na reatividade de dentifrícios com esmalte dental
humano e sua interferência com os fenômenos
de desmineralização e remineralização**

ORIENTADOR: PROF. DR. JAIME A. CURY

Tese apresentada a Faculdade de Odontologia
de Piracicaba, Universidade Estadual
de Campinas, para obtenção do título de
Doutor em Ciências: Área de concentração
em Biologia e Patologia Buco - Dental

PIRACICABA - SP
1992

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

A presente Tese foi apresentada à faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, em exame para obtenção do título de Doutor, no dia 14 de fevereiro de 1992 e considerada aprovada, tendo sido examinadores:

- Jaime Aparecido Cury** - Professor Adjunto de Bioquímica
- FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE
PIRACICABA - UNICAMP.
- Dejanira Francheschi de Angelis** - Professora Assistente Doutora
de Microbiologia - INSTITUTO DE
BIOCIÊNCIAS - UNESP - RIO
CLARO.
- Celso Paulino da Costa** - Professor Assistente Doutor de
Microbiologia e Imunologia -
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE
PIRACICABA - UNICAMP.
- Heitor Panzeri** - Professor Titular de Materiais
Dentários - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO -
USP.
- Luiz Eduardo Gutierrez** - Professor Titular de Bioquímica
- ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA
"LUIZ DE QUEIROZ" - USP.

Este exemplar foi devidamente corrigido conforme
Resolução CCPG/UNICAMP 036/83.

Piracicaba, 18 de fevereiro de 1992.



Jaime A. Cury
Professor de Bioquímica
FOP - UNICAMP

A Glauce Maria
minha esposa
e

a Carlos Alberto
Zhiago e
Diego

meus filhos.

AGRADECIMENTOS

A todos os docentes do curso de Pós-graduação em BIOLOGIA e PATOLOGIA BUCO-DENTAL, pela participação marcante na minha formação.

Ao Prof. Dr. JAIME APARECIDO CURY, Professor adjunto da Área de Bioquímica do Departamento de Ciências Fisiológicas da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP - que nas diversas etapas desse trabalho, nos ofereceu orientação científica segura, discernimento criterioso, estímulo e amizade.

Ao Prof. Dr. OSLEI PAES DE ALMEIDA, Professor Titular da Área de Patologia do Departamento de Diagnóstico Oral da Faculdade de Odontologia de Piracicaba pelo estímulo e amizade.

Ao Cirurgião Dentista JAIR APARECIDO DA SILVA, Bolsista de Iniciação Científica da FAPESP, colega de trabalho nas diversas etapas dessa pesquisa, pelas críticas, sugestões e companheirismo.

Ao Prof. Dr. IDEONOR NOVAES CONCEIÇÃO e LEVI BUENO, Departamento de Engenharia de Materiais Universidade Federal de São Carlos UFSCar pelo apoio na elaboração dos corpos de prova.

Ao Eng^o FERNANDO J. G. LANDGRAF, Divisão de Metalurgia do Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S.A. pelo apoio nos testes de microdureza.

Ao Prof. HONORIO CANCELIERI, Laboratório de Materiais de Construção Mecânica - Departamento de Engenharia Mecânica - Centro de Tecnologia da Universidade Metodista de Piracicaba - UNIMEP - pelo apoio na elaboração final dos corpos de prova e fotomicrografias.

Aos Professores ANTONIO LUIZ RODRIGUES e RONALDO SEICHI WADA, respectivamente, das Faculdades de Odontologia de Araraquara e Piracicaba, pela colaboração na análise estatística.

Ao inestimável apoio técnico da Sra. MARIZA DE JESUS CARLOS SOARES, do Sr. WALDOMIRO VIEIRA FILHO, do laboratório de Bioquímica Oral - Departamento de Ciências Fisiológicas - Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

Aos Srs. JOSÉ EDENIL GOMES DOS SANTOS e RONALD DIRCEU MANOEL, do Laboratório de Materiais de Construção Mecânica da Universidade Metodista de Piracicaba.

À Sra. SUELI DUARTE DE OLIVEIRA SOLIANI, bibliotecária da Faculdade de Odontologia de Piracicaba pela correção das Referências Bibliográficas.

À UNIMEP - Universidade Metodista de Piracicaba - por ter possibilitado a realização do Curso de Pós-Graduação.

A ANAKOL Ind. Com. Ltda pela colaboração na formulação dos dentífricos.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	02
PROPOSIÇÃO	04
REVISÃO DA LITERATURA	06
MATERIAIS E MÉTODOS	18
RESULTADOS	24
DISCUSSÃO	36
CONCLUSÕES	41
RESUMO	43
SUMMARY	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

Tem sido atribuído à adição de flúor* aos dentífricos, no início da década de 70, como o fator preponderante para o declínio de cárie dental observada nos últimos 10-20 anos na maioria dos países desenvolvidos (RÖLLA et al. , 1990), o que tem motivado o lançamento de grande variedade de produtos com a consequente divisão de mercado (MELLBERG, 1991). Assim sendo, a possibilidade de avaliar previamente um dentífrico, em termos de seu benefício cariostático, deve ser considerada por razões de tempo, custo, seleção prévia, equivalência e éticas (RAVEN et al. , 1991).

O desenvolvimento do monofluorofosfato (MFP) solucionou um dos problemas de formulação de dentífricos, em termos de incompatibilidade química do flúor proveniente do NaF (F^-) e os sistemas abrasivos (ERICSSON, 1961). Posteriormente foram desenvolvidos dentífricos compatíveis com F^- iniciando uma disputa da importância relativa destas duas formas químicas de flúor e das associações delas no controle da doença cárie (MELLBERG, 1990; STOOKEY, 1990). A princípio, tendo em vista o fato de que os mecanismos de ação do F^- e MFP seriam diferentes (JONGEBLOED et al. , 1975; BENTON et al. , 1980; ARENDS et al. , 1984), poderia haver um sinergismo de efeito da mistura de ambos.

Assim FORWARD (1980) relatou um pico de atividade de formação de fluorhidroxiapatita na hidroxiapatita quando de uma proporção ideal de 60% de F^- como NaF e 40% de F como MFP. Entretanto resultados conflitantes tem sido obtidos com relação a eficiência clínica da associação em termos de redução de cárie. Enquanto que HODGE et al. (1980), MAINWARING & NAYLOR (1983) e DIODATI et al. (1986) relataram benefícios da associação, JULIANO et al. (1985) e RIPA et al. (1987) não mostraram superioridade da mistura em comparação com dentífrico convencional (MFP). Deste modo justifica-se trabalho para colaborar no esclarecimento do assunto.

* - Termo genérico para definir as formas iônica (ion flúor, fluoreto), ionizável e não ionizável do elemento flúor.

PROPOSIÇÃO

PROPOSIÇÃO

Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da relação F^-/MFP na reatividade com o esmalte dental e sua interferência com os fenômenos de desmineralização (Des-) e remineralização (Re-).

REVISÃO DA LITERATURA

REVISÃO DE LITERATURA

Da descoberta casual da relação entre a presença de flúor natural na água e a menor prevalência de cárie da população que a consumia, milhares de pesquisas tem sido realizadas para elucidar os mecanismos pelos quais este efeito é exercido. Até pouco tempo atrás considerava-se como fundamental a presença de flúor fortemente ligado ao esmalte (FEJERSKOV et al. , 1981) enquanto que no presente tem sido evidenciada a importância da forma fracamente ligada (OGAARD et al. , 1990). Por outro lado, importância maior é atribuída à capacidade de concentrações baixas de flúor interferirem com os fenômenos de Des-Re (TEN CATE, 1990) inibindo o primeiro e principalmente ativando o segundo (BELTRAN & BURT, 1988).

Assim sendo, a avaliação dos meios de usar flúor acompanhou estas mudanças, e nesta revisão será focado para dentifrícios em termos laboratoriais e de testes *in situ* em relação a atividade do flúor dos mesmos.

Em 1961, ERICSSON estudou a incorporação de ^{18}F no esmalte dental (pulverizado e íntegro) a partir da suspensão de dentifrícios, tendo observado maior atividade do $\text{F}^-(\text{NaF})$ em relação ao MFP ($\text{Na}_2\text{PO}_3\text{F}$).

HAGEN (1972) avaliou a deposição de ^{18}F no pó de esmalte tratado com dentifrícios, concluindo ser a mesma função de propriedades físico-químicas de solubilidade da fluorapatita. Segundo o autor o valor do dentifrício com NaF seria maior do que o com MFP, no entanto não somente a composição química do dentifrício é importante, mas também devem ser consideradas suas propriedades físicas.

Em 1974, PEARCE avaliou os dentifrícios vendidos na Nova Zelândia concluindo serem todas capazes de aumentar a concentração de flúor no pó de esmalte dental bovino, havendo entretanto considerável diferença de capacidade, além do fato de que o grau de incorporação foi função da concentração de flúor na forma iônica presente no dentifrício.

PEARCE em 1975 utilizando ^{18}F concluiu que de 92-72% do flúor assimilado pelo pó de esmalte bovino era proveniente do flúor iônico presente no dentifrício.

Entretanto, INGRAN (1977) mostrou que tanto o F^- como o MFP eram capazes de reagir com o esmalte dental, e além do mais o ânion MFP teria atividade anticárie própria.

Em 1977, BOLDEPERSON et al. mostraram evidências de que a concentração de hidroxiapatita fluoretada formada *in vitro* no esmalte dental pelo pré-tratamento por 1 minuto pode prever o desempenho clínico de pastas fluoretadas.

KIRKEGAARD (1977) estudou *in vitro* a incorporação de flúor em esmalte de dentes humanos tratados com 4 dentifrícios comerciais observando um pequeno aumento da concentração de flúor total na superfície (5 μm) dental e concluindo que esta deveria ser a razão para a redução moderada de cárie obtida com o uso diário de pastas fluoretadas.

FORWARD (1980) relata que *in vitro* a avaliação de dentifrícios fluoretados deve ser feita em condições que simulem o que ocorre *in vivo* para que a mesma tenha algum significado. Assim o tempo de pré-tratamento de 1 min e o preparo do dentifrício em saliva (1:3) são fundamentais, relatando que as diferenças anticárie de dois dentifrícios com MFP correlaciona-se com a capacidade dos mesmos em formar FHA na hidroxiapatita tratada nas condições supracitadas.

A partir da constatação de que os resultados clínicos de redução de cárie com dentifrícios fluoretados não tinham relação com a concentração de flúor obtida nos dentes sadios (sem sinal clínico de cárie), ao contrário da encontrada no esmalte dos dentes com lesão inicial de cárie (mancha branca), MOBLEY (1981) estudou *in situ* a incorporação de flúor em esmalte dental com lesão artificial de cárie. Discos de esmalte dental foram colocados em próteses parciais de 11 voluntários. Após 2 semanas de escovação com os dentifrícios selecionados observou-se que a incorporação de flúor no esmalte apresentava correlação com o desempenho clínico de redução de cárie dos mesmos (NaF-silica superior a SnF_2 -pirofosfato de cálcio).

Em 1982 MELLBERG & CHOMICKI relataram os resultados da incorporação *in vitro* de flúor no esmalte íntegro, parcialmente desmineralizado e com lesão artificial de mancha branca, a partir do tratamento com dentifrícios contendo MFP. Eles observaram que a deposição de flúor no esmalte íntegro decresceu enquanto houve aumento de incorporação no esmalte parcialmente desmineralizado e com lesão artificial de mancha branca. Para tal a relação molar Ca:MFP deveria ser 0,5.

De acordo com MELLBERG & RIPA (1983) a avaliação inicial de dentifrícios é feita por testes laboratoriais, entre os quais inclui-se a deposição de fluoreto no esmalte dental.

Em 1983, MELLBERG & CHOMICKI estudaram a incorporação de flúor em lesões artificiais de cárie de blocos de dentes humanos colocados em próteses parciais de seis voluntários, observando que as concentrações de flúor, em camadas finas de esmalte removidas desde a superfície, eram semelhantes para os tratamentos com dentifrícios contendo MFP ou F^- .

Em artigo de revisão sobre observações laboratoriais com preparações orais contendo monofluorofosfato de sódio, MELLBERG (1983) relata que os resultados discrepantes, *in vitro* e *in vivo*, de incorporação de fluoreto no esmalte a partir do MFP, talvez possa ser explicado pela hidrólise enzimática do mesmo pela ação de fosfatases bucais ou pelo efeito do cálcio salivar.

SAKKAB et al. (1984) levantaram a hipótese de que o efeito do flúor está na sua capacidade em controlar a taxa de remineralização de áreas de esmalte previamente desmineralizadas, uma vez que o desempenho clínico de redução de cárie de dentifrícios fluoretados correlacionasse com a concentração de fluoreto dos dentes decíduos com manchas brancas e não com a encontrada nos dentes integros. Ao contrário dos trabalhos passados em que os autores utilizaram ácidos para remover camadas de esmalte e assim determinar o flúor depositado, neste trabalho fez-se a remoção mecânica de microquantidades de esmalte de uma área definida da superfície dental.

MELLBERG & MALLON (1984) avaliaram *in vitro* a remineralização do esmalte dental humano com lesão artificial de cárie quando tratados com dentifrícios, contendo MFP ou MFP-CaCl₂ (Ca:F= 0,5) em comparação com um placebo, observando por microrradiografia, respectivamente, 13,7, 31,5 e 50,6% de remineralização.

Estudando *in situ* a incorporação de fluoreto em esmalte humano parcialmente desmineralizado e tratado com 6 dentifrícios, REINTSEMA et al. (1985) observaram que o uso de dentifrícios fluoretados aumenta a concentração de F no esmalte da ordem de 2-3 vezes mais do que o uso de pasta não fluoretada, sendo que a incorporação maior foi obtida com dentifrício contendo NaF. Neste mesmo estudo observou-se 8,89 $\mu\text{gF}/\text{cm}^2$ no esmalte dos pacientes que utilizaram dentifrícios contendo 1450 ppmF (1000 como MFP e 450 como NaF) e 7,89 quando do uso de dentifrícios com MFP.

SMITS & ARENDS (1985) estudaram *in situ* a remineralização da superfície do esmalte dental, amolecido por solução tampão pH 5,0, após a utilização de dentifrícios por 26 dias, constatando um reendurecimento entretanto não houve diferença entre as dentifrícios placebo e com 500 ppmF contendo ou não xilitol.

Avaliando *in situ* a incorporação de flúor no esmalte com lesão incipiente de cárie após a utilização de dentifrícios fluoretados, STDOKEY et al. (1985) relataram que todos eles depositaram quantidades significativas de fluoreto no esmalte, mas o dentifrício com NaF-SiO_2 foi o mais eficiente em comparação com o contendo MFP.

DUKE & FORWARD (1985) mostraram uma correlação entre a atividade anticárie de dentifrícios contendo MFP e o desempenho laboratorial dos mesmos em termos da formação de hidroxiapatita fluoretada (FHA - forma insolúvel em álcali) quando de reatividade *in vitro* em condições simulando o ato de escovação (pré-tratamento de 1 min e presença de saliva). Segundo os autores a correlação obedece a equação:

$$\% \text{ REDUÇÃO COS} = 0,17 (\text{PPMF NA FORMA DE FHA}) - 1,80$$

Sendo: COS = Faces dentais cariadas e obturadas;

FHA = Forma álcali insolúvel de flúor formado na hidroxiapatita.

Estudando *in situ* a incorporação de fluoreto no esmalte com lesão artificial de cárie após o tratamento com dentifrícios contendo MFP e MFP-Ca (Ca:F = 0,5), MELLBERG & CHOMICKI (1985) relataram resultados significativos em relação ao placebo, porém inferiores aos obtidos *in vitro*.

Em 1985, o Conselho de Terapêutica Dental da Associação Dental Americana (USA) publicou orientações para avaliação de dentifrícios contendo flúor, dentro de 5 categorias: a) Estudo de cárie em animais; b) Disponibilidade e estabilidade do fluoreto; c) Biodisponibilidade do fluoreto no esmalte; d) Capacidade remineralizante do produto e e) Capacidade do produto em inibir a desmineralização.

STOOKEY (1985) revisou trabalhos clínicos e laboratoriais feitos com dentifrícios fluoretados concluindo que todos eram iguais em termos de magnitude dos seus benefícios cariostáticos, mas os dentifrícios com NaF, quando formulados para fornecer alto nível de fluoreto disponível e biologicamente ativo, eram os mais efetivos.

Em continuidade a outros trabalhos de análise dos 5 dentifrícios fluoretados brasileiros (PANZERI et alii, 1979; CURY et alii, 1981; ROLDI & CURY, 1986; CURY, 1986), TEIXEIRA & CURY (1986) avaliaram, em condições laboratoriais simulando o ato de escovação, a atividade do flúor das pastas em termos de formação de flúor fracamente ligado (= solúvel em álcali = "CaF₂") e fortemente ligado (= insolúvel em álcali = AF = FHA) no esmalte dental humano, mostrando haver diferença entre elas.

Utilizando um modelo *in vitro* de ciclagens de pH, simulando o que ocorre *in vivo* na placa dental quando da ingestão de açúcar, TEN CATE & SIMONS (1986) concluíram que o efeito dos dentifrícios nos processos de desmineralização (Des-) e remineralização (Re-) e a eficácia de incorporação no esmalte mantinham-se inalteradas a partir de 300 ppm de F nos dentifrícios.

FEATHERSTONE et al. (1986) desenvolveram um modelo de Des-Re que *in vitro* mimetiza *in vivo* condições de alto desafio cariogênico (uso de bandas ortodônticas), mostrando que uma pasta de dente com NaF proporcionou melhor proteção do que a com MFP, quando se avaliou por microdureza as perdas de mineral de secções de dentes submetidos às ciclagens por 14 dias e tratados por 5 min com dentifrícios.

A remineralização e incorporação de fluoreto em lesões artificiais de cárie foi estudada *in situ* por De KLOET et al. (1986) após 6 semanas de uso de dentifrício com 300 ou 1000 ppmF, concluindo os autores não haver segurança para que a concentração de flúor nas pastas de dente possa ser diminuída.

TEN CATE & REMPT (1986) avaliaram *in situ*, após 6 semanas o efeito de uma pasta de dente com 1500 ppmF com MFP, em termos de remineralização, flúor incorporado e susceptibilidade a desmineralização de blocos de esmalte bovino com lesão artificial de cárie colocados em próteses parciais de voluntários. Significativa deposição de flúor e redução de solubilidade foram observadas no esmalte tratado com o dentífrico fluoretado, entretanto não houve diferença significativa em termos do conteúdo mineral.

O reendurecimento superficial do esmalte dental humano foi avaliado *in vitro* por GERRARD & WINTER (1986) após ciclagens de Des-Re e tratamentos com dentífricos fluoretados. De acordo com os autores as pastas com NaF ou MFP tiveram comportamento semelhante, entretanto o dentífrico tendo glicerofosfato de cálcio como aditivo foi superior.

WHITE & FALLER (1986) estudaram, *in vitro*, a incorporação de fluoreto em dentes humanos com lesão artificial inicial de cárie após o tratamento com vários dentífricos fluoretados, concluindo que a adição de pirofosfato (antitártaro) não altera a atividade do NaF e que as pastas de dente com F⁻ incorporaram mais flúor no esmalte do que as com MFP ou combinação NaF + MFP (0,10% +0,76%). Os autores também destacam a sensibilidade da metodologia utilizada para diferenciar flúor iônico disponível na suspensão de dentífrico em saliva.

Analisando dentífricos anticalcúlo em termos de incorporação, *in vitro*, de fluoreto no esmalte parcialmente desmineralizado, WHITE & FALLER (1987) observaram que adição de pirofosfato (PPI) não prejudica a atividade do flúor dos mesmos, enquanto que íons zinco diminui a eficácia deles.

CURY (1987) descreveu resultados da análise de um dentífrico contendo xilitol e flúor em termos de reatividade, *in vitro*, com o esmalte dental humano em condições simulando o ato de escovação. Foi fato inédito no Brasil, pois pela primeira vez um dentífrico fluoretado foi avaliado antes da comercialização, o qual mostrou-se superior em termos de capacidade de formar "CaF₂" ou FA no esmalte quando comparado com placebo e mesmo um dentífrico reconhecido pela ADA (American Dental Association).

Uma correlação positiva entre a incorporação de flúor no esmalte parcialmente desmineralizado e as concentrações de flúor iônico livre e MFP nos dentífricos, foi observada por REINTSEMA & ARENDS (1987), mas por outro lado não se observou correlação com a quantidade de flúor total.

WHITE (1987) utilizou um modelo de ciclagens de pH para estudar *in vitro* o efeito de dentífricos fluoretados na reparação de lesões iniciais de cárie, observando serem os mesmos extremamente eficientes para aperfeiçoar a remineralização e resistência a ácidos, sendo que o efeito mais proeminente foi o enriquecimento de fluoreto no esmalte remineralizado.

Avaliando, *in vitro*, vários dentífricos fluoretados comerciais através de um modelo de ciclagens de pH, WHITE (1988) observou a seguinte ordem de eficácia:

NAF > NAF + MFP > MFP > PLACEBO.

Os parâmetros analisados incluíram a incorporação de fluoreto, remineralização, dureza superficial e distribuição do fluoreto adquirido.

CURY (1988) avaliou, *in vitro*, o flúor de dois dentífricos antiplacas comercializados no Brasil em termos de disponibilidade, estabilidade e reatividade. O dentífrico contendo NaF foi mais eficiente que o contendo MFP para formar no esmalte dental tanto flúor fracamente como fortemente ligado.

Utilizando-se de ciclagens de pH que apresentam correlação com resultados *in vivo*, FEATHERSTONE et al. (1988) concluíram que a adição de pirofosfato a dentifrícios contendo NaF não altera as propriedades do mesmo, quando avaliado por este modelo, resultado este que está de acordo com estudos clínicos e *in situ* realizados com estes produtos.

TEN CATE et al. (1988) submeteram dentes sadios e com lesão artificial a um modelo de ciclagens de pH *in vitro* para estudar o efeito do período do tratamento com dentifrício fluoretado, concluindo que o mesmo é muito eficiente para inibir a formação de lesão em dentes inicialmente não cariados, sendo independente o período do tratamento com pasta fluoretada, ou seja, antes ou após o desafio desmineralizante.

TEN CATE et al. (1989) relataram que o efeito inibidor, *in vitro*, do pirofosfato, na remineralização do esmalte tratado com dentifrício fluoretado e observado anteriormente por estes autores, não foi constatado neste estudo *in situ* de 10 semanas de duração, o que poderia ser atribuído ao tempo de permanência do PPI na cavidade bucal ou devido a presença de proteínas da película adquirida.

Utilizando-se de métodos laboratoriais com capacidade de prever a atividade anticárie de dentifrícios fluoretados contendo carbonato de cálcio como base, JACKSON et al. (1989) relataram que um sistema misto melhorado (NaF + MFP) teria atividade anticárie significativamente maior do que um produto contendo concentração equivalente de MFP.

CURY (1989) avaliou os 10 dentifrícios fluoretados comercializados no Brasil em termos de disponibilidade, estabilidade e reatividade do flúor. Nos testes de reatividade com o esmalte dental humano foi utilizada metodologia que apresenta correlação com resultados clínicos de redução de cárie, tendo sido observada diferenças de atividade dos mesmos.

Avaliação *in situ* de dentifrício de alta potência (2500 ppm F) foi feita por SCHAFER (1989) através de uma metodologia desenvolvida para estudar a remineralização de blocos de esmalte inseridos, tendo sido observado uma maior remineralização quando do uso de dentifrícios com 2500 em comparação com 1000 ppm F, resultado este consistente com resultados clínicos de redução de cárie.

PETERSSON et al. (1989) observaram através de espectrometria de massa (SIMS) que um dentifrício acidulado incorporou *in vitro*, mais flúor no esmalte que um de pH neutro.

Em estudo *in situ*, DIJKMAN et al. (1990) observaram que um dentifrício fluoretado remineralizou o esmalte com lesão artificial de cárie da ordem de 90%, sendo de 50% a reversão obtida com a escovação com pasta sem flúor, após 3 meses de tratamento.

Avaliando os 19 dentifrícios fluoretados comercializados no Brasil em condições *in vitro* simulando o ato de escovação, CURY (1990) observou que a atividade do dentifrício correlacionasse fracamente com o flúor total da pasta, intermediariamente com o ionizável e fortemente com o iônico.

MELLBERG et al. (1991) estudaram *in situ* a remineralização e incorporação de flúor em esmalte com lesão artificial de cárie observando que o dentifrício com F^- e PPI remineralizou o esmalte em 15,9%, o com F^- em 11,2% enquanto o que o placebo 4,4% de desmineralização, sendo a incorporação de flúor idêntica para os dois dentifrícios fluoretados e maior que o placebo.

Utilizando-se um modelo, *in vitro*, de ciclagens de pH que apresenta correlação com resultados *in vivo* de desenvolvimento de cárie quando de alto risco, GASPARINI et al. (1991) estudaram o desenvolvimento de cárie de esmalte ao redor de restaurações com resina ou ionômero de vidro, observando que o tratamento com dentifrício fluoretado reduz a perda de mineral ao redor do composito, porém a presença de cimento ionomérico previne totalmente seu desenvolvimento.

RAVEN et al. (1991) estudaram três métodos pré-clínicos para avaliar o potencial anticárie de dentifrícios fluoretados, concluindo que o modelo de esmalte inserido *in situ*, a farmacocinética oral de fluoreto e a incorporação *in vitro* de fluoreto no esmalte desmineralizando mostram correlação com a eficácia clínica de dentifrícios contendo 1000, 1500 e 2500 ppm F como MFP.

MATERIAIS E MÉTODOS

MATERIAIS E MÉTODOS

MATERIAIS

1 - DENTIFRÍCIOS - Foram formulados dentifrícios contendo 1500 ppmF na forma de NaF e/ou MFP, de acordo com a codificação da tabela I, tendo como abrasivo sílica, portanto a única variável foi a proporção F/MFP.

Tabela I - Composição dos dentifrícios estudados.

DENTIFRÍCIOS GRUPOS	ppm F		F / MFP
	NaF	MFP	
A	1500	0	100 / 0
B	1200	300	80 / 20
C	900	600	60 / 40
D	600	900	40 / 60
E	300	1200	20 / 80
F	0	1500	0 / 100
G	0	0	-

2 - DENTES - Foram utilizados dentes 3^{os} molares inclusos extraídos na região de Piracicaba, S.P., os quais foram armazenados em formol a 2%, pH 7,0. Estes dentes foram limpos com jato de bicarbonato, a partir dos quais foram obtidos blocos dentais e esmalte pulverizado.

2.1 - PÓ DE ESMALTE - As coroas dentais foram seccionadas das raízes, imersas em clorofórmio por 5 min e deixadas em estufa a 90°C por 12 horas. A seguir foram pulverizadas utilizando-se almofariz de aço e as partículas fracionadas em jogo de Tamiz (Telatest) separando-se as com 0,074 a 0,105 mm de tamanho.

Purificou-se o esmalte de acordo com ASGAR (1956). Para tal o pó de esmalte-dentina (0,074-0,105 mm) foi adicionado a funil de separação contendo solução de bromofórmio-acetona (92:8), $d=2,7$, na proporção de 1g de pó para 7,0 ml de solução. Aguardou-se um tempo necessário para sedimentação e coletou-se o esmalte ($d \approx 2,95$), livre da dentina. Os solventes foram eliminados em capela sob exaustão e por último em estufa. O pó obtido foi lavado sucessivas vezes em água desionizada até que todo esmalte decantasse em 1 min. A seguir o esmalte dental foi coletado em funil de placa porosa, lavado com metanol sob vácuo e colocado em estufa para desidratar. De um total de 5,321g de pó de coroa dental obteve-se 1,45g de esmalte dental humano composto de partículas de 0,074-0,105 mm, utilizadas neste trabalho.

2.2 - BLOCOS DE ESMALTE - Os dentes foram seccionados com disco diamantado de dupla face, sendo obtidos 203 blocos do terço médio das coroas dentais. Nestes pedaços de dente aderiu-se na superfície do esmalte um disco de fita adesiva de 2,0 mm de diâmetro, os quais foram a seguir pintados com esmalte de unha. Removido o durex obtinha-se uma área definida de esmalte dental exposto, o qual foi submetido aos testes.

3 - SALIVA - Foi obtida dos mesmos voluntários através da mastigação de goma base.

MÉTODOS

1 - REATIVIDADE COM PÓ DE ESMALTE - Amostras de 20,0 mg de esmalte foram tratadas por 1 min com o sobrenadante da suspensão de dentifricio (1p) em saliva humana estimulada (3p), nos quais determinou-se flúor total (FT), na forma de fluoreto de cálcio ("CaF₂") e apatita fluoretada (AF) de acordo com o procedimento descrito por CURY (1987). Para a determinação de FT pesou-se 5,0 mg do esmalte tratado com os dentifricios ao qual adicionou-se 0,5 ml de HClO₄ M. Após 1h adicionou-se 2,0 ml de citrato 0,5 M e fez-se a leitura potenciométrica. Para análise de CaF₂ e AF pesou-se em tubo de centrifuga 10,0 mg de esmalte.

Acrescentou-se ao tubo 1,0 ml de KOH M e manteve-se em agitação por 24 h para extrair o "CaF₂" (flúor fracamente ligado) de acordo com CASLAVSKA et alii (1975). A seguir centrifugou-se a 2900 x g/10min e pipetou-se 0,5 ml do sobrenadante que foi transferido a frasco de análise. A este frasco acrescentou-se 1,0 ml de citrato M, 1,0 ml de HClO₄ M e fez-se a leitura potenciométrica do flúor na forma de "CaF₂". Para dosagem de AF desprezou-se o restante de KOH do tubo de centrifuga e lavou-se o precipitado (esmalte contendo flúor fortemente ligado - AF) três vezes com água desionizada e por último com metanol. Após evaporação do metanol acrescentou-se ao tubo de centrifuga 0,50 ml de HClO₄ M e 1h após 2,0 ml citrato 0,5 M, sendo feita a seguir a leitura potenciométrica. Para estas análises utilizou-se eletrodo específico ORION 96-09, analisador de íons ORION 701A, previamente calibrado com padrões contendo de 0,05 a 0,50 µgF/ml, preparados em HClO₄ 0,2 M e citrato 0,4 M.

2 - REATIVIDADE COM ESMALTE COM LESÃO INICIAL DE CÁRIE - Blocos de esmalte foram colocados em tampão lactato 0,1 M, pH 4,6, contendo 500 mg de hidroxiapatita/l (MORENO & ZAHRADNIK, 1979) permanecendo nesta solução por 72 h a 37°C para provocar uma lesão inicial artificial de cárie. A seguir estes blocos de esmalte, tendo área circular exposta de 2 mm de diâmetro, foram divididos casualmente em 8 grupos de 9 e tratados por 6 h com a suspensão (1:3) dos dentifrícios estudados (RAVEN et alii, 1991). Após uma lavagem por 30s com água desionizada os blocos dentais foram deixados na estufa por 1 h a 90°C. Para a determinação de flúor total formado nas áreas expostas, removeu-se de cada bloco dental uma camada de esmalte através do ataque ácido com 0,5 ml de HCl 0,5 M. Após 2 min de agitação, em tubos, neutralizou-se com 0,5 ml de tampão TISAB (tampão acetato 1,0 M, pH 5,0, contendo NaCl 1,0 M e CDTA a 0,4% contendo 20 g de NaOH/l). As concentrações de flúor foram expressas em µg por cm² de área de esmalte, e as dosagens foram feitas utilizando-se eletrodo específico ORION 96-09 e analisador de íons EA-940, previamente calibrados com padrões contendo de 0,05 a 1,00 µgF/ml, preparados em HCl 0,25 M e TISAB (20 g NaOH/l) a 50% (v/v).

3 - CICLAGENS DE DESMINERALIZAÇÃO E REMINERALIZAÇÃO - Os blocos de esmalte íntegro foram submetidos por 14 dias a ciclagens de Des-Re, permanecendo 6 h na solução Des- (2,0 mM de Ca e P em tampão acetato 0,075 M, pH 4,3) e 17h na solução Re- (1,5 mM de Ca, 0,9 mM de P, em tampão Tris 0,1 M, pH 7,0) a 37°C, basicamente de acordo como descrito por FEATHERSTONE et alii (1986). Diariamente, após o desafio desmineralizante, blocos de 20 dentes eram tratados durante 5 min, sob agitação, com a suspensão (1:3) de dentifrício em água desionizada, totalizando os 7 grupos de estudo correspondentes as formulações descritas na tabela I. Após as 14 ciclagens, os blocos dentais foram analisados quanto:

3.1 - MICRODUREZA DO ESMALTE - Os blocos dentais (10 de cada grupo) foram seccionados no centro da área exposta, incluídos em baquelite (Embutidor AROTEC - EMB - 30), e polidos com lixa d'água NORTON 220, 320, 400 e 600, seguido do polimento com ALUMINA (AROTEC) 04 e 03, terminando com pasta de diamante (STRUER) de 0,25 µm. O polimento foi avaliado em microscópio NIKON. As análises de microdureza foram realizadas com microdurômetro TUKON HARDNESS TESTER, penetrador tipo KNOOP e carga estática de 25 g durante 30s. Foram feitas indentações, sendo a 1^a a 20 µm da superfície e as demais de 20 em 20. Os corpos de prova foram fotografados utilizando-se microscópio NIKON OPTIPHOT com aumento de 200 x. Os resultados obtidos em termos de dureza KNOOP foram transformados em porcentagem de mineral no esmalte (FEATHERSTONE et alii, 1985). Como controle da % de mineral perdido, determinou-se a microdureza em secções de 10 blocos de esmalte não submetidos a Des- e Remineralização. Para expressar mineral perdido, a área sob a curva (% mineral x distância da superfície) foi calculada por integração numérica através da regra trapezoidal (JONES & KENWARD, 1989).

3.2 - FLÚOR INCORPORADO - Foi determinado removendo-se, da área exposta de cada bloco dental submetido a Des-Re, 5 camadas de esmalte pelo tratamento por 1 min com 0,50 ml de HCl 0,5M.

Após cada ataque ácido fazia-se o tamponamento com 0,50 ml de TISAB (20 g NaOH/l). Nestas soluções foram determinadas as concentrações de fluoreto e fósforo. Para as dosagens de íon flúor utilizou-se eletrodo específico ORION 96-09 e analisador de íons ORION EA-940, previamente calibrados com padrões contendo de 0,05 a 1,00 µgF/ml, preparados em HCl 0,25 M e TISAB (20 g NaOH/l) a 50% (v/v). As dosagens de fósforo foram feitas pelo método de FISKE & SUBBAROW (1925), utilizando-se espectrofotômetro MICRONAL B 34211, a partir das quais estimava-se a quantidade de esmalte removido e assim obtinha-se a concentração de flúor em cada camada (MEELBERG et alii, 1991). A comparação de mineral incorporado foi feito calculando-se por integração numérica a área sob a curva das concentrações de flúor (ppm) x distância relativa da superfície, utilizando-se para isto regra trapezoidal (JONES & KENWARD, 1989).

4 - ANÁLISE ESTATÍSTICA - Os resultados obtidos, da incorporação de F no esmalte com lesão inicial de cárie e submetido a Des-Re, foram analisados pela Análise de Variância (VIEIRA, 1981) e teste de TUKEY a 5% (VIEIRA, 1981).

RESULTADOS

RESULTADOS

1 - REATIVIDADE COM PÓ DE ESMALTE

Na tabela II estão representados os resultados da reatividade dos dentifrícios com pó de esmalte dental humano.

Tabela II. Concentração de flúor total (FT), na forma de fluoreto de cálcio ("CaF₂") e apatita fluoretada (AF) no esmalte dental humano após a reação com os dentifrícios.

DENTIFRICIOS	* ppm F		
	FT	"CaF ₂ "	AF
A	403,3 (29,6)	220,8 (40,5)	189,9 (32,6)
B	401,3 (49,8)	243,5 (51,0)	174,0 (28,5)
C	376,1 (75,4)	206,8 (46,9)	152,5 (25,6)
D	335,2 (54,6)	203,1 (30,2)	143,8 (19,4)
E	279,9 (35,4)	148,0 (18,3)	128,2 (36,5)
F	108,4 (17,2)	48,6 (5,8)	59,5 (10,8)
G	36,7 (3,8)	14,2 (4,4)	35,0 (3,7)

* - Média e desvio padrão de 9 determinações.

Análise estatística mostrou que as variâncias não eram homogêneas. Assim, os dados foram transformados ($y = \log x$) segundo o método de BOX & COX (COCHRAN & COX, 1957) e estatisticamente analisados pela análise de variância (SNEDECOR & COCHRAN, 1974) e teste de TUKEY (SNEDECOR & COCHRAN, 1974).

1.1 - ANÁLISE ESTATÍSTICA PARA FT - A tabela III mostra os resultados da análise de variância para flúor total formado no esmalte submetido aos diferentes dentifrícios.

Tabela III. - Análise de Variância para FT.

C. V.	G. L.	S. Q.	Q. M.	F	P > F
GRUPO	6	8,40358985	1,40059831	387,6	0,0001
RESIDUO	56	0,20233004	0,00361304		
TOTAL	62	8,60591989			

Tendo em vista a existência de diferença significativa entre os grupos aplicou-se o teste de TUKEY para diferenciar os tratamentos. A tabela IV mostra as diferenças.

Tabela IV. - Teste de TUKEY para FT.

TRATAMENTOS DENTIFRICIOS	MEDIA	TUKEY*
A	2,6046	I**
B	2,6004	I
C	2,5684	I
D	2,5205	I
E	2,4437	I II
F	2,0300	III
G	1,5624	IV

* - Diferença mínima significativa = 0,08665

** - Tratamentos seguidos do mesmo algarismo romano não diferem estatisticamente.

Análise dos dados mostra que os tratamentos com todos dentifrícios diferem do placebo, e que o aumento da proporção de F(NaF) no dentifrício tende a aumentar a formação de FT no esmalte, no entanto a partir da proporção de 40% as diferenças não são significativas (D, C, B, e A são iguais).

1.2 - ANÁLISE ESTATÍSTICA PARA "CaF₂" - A tabela V mostra os resultados da análise de variância para o flúor na forma de fluoreto de cálcio formado no esmalte submetido aos diferentes dentifrícios.

Tabela V. - Análise de Variância para "CaF₂".

C. V.	G. L.	S. Q.	Q. M.	F	P > F
GRUPO	6	62,22382090	10,37063682	266,7	0,0001
RESÍDUO	56	2,17752461	0,03888437		
TOTAL	62	64,40134551			

Tendo em vista a existência de diferença significativa entre os grupos aplicou-se o teste de TUKEY para diferenciar os tratamentos. A tabela VI mostra as diferenças.

Tabela VI. - Teste de TUKEY para "CaF₂".

TRATAMENTOS DENTIFRICIOS	MÉDIA*	TUKEY
B	5,4760	I**
A	5,3815	I
C	5,3099	I
D	5,3043	I
E	4,9901	II
F	3,8780	III
G	2,6142	IV

* - Diferença mínima significativa = 0,28427

** - Tratamentos seguidos do mesmo algarismo romano não diferem estatisticamente.

Análise estatística dos dados revela que todos dentifrícios tiveram capacidade de formar quantidades significativas de "CaF₂" no esmalte e que o aumento da proporção de NaF no dentifrício tende a aumentar sua reatividade, entretanto as diferenças não são significativas a partir de 40% de F (NaF).

1.3 - ANÁLISE ESTATÍSTICA PARA AF - A tabela VII expressa os resultados da análise de variância para o flúor na forma de apatita fluoretada formada no esmalte submetido aos diferentes dentifrícios.

Tabela VII. - Análise de Variância para AF.

C. V.	G. L.	S. Q.	Q. M.	F	P > F
GRUPO	6	21,46720842	3,57786807	118,85	0,0001
RESIDUO	56	1,68582986	0,03010410		
TOTAL	62	23,15303828			

Tendo em vista a existência de diferença significativa entre os grupos aplicou-se o teste de TUKEY para diferenciar os tratamentos, o que está demonstrado na tabela VIII.

Tabela VIII. - Teste de TUKEY para AF.

TRATAMENTOS DENTIFRÍCIOS	MÉDIA*	TUKEY**
A	5,2335	I
B	5,1476	I II
C	5,0141	I II III
D	4,9609	II III
E	4,8229	III
F	4,0715	IV
G	3,5490	V

* - Diferença mínima significativa = 0,25012

** - Tratamentos seguidos do mesmo algarismo romano não diferem estatisticamente.

Análise dos dados mostra que todos os dentifrícios fluoretados tiveram capacidade de formar AF no esmalte, isto é, diferem do placebo (G), e que com o aumento da proporção de NaF nos dentifrícios há tendência para maior reatividade, entretanto as diferenças só atingem nível de significância quando a proporção de 20% de F (NaF) passa para 80% (E x B).

Para uma melhor visualização dos dados da tabela II estão ilustrados na figura 1, em termos de flúor formado (subtraído o observado com o placebo) em função da proporção de F/MFP nos dentifrícios estudados.

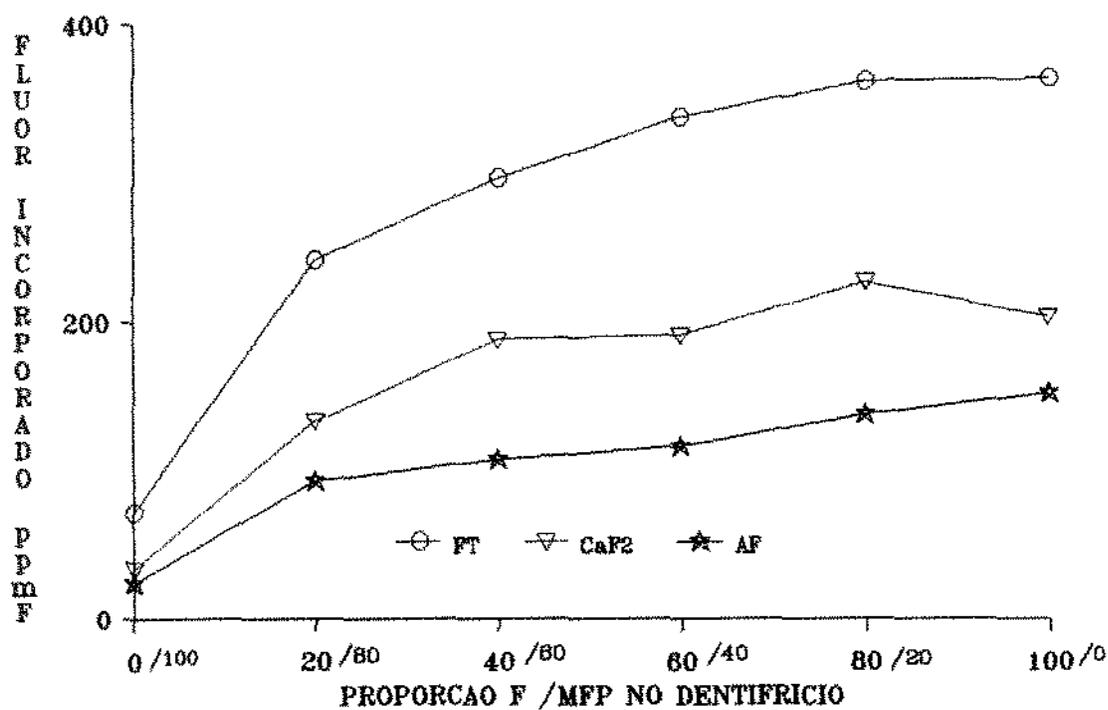


Fig. 1 - Flúor Total (FT) na forma de Fluoreto de cálcio (CaF₂) e Apatita Fluoretada (AF) no esmalte dental em função da proporção de F/MFP.

2 - REATIVIDADE COM LESÃO INICIAL DE CÁRIE

A tabela IX expressa os resultados da quantidade de flúor por área de esmalte ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) com lesão inicial de cárie submetido aos diferentes dentifrícios.

Tabela IX.- Flúor incorporado ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) no esmalte com lesão inicial de cárie.

DENTIFRÍCIOS	* $\mu\text{gF}/\text{cm}^2$
A	20,01 (3,50)
B	23,91 (8,36)
C	21,56 (7,44)
D	19,63 (7,86)
E	14,13 (4,48)
F	12,40 (2,07)
G	9,80 (2,92)

* - Média e desvio padrão de 9 determinações.

Estes resultados foram submetidos a análise de variância, o que está descrito na tabela X.

Tabela X. - Análise de Variância para Flúor incorporado em lesão inicial de cárie.

C. V.	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
GRUPO	6	1483,937	247,303	7,441
RESÍDUO	56	1861,440	33,240	
TOTAL	62	3345,377		

Tendo em vista a constatação de diferença significativa (nível de 5%) para os tratamentos, procedeu-se a análise pelo teste de TUKEY para diferencia-los (tabela XI).

Tabela XI. - Teste de TUKEY para F^- na lesão de cárie.

TRATAMENTOS DENTIFRICIOS	MEDIA*	TUKEY**
B	23,91	I
C	21,56	I II
A	20,01	I II III
D	19,63	I II III
E	14,13	II II III
F	12,40	III III
G	9,80	IV

* - Diferença mínima significativa = 8,30

** - Tratamentos seguidos do mesmo algarismo romano não diferem estatisticamente.

Análise dos dados da tabela XI mostra que todos os dentifrícios fluoretados foram capazes de incorporar flúor nos dentes com lesão inicial de cárie, e que esta propriedade aumentou com a maior proporção de F (NaF) na mistura, entretanto a partir de 40% as diferenças não são significativas.

3 - PERDA DE MINERAL NOS DENTES SUBMETIDOS A DES-RE

A figura 2 ilustra a análise de microdureza realizada em dente do grupo G que foi submetido às ciclagens de Des- e Remineralização e tratado com dentifrício placebo. Observa-se maior indentação (menor dureza) próximo da superfície (20 μ m) onde provavelmente se localiza o corpo da lesão de cárie (n.^o1).

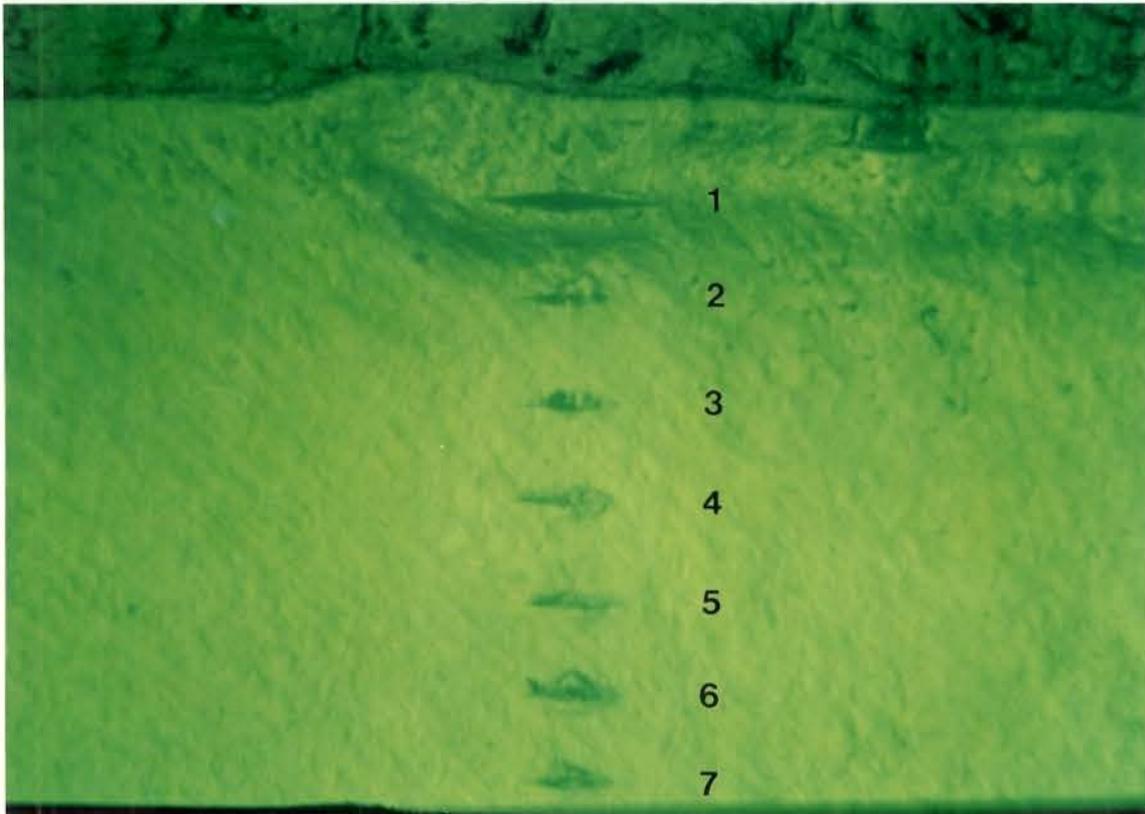


Fig. 2 - Identações feitas no esmalte dental do grupo tratado com dentífrício placebo e submetido a ciclagens de Des- e Remineralização. A ordem numérica refere-se as identações feitas desde a superfície dental.

As durezas obtidas foram transformadas em % de mineral no esmalte (FEATHERSTONE et alii, 1985) e os dados obtidos estão expressos na tabela XII.

Tabela XII. - Porcentagem de mineral (média e desvio padrão de n= 10) em função da distância da superfície dental (μm) e dos tratamentos realizados.

DENTI- FRI- CID	DISTANCIA DA SUPERFICIE (μm)					
	20	40	60	80	100	120
A	83,7(10,4)	93,3(7,5)	91,8(8,5)	91,5(10,4)	95,4(5,9)	94,8(6,3)
B	85,9(3,7)	91,2(6,0)	93,6(4,2)	95,0(5,0)	98,7(4,9)	99,0(7,5)
C	71,4(11,4)	87,2(9,0)	93,4(2,8)	94,2(8,3)	93,8(7,0)	93,8(5,0)
D	79,4(7,3)	90,1(13,9)	93,7(7,2)	93,8(8,0)	94,9(5,5)	96,1(6,1)
E	79,7(10,8)	87,5(7,9)	89,8(7,6)	93,5(3,8)	96,4(4,8)	98,5(2,5)
F	57,4(5,1)	79,5(15,4)	93,4(6,1)	96,5(4,8)	96,3(6,2)	95,8(3,6)
G	46,4(6,8)	60,9(19,8)	81,3(8,8)	88,7(7,1)	87,7(9,4)	92,6(9,2)
CON TROLE	93,6(8,0)	98,4(7,0)	100,7(7,2)	98,9(5,6)	99,3(4,6)	97,6(2,7)

Os dados da tabela XII estão ilustrados na figura 3 para melhor interpretação dos mesmos, exemplificando para os dentifrícios A, C, F, G em comparação com os dentes não submetidos a Des-Re (controle não tratado).

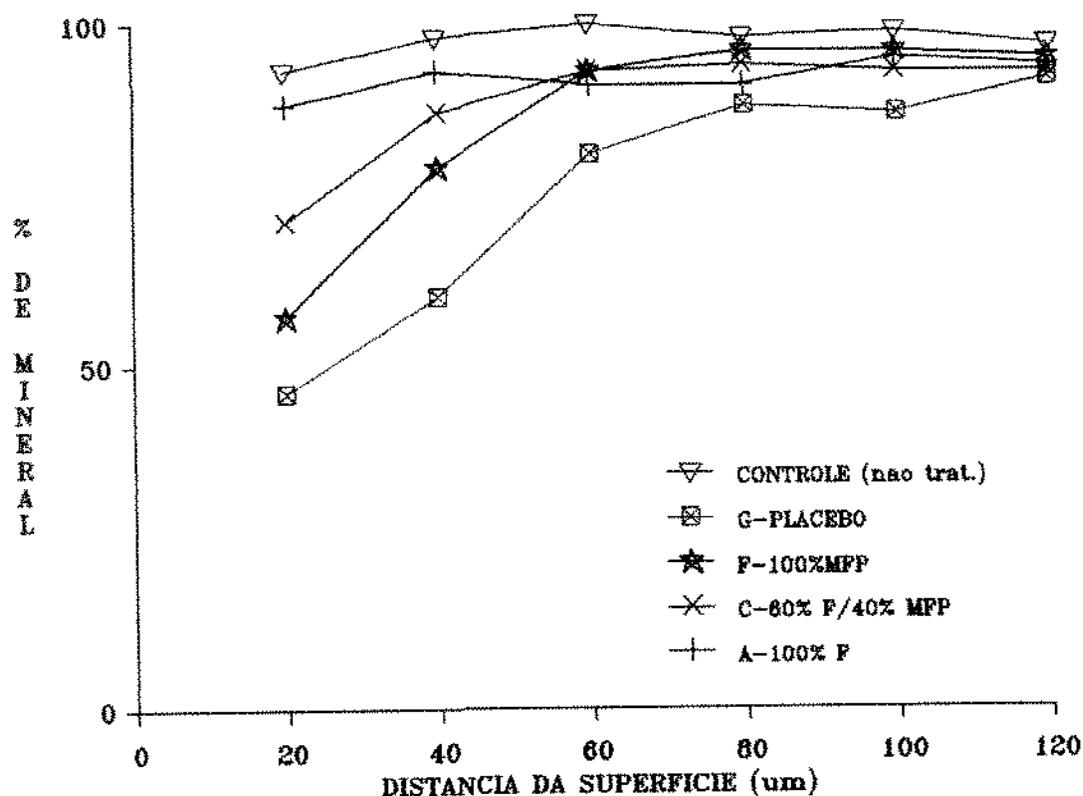


Fig. 3 - % de mineral no esmalte em função da distância da superfície nos dentes submetidos a Des-Re e tratados com os dentifrícios estudados.

Para a análise estatística os dados da tabela XII foram integrados (% mineral x distância da superfície) e submetidos a análise de variância (Tab. XIII).

Tabela XIII. - Análise de variância da área integrada da % mineral na distância da superfície em função dos tratamentos.

C. V.	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
GRUPO	7	23804568,080	3400652,583	14,224
RESIDUO	63	15061875,852	239077,394	
TOTAL	70	38866443,932		

Tendo em vista que a análise de variância mostrou significância (nível de 5%) do efeito dos tratamentos, os dados foram submetidos ao teste de TUKEY para diferencia-los (tabela XIV).

Tabela XIV. - Teste de TUKEY para % de mineral.

TRATAMENTOS DENTIFRÍCIOS	MÉDIA	TUKEY*
CONTROLE	9857,100	I
B	9420,138	I II
A	9224,400	I II III
D	9204,610	I II III IV
E	9118,044	II II III IV V
C	9091,289	III II III IV V VII
F	8844,889	IV II III IV V VII XI
G	7761,340	V III IV V IV VIII X

* - Tratamentos seguidos do mesmo algarismo romano não diferem estatisticamente.

Análise dos dados da tabela XIV mostra que as perdas de mineral quando dos tratamentos com os dentifrícios A, B e D não foram significativas, entretanto todos os dentifrícios independente da proporção F/MFP foram capazes de reduzir a perda de mineral em comparação com o tratamento placebo (G).

4 - FLUOR INCORPORADO NOS DENTES SUBMETIDOS A DES-RE

Os resultados de flúor incorporado no esmalte após as ciclagens de Des- e Remineralização e tratamento com os dentifrícios estão expressos na tabela XV.

Tabela XV. - Concentrações médias de flúor (ppmF) no esmalte em função da distância relativa da superfície dos blocos dentais submetidos a ciclagens de Des-Re e tratados com os dentifrícios.

DENTI- FRI- CIO	DISTANCIA RELATIVA				
	1	2	3	4	5
A*	2346,7(360,4)	964,1(348,6)	439,1(263,1)	251,1(89,6)	203,0(76,9)
B	2009,2(752,9)	792,0(334,6)	369,7(138,4)	249,3(62,9)	223,2(45,9)
C	2357,1(606,4)	1055,4(403,7)	491,4(277,6)	367,4(193,0)	276,3(120,2)
D	2071,9(711,9)	828,2(305,3)	347,4(132,7)	226,9(77,1)	192,1(53,8)
E	1767,3(457,4)	699,4(242,1)	427,7(314,9)	245,4(81,2)	196,3(68,5)
F	1187,2(396,1)	505,2(193,4)	233,2(98,2)	158,6(60,4)	120,7(53,9)
G	1005,5(439,5)	344,9(106,1)	179,1(72,9)	126,0(56,5)	102,4(50,8)

* - Média e desvio padrão.

Para melhor visualização os dados da tabela XV foram ilustrados na figura 4 relativo ao tratamento com os dentifrício A, D, F e G (placebo).

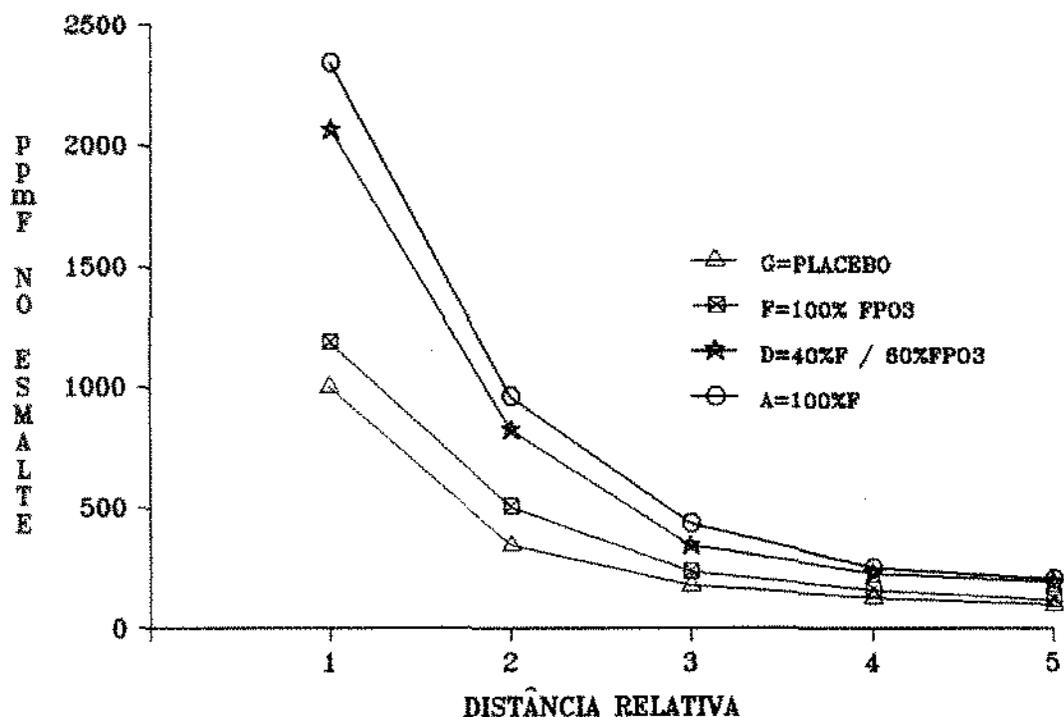


Fig. 4 - Concentração de Flúor no esmalte dos dentes submetidos a ciclagem de Des-Re tratados com formulações A, D, F e G estudadas.

Para verificar a significância estatística dos resultados os dados da tabela XV foram integrados (ppm F x distância) e submetidos a análise de variância (tabela XVI).

Tabela XVI. - Análise de variância para concentração de flúor em função da distância da superfície dental.

C. V.	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
GRUPOS	6	34222574,310	5703762,385	10,132
RESIDUO	60	33775242,304	562920,705	
TOTAL	66	67977816,614		

Como foi observada diferença significictiva (nível de 5%) entre os tratamentos, procedeu-se o teste de TUKEY para diferencia-los (tabela XVII).

Tabela XVII. - Teste de TUKEY para área integrada de Flúor Incorporado após Des-Re.

TRATAMENTOS	MÉDIAS	TUKEY*					
C	3499,067	I	II				
A	2929,155	I	II				
D	2505,790	I	II	III			
B	2502,255	I	II	III	IV		
E	2324,330	II	II	III	IV	VI	
F	1551,915	III	III	III	IV	VI	VII
G	1191,420	IV	IV	IV	V	VII	VII

* - Tratamentos seguidos do mesmo algarismo romano não diferem estatisticamente.

Análise dos dados da tabela XVII mostra que a adição de F^- ao MFP aumenta a incorporação de flúor ao esmalte, no entanto as diferenças não são significativas a partir de 40% de F^- (NaF).

DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

Embora seja aceito que dentifrícios fluoretados tenha sido o fator mais importante para explicar o declínio de prevalência de cárie no mundo industrializado, eles continuam sendo pesquisados intensamente, particularmente no sentido de melhorar sua eficiência. Assim, os métodos laboratoriais de avaliação tem sua aplicação, principalmente para uma seleção prévia que justifique os ensaios clínicos em relação a cárie, porém estes métodos devem simular as condições orais para a maior segurança dos resultados.

No presente trabalho foi estudada a importância da relação F^-/MFP em dentifrícios, utilizando-se de métodos laboratoriais que comprovadamente mostraram anteriormente alguma correlação com os resultados de redução de cárie em humanos (DUKE & FORWARD, 1985; FEATHERSTONE et alii, 1986; RAVEN et alii, 1991).

Iniciando a discussão pela reatividade dos dentifrícios estudados com o esmalte dental humano sadio, os resultados obtidos mostraram que todos eles, independente da proporção de F^-/MFP , foram capazes de formar quantidades significativas tanto de flúor fracamente ligado (CaF_2) como fortemente ligado (AF) no esmalte em relação ao placebo. De ordem geral, a eficiência do dentifrício em termos de reatividade tende a aumentar com o aumento de proporção de F^- em relação ao MFP. Estes resultados estão de acordo com as avaliações *in vitro* de PEARCE (1974), TEIXEIRA & CURY (1986), FEATHERSTONE et al. (1986), WHITE & FALLER (1986, 1987), WHITE (1988), CURY (1988), CURY (1989), CURY (1990) e as *in situ* de STOOKEY (1985), REINTSEMA & ARENDS (1987) com relação a uma maior atividade do F^- em relação ao MFP. Por outro lado, os resultados do presente trabalho discordam de FORWARD (1980) com respeito a um de efeito e atividade máxima atuando sinergicamente na proporção ideal de F^-/MFP de 60:40, pois para valores superiores a 40% de F^- as diferenças não foram significativas mesmo quando comparados com 100% de F^- (NaF).

Os resultados aqui obtidos, mostrando diferenças significativas do F^- em relação ao MFP, discordam dos obtidos *in situ* por MELLBERG & CHOMICKI (1983), e a grande discrepância de atividade do F^- em relação ao MFP talvez possa ser explicada pelo fato de que o tempo de tratamento do esmalte, de 1 min, aqui relatado, pode ter sido insuficiente para a hidrólise do MFP (ØGAARD et al., 1985). Entretanto, de acordo com DUKE & FORWARD (1985), JACKSON et al. (1989) esta condição laboratorial é importante, e a análise de flúor fortemente ligado (AF) formado no esmalte mostra correlação com a eficiência clínica de redução de cárie por dentifrícios com MFP. Assim sendo, os resultados do presente trabalho em termos de AF mostram que a adição de F^- ao MFP aumenta a reatividade do dentifrício, e assim o mesmo se deveria esperar quanto ao seu desempenho clínico. Deve-se enfatizar que o dentifrício contendo 100% de MFP é extremamente eficiente em termos da capacidade de formar AF em relação ao placebo, o que está de acordo com o desempenho clínico dos mesmos em termos cariostático (DE PAOLLA, 1983). Por outro lado, os resultados aqui obtidos em relação a AF (Tab. VIII) não permitem sugerir uma relação ótima F^- /MFP pois as proporções com 40, 60 e 80% de F^- diferem estatisticamente da com 20% mas não entre si.

Deve ser destacado que as pesquisas feitas, até o momento, a associação F^- /MFP nos dentifrícios utiliza uma relação fixa de 31% F^- (NaF) para 69% de MFP (HODGE, 1980; MAINWARING & NAYLOR, 1983; JULIANO et al., 1985; REINTSEMA et al., 1985; DUKE & FORWARD, 1985; DIODATI et al., 1986; WHITE & FALLER, 1986; RIPA et al., 1987) a qual foi comparada com 100% de F^- (NaF) ou 100% de MFP. Assim, os resultados controversos que tem sido relatados com esta associação parece ser razoável, uma vez que de acordo com os resultados aqui obtidos ela fica num limiar de significância em relação ao MFP puro.

Ainda em relação a reatividade com o esmalte dental íntegro, outro aspecto a ser discutido diz respeito a formação da forma fracamente ligada de flúor (" CaF_2 ").

Até pouco tempo atrás ele era considerado um produto indesejável dos métodos de ação tópica do flúor (McCANN, 1968) mas atualmente tem se atribuído ao mesmo uma função importante no controle da cárie dental (RØLLA & SAXEGAARD, 1990). Particularmente, com relação a dentifrícios fluoretados, poucos trabalhos tem sido publicados sobre a propriedade dos mesmos em formar "CaF₂" no esmalte, mas tem sido uma preocupação de TEIXEIRA & CURY (1986), CURY (1987, 1988, 1989, 1990). Os dados do presente trabalho mostram (Tab. VI) que a formação de "CaF₂" também aumenta com a maior proporção de F⁻ na associação F⁻/MFP, no entanto as diferenças não são significativas a partir de 40%. Assim, nos conceitos atuais, enquanto AF pode ser considerado o produto final da ação do flúor nos processos de Des-Re, "CaF₂" seria um reservatório de flúor, garantindo manutenção de F⁻ nos fluidos bucais o qual posteriormente se transformaria em AF. Neste particular a adição de F⁻ ao MFP parece ser importante, no entanto *in vivo* as diferenças poderiam ser menores do que a obtida neste estudo *in vitro*, considerando a retenção e hidrólise do MFP na cavidade bucal.

Com respeito a reatividade do flúor, com o esmalte dental apresentando lesão inicial de cárie, os resultados obtidos no presente trabalho (Tabs. X e XI) mostram que a incorporação de flúor tende a aumentar com a maior proporção de F⁻ na associação F⁻/MFP, entretanto a partir de 40% as diferenças não tem significado estatístico. Estes resultados estão de acordo com REINTSEMA et al. (1985), STOOKEY et al. (1985), WHITE & FALLER (1986 E 1987), REITSEMA & ARENDS (1987), WHITE (1988) com relação a maior atividade do F⁻ pelo tecido desmineralizado do que o MFP, no entanto são contrários aos de MELLBERG & CHOMICKI (1985) e GERRARD & WINTER (1986) que não encontraram diferença entre F⁻ e MFP. Esta avaliação, *in vitro* da capacidade dos dentifrícios fluoretados incorporarem flúor no esmalte com lesão inicial de cárie, é considerada importante pois mostra correlação com o desempenho clínico cariostático dos mesmos (RAVEN et al., 1991).

Assim sendo, de acordo com os resultados aqui obtidos, deve ser esperado uma maior eficiência clínica quando se adiciona F^- ao MFP, no entanto não haveria uma relação ótima pois as proporções F^- /MFP de 40:60, 60:40 e 80:20 diferem da com 20:80 e da com 100% de MFP, porém não diferem entre si e da com 100% de NaF.

Outro aspecto que chama a atenção na reatividade dos dentifrícios com o esmalte com lesão inicial de cárie (tab. XI) é a coincidência de significância dos mesmos em relação a formação de " CaF_2 " no esmalte não cariado (Tab. VI). No primeiro caso ("cárie") determinou-se flúor total formado (" CaF_2 " + AF) após 6h de reação, enquanto que no segundo caso, " CaF_2 " foi determinado no esmalte íntegro após 1 min de reação. De acordo com o RAVEN et al. (1991) não há correlação entre o desempenho anticárie de dentifrícios e sua reatividade com blocos de esmalte sadio ao contrário do esmalte com "cárie". Geralmente isto tem sido relatado à maior área superficial nos dentes com lesão inicial de cárie, área esta que é aumentada quando o esmalte sadio é pulverizado e partículas são utilizadas na avaliação.

Com relação a avaliação dos dentifrícios quando do tratamento dos dentes submetidos a Des-Re, utilizou-se no presente trabalho metodologia (FEATHERSTONE et alii, 1986) de desenvolvimento de cárie de acordo com o dinamismo da mesma, a qual após 14 ciclagens de pH mostra correlação de perda de mineral que ocorre em 1 mês com pacientes com bandas ortodônticas (O'REILLY & FEATHERSTONE, 1987). Os resultados obtidos no presente trabalho (Tab. XIV) mostram que a adição de F^- ao MFP tende a melhorar o desempenho do dentifrício em termos da sua interferência nos processos de Des-Re. O dentifrício contendo 100% de MFP foi capaz de reduzir a perda de mineral quando comparado com o placebo, enquanto que o esmalte tratado com dentifrícios com 40, 80 e 100% F^- não só foram mais eficientes que o placebo, como as perdas de mineral observadas não diferiram do controle não tratado.

As porcentagens perdidas de mineral estão de acordo com FEATHERSTONE et al. (1986) que observou 5 a 10% de perda quando do tratamento com dentifrícios contendo NaF, enquanto no presente trabalho observou-se 4,5 a 8,5% quando da presença de F^- ou sua associação ao MFP. Assim sendo, considerando que a metodologia utilizado no presente trabalho tem mostrado aplicabilidade dos seus resultados em relação ao desempenho clínico de dentifrícios (FEATHERSTONE et alii, 1988), a adição de F^- ao MFP deve aperfeiçoar seu desempenho cariostático.

A incorporação de flúor no esmalte submetido aos processos de Des-Re deve ser considerada como uma consequência da eficiência do dentifrício fluoretado em manter o desenvolvimento de cárie sob controle, sendo segundo WHITE (1987) o efeito mais proeminente do mesmo. Os dados do presente trabalho mostram que os dentes submetidos a Des-Re e tratados com os dentifrícios fluoretados estudados tiveram um enriquecimento de flúor no esmalte, quando comparado com o placebo. Quando da adição de F^- ao MFP a incorporação aumentou, entretanto não se observou uma proporção ótima F^-/MFP , pois a partir da contribuição de 40% de F^- na associação as diferenças observadas não podem ser consideradas significativas. A grande diferença de incorporação de flúor quando do tratamento com F^- em relação ao MFP, também verificada por outros autores (WHITE, 1988), pode ser atribuída pelo fato de que, embora o modelo de Des-Re utilizado mostre correlação com resultados *in vivo*, as condições não propiciam a hidrólise do MFP quer seja pela ausência de placa dental ou tempo insuficiente para hidrólise química (FEATHERSTONE et al., 1986). Assim sendo, as diferenças *in vivo* deverão ser menores.

De ordem geral, os dados do presente trabalho, de avaliação *in vitro* de dentifrícios fluoretados, mostram uma tendência de maior atividade quando se associa F^- ao MFP, justificando numa primeira fase trabalhos *in situ* de avaliação para numa etapa final se estudar o desempenho cariostático dos mesmos.

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

- 1 - Todas formulações experimentais estudadas, independentes da proporção F^-/MFP , mostraram maior atividade laboratorial que o placebo e assim o mesmo deve ser esperado quanto ao desempenho clínico dos mesmos.
- 2 - Há uma tendência de maior atividade dos dentifrícios em função do aumento da proporção de F^- na associação, no entanto não há uma proporção F^-/MFP ótima, logo as duas formas químicas de flúor não agem sinergicamente.

RESUMO

RESUMO

A possibilidade da avaliação laboratorial de dentifrício fluoretados deve ser considerada por razões de seleção, custos, equivalência e éticas. A importância do F^- , MFP e associação dos mesmos, em termos de eficiência cariostática de produtos comerciais, é assunto controvertido. O objetivo deste trabalho foi estudar, *in vitro*, o efeito da relação F^- /MFP na atividade de dentifrícios fluoretados, utilizando-se metodologias que mostraram correlação com o desempenho clínico de pastas de dentes. Avaliou-se: 1) A reatividade com o esmalte dental humano íntegro em condições simulando o ato de escovação; 2) A reatividade com o esmalte dental humano com lesão inicial de cárie e 3) Mineral perdido e flúor incorporado nos dentes submetidos a ciclagens de pH. Para as determinações de flúor utilizou-se eletrodo específico ORION, 96-09 e as análises de microdureza foram feitas em secções longitudinais das áreas submetidas a Des-Re, utilizando-se microdurômetro TUKON e carga de 25 g. Os resultados mostraram que a atividade do dentifrício tende a aumentar com a maior proporção de F^- na mistura F^- /MFP, entretanto não é obtido um efeito máximo. Os dados deste trabalho sugerem que o desempenho clínico cariostático de um dentifrício com MFP pode ser melhorado pela adição de F^- ao MFP.

SUMMARY

SUMMARY

STUDY "IN VITRO" OF THE EFFECT OF THE F⁻/MFP RATIO IN THE REACTIVE OF TOOTHPASTE WITH HUMAN ENAMEL AND ITS INTERFERENCE WITH THE PHENOMENON OF DE- AND REMINERALIZATION.

The laboratory evaluation of fluoride dentifrices should be considered to allow selection and screening of effective dentifrices and also considering the ethical question and the high cost of the clinic trials. The anti-caries efficacy of F⁻(NaF), MFP and theirs associations is a controversial subject. The aim of this work was study the effect of the ratio F⁻/MFP in the activity of dentifrices, using laboratory methodology that have showed correlations with clinical efficacy for fluoridated toothpastes. It was studied: 1) Reactivity with sound human enamel simulating the conditions occurring in the mounth during toothbrushing; 2) Fluoride uptake to demineralized enamel and 3) Mineral loss and fluoride uptake in tooth subjected to a pH-cycling model. Fluoride was determined with a ion specific electrode, ORION 96-09. Mineral loss was assessed by cross-sectional microhardness using a TUKON Hardness Tester with a 25g charge. The results showed that the activity of the dentifrice increases with the higher proportion of F⁻ in the mixture (F⁻/MFP). These data suggest that the cariostatic performace may be improved by the addition of F⁻ in MFP dentifrices.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ARENDS, J et al. Effect of various fluorides on enamel structure and chemistry. In: GUGGENHEIM, B., ed. Cariology today, Basel: Karger, 1984. p. 245-258.
- 2- ASGAR, K. Chemical analysis of human teeth. J. dent. Res., Washington, v.35, n.5, p.742-748, Oct. 1956.
- 3- BELTRAN, E.D., BURT, B.A. The pre and posteruptive effects of fluoride in the caries decline. J. pub. Hlth. Dent., v.48, n.4, p.233-240, 1988.
- 4- BENTON, D.P. et al. Calorimetric studies of the interaction between hydroxyapatite and certain anions in aqueous solutions. Caries Res., v.14, n.2, p.110-114, Mar./Apr. 1980.
- 5- BOLDESON, I., DUKE, S., FORWARD, G.C. Can the clinical performance of fluoride toothpastes be predicted? Caries Res., Basel, v.11, n.2, p.126, Mar./Apr. 1977.
- 6- CASLAVSKA, V., MORENO, E.C., BRUDEVOLD, F. Determination of the calcium fluoride formed from in vitro exposure of human enamel to fluoride solutions. Archs oral Biol., Oxford, v. 20, n.5-6, p. 333-339, May/Jun. 1975.
- 7- COCHRAN, W.G., COX, G.M. Experimental designs. 2.ed. New York: John Wiley, 1957. 611 p. IN: VIEIRA, S. Introdução a bioestatística. Rio de Janeiro: Campus, 1981. p.223-235.
- 8- COUNCIL ON DENTAL THERAPEUTICS. Guidelines for the acceptance of fluoride-containing dentifrices. J. Am. dent. Res., Chicago, v.110, n.4, p.545-547, Apr. 1985.

- 9- CURY, J.A. Avaliação de um gel dentifricio contendo xilitol e flúor. Revta bras. Odontol., Rio de Janeiro, v.44, n.4, p.36-40, jul./ago. 1987.
- 10- _____. Dentifricios antiplaca no Brasil: avaliação do flúor. Revta Ass. paul. Cirurg. dent., São Paulo, v.42, n.2, p.168-170, mar./abr. 1988.
- 11- _____. Dentifricios fluoretados no Brasil. Revta gaúcha Odont., Porto Alegre, v.37, n.2, p.139-142, mar./abr. 1989.
- 12- _____. Estabilidade do flúor nos dentifricios brasileiros. Revta gaúcha Odont., Porto Alegre, v.34, n.5, p.430-432, set./out. 1986.
- 13- _____. Evaluation of the fluorated dentifrices sold in Brasil. J. dent. Res., Washington, v.69, n.special, p.373, Mar. 1990.
- 14- _____. et al. Análise de dentifricios fluoretados: concentração e formas químicas de fluoretos encontrados em produtos brasileiros. Revta Ass. paul. Cirurg. dent., v.35, n.2, p.142-147, mar./abr. 1981.
- 15- DE KLOET, H.J. et al. In vivo bovine enamel remineralization and fluoride uptake from two dentifrices containing different fluoride concentration. J. dent. Res., Washington, v.65, n.12, p.1410-1414, Dec. 1986.
- 16- DE PAOLA, P.F. Clinical studies of monofluorophosphate dentifrices. Caries Res., Basel, v.17, n.1, p.119-135, Jan./Feb. 1983.

- 17- DIJKMAN, A. et al. Remineralization of human enamel in situ after 3 months: the effect of not brushing versus the effect of an F dentifrice and an F - free dentifrice. Caries Res., Basel, v.24, n.4, p.263-266, July/Aug. 1990.
- 18- DIODATI, R.R. et al. Clinical anticaries effects of various fluoride dentifrices. J. dent. Res., Washington, v.65, n.special, p. 198, Mar. 1986.
- 19- DUKE, S.A., FORWARD, G.C. The relationship between anticaries activity of monofluorophosphate dentifrice and their performance in laboratory tests. Caries Res., Basel, v.19, n.3, p.284-288, May/June 1985.
- 20- ERICSSON, Y. Fluoride in dentifrices: investigations using radioactive fluorine. Acta odont. scand., Oslo v.19, n.1, p.41-77, 1961.
- 21- FEATHERSTONE, J.D.B. et al. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. Caries Res., Basel, v.17, n.5, p.385-391, Sept./Oct. 1985.
- 22- _____ et al. Effect of an anticalculus dentifrice on lesion progression under pH cycling conditions in vitro. Caries Res., Basel, v.22, n.6, p.337-341, Nov./Dec. 1988.
- 23- _____ et al. Enhancement of remineralization in vitro and in vivo. In: LEACH, S.A., ed. Factors Relating to demineralization and remineralization of the teeth, Oxford: IRL Pr., 1986. p. 23-34.

- 24- FEJERSKOV, O., THYLSTRUP, A., LARSEN, M.J. Rational use of fluorides in caries prevention. A concept based on the possible cariostatic mechanisms. Acta odontol. scand., Oslo, v.39, n.4, p.241-249, July/Aug. 1981.
- 25- FISKE, C.H., SUBBAROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. J. Biol. Chem., Baltimore, v.66, n.2, p.375-400, 1925.
- 26- FORWARD, G.C. Action and interacting of fluoride in dentifrices. Community Dent. oral Epidemiol., Copenhagen, v.8, n.5, p.257-266, Sept./Oct., 1980.
- 27- GASPARINI, D., SERRA, M.C., CURY, J.A. Effect of fluoride on secondary caries around glass ionomer or composite. J. dent. Res., Washington, v.70, n.special, p.492, Apr. 1991.
- 28- GERRARD, W.A., WINTER, P.J. Evaluation of tooth pastes by their ability to assist rehardening of enamel in vitro. Caries Res., Basel, v.20, n.3, p.209-216, May/June 1986.
- 29- HAGEN R.R. The state of fluorine in dentifrice systems. Acta dentol. Scand., Oslo, v.30, n.2, p.167-176, May 1972.
- 30- HODGE, H.C. et al. Caries prevention by dentifrices containing a combination of sodium monofluorophosphate and sodium fluoride. Br. dent. J., London, v.149, n.07, p.201-204, Oct. 1980.
- 31- INGRAM, G.S. Reaction between apatite and monofluorophosphate: modification by fluoride and condensed phosphate. Caries Res., Basel, v.11, n.1, p.30-38, Jan./Feb. 1977.

- 32- JACKSON, R.J., DUKE, S.A., WOOD, K.A. Laboratory studies to predict the anticaries activity of calcium carbonate base dentifrices. Caries Res., Basel, v.23, n.2, p.119, Mar./Apr. 1989.
- 33- JONES, B., KENWARD, M.C. Design and analysis of cross over trials. London: Chapman and Hall, 1989.
- 34- JONGEBLOED, W.L., MOLENAAR, I., ARENDS, J. Effect of monofluorophosphate on the pathways followed by cariogenic agents. Caries Res., Basel, v.9, n.5, p.388-403, Sept./Oct. 1975.
- 35- JULIANO, G.F. et al. Clinical study comparing the anticaries effect of two fluoride dentifrices. J. dent. Res., Washington, v.64, n.special, p.169, Mar., 1985.
- 36- KIRKGAARD, E. In vitro fluoride uptake in human dental enamel from four different dentifrices. Caries Res., Basel, v.11, n.1, p.24-29, Jan./Feb. 1977.
- 37- McCANN, H.G. The solubility of fluorapatite and its relationship to that of calcium fluoride. Archs oral Biol., Oxford, v.13, n.8, p.987-1001, Aug. 1968.
- 38- MAINWARING, P.J., NAYLOR, M.N. A four-year clinical study to determine the caries-inhibiting effect of calcium glycofosphate and sodium fluoride in calcium carbonate base dentifrices containing sodium monofluorophosphate. Caries Res., Basel, v.17, n.3, p.267-276, May/June 1983.
- 39- MELLBERG, J.R. Evaluation of topical fluoride preparations. J. dent. Res., Washington, v.69, n.special, p.771-779, Feb. 1990.

- 40- MELLBERG, J.R. Fluoride dentifrices: current status and prospects. Int. dent. J., St. Albans, v.41, n.1, p.9-16, Feb., 1991.
- 41- _____. Monofluorophosphate utilization in oral preparations: laboratory observations. Caries Res., Basel, v.17, n.1, p.102-116, Jan./Feb. 1983.
- 42- _____, CHOMICKI, W.G. Effect of soluble calcium on fluoride uptake by artificial caries lesions in vivo. Caries Res., Basel, v.19, n.2, p.122-125, Mar./Apr. 1985.
- 43- _____, _____. Effect of soluble calcium on fluoride uptake by enamel from sodium monofluorophosphate. J. dent. Res., Washington, v.61, n.12, p.1394-1396, Dec. 1982.
- 44- _____, _____. Fluoride uptake by artificial caries lesions from fluoride dentifrices in vivo. J. dent. Res., Washington, v.62, n.5, p.540-542, May 1983.
- 45- _____, MALLON, D.E. Soluble calcium enhanced remineralization of artificial caries lesions with monofluorophosphate. Caries Res., Basel, v.18, n.5, p.416-20, Sept./Oct. 1984.
- 46- _____, RIPA, L.W. Fluoride dentifrices. In: _____, _____. Fluoride in preventive dentistry: theory and clinical applications. Chicago: Quintessence 1983. p.215-241.
- 47- _____. et al. Evaluation of the effects of a pyrophosphate-fluoride anticalculus dentifrice on remineralization and fluoride uptake in situ. Caries Res., Basel, v.25, n.1, p.65-69, Jan./Feb. 1991.

- 48- MOBLEY, M.J. Fluoride uptake from in situ brushing with a SnF_2 and a NaF dentifrice. J. dent. Res., Washington, v.60, n.12, p.1943-1948, Dec. 1981.
- 49- MORENO, E.C., ZAHRADNIK, R.T. Demineralization and remineralization of dental enamel. J. dent. Res., Washington, v.58, n.special, p.896-902, Mar. 1979.
- 50- ØGAARD, B. et al. Fluoride retention in clean and plaque-covered demineralized enamel in vivo after application of monofluorophosphate. Scand. J. dent. Res., Copenhagen, v.93, n.6, p.486-493, Dec. 1985.
- 51- _____ et al. Relative cariostatic effects of KOH-soluble and KOH-insoluble fluoride in situ. J. dent. Res., Washington, v.69, n.8, p.1505-1507, Ago. 1990.
- 52- O'REILLY, M.M., FEATHERSTONE, J.D.B. De- and remineralization around orthodontic appliances: an in vivo study. Am. J. Orthod. dentofac. Orthop., St. Louis, v.92, n.1, p.34-40, July 1987.
- 53- PANZERI, H. et al. Avaliação de dentifrícios. Odontol. mod., Rio de Janeiro, v.6, n.2, p.4-32, fev., 1979.
- 54- PEARCE, E.I.F. A laboratory evaluation of New Zealand fluorid toothpastes. N. Z. dent. J., Wellington, v.70, n.??, p.98-108, Apr., 1974.
- 55- _____, MORE, R.D. Uptake of fluoride by enamel from monofluorophosphate dentifrices. Caries Res., Basel, v.9, n.6, p.459-474, June 1975.

- 56- PETERSSON, L. et al. Fluorine profiles in human enamel after in vitro treatment with dentifrices of different compositions and acidities. Swed. dent. J., Jonkoping, v.13, n.5, p.177-183, Sept./Oct. 1989.
- 57- RAVEN, S.J. et al. Comparison between evaluation methods for the anti-caries efficacy of mono fluorophosphate-containing dentifrices. Caries Res., Basel, v.25, n.02 p.130-137, Mar./Apr. 1991.
- 58- REINTSEMA, H., ARENDS, J. Fluoridating efficiency of several fluoride containing dentifrice system in vivo. Caries Res., Basel, v.21, n.1, p.22-28, Jan./Feb. 1987.
- 59- _____. SCHUTHOF, J., ARENDS, J. An in vivo investigation of the fluoride uptake in partially demineralized human from enamel from several different dentifrices. J. dent. Res., Washington, v.64, n.1, p.19-23, Jan. 1985.
- 60- RIPA, L.W. et al. Clinical comparison of the caries inhibition of two mixed NaF-Na₂PO₃F dentifrices containing 1000 and 2500 ppmF compared to a conventional Na₂PO₃F dentifrice containing 1000 ppmF: results after two years. Caries Res., Basel, v.21, n.2, p.149-157, Mar./Apr. 1987.
- 61- ROLDI, C.R., CURY, J.A. Metabolismo do flúor após a ingestão de dentifricios. Revta gaúcha Odont., Porto Alegre, v.34, n.5, p.425-427, set./out. 1986.
- 62- RÖLLA, G., SAXEGAARD, E. Critical evaluation of the composition and use of topical fluorides, with emphasis on the role of calcium fluoride in caries inhibition. J. dent. Res., Washington, v.69, n.special, p.780-785, Mar. 1990.

- 63- RØLLA, G., ØGAARD, B., CRUZ, R.A. Clinical effect and mechanism of cariostatic action of fluoride-containing toothpastes: a review. Int dent. J., St. Albans, v.41, n.3, p.171-174, June 1991.
- 64- SAKKAB, N.Y., CILLEY, W.A., HABERMAN, J.P. Fluoride in deciduous teeth from an anti-caries clinical study. J. dent. Res., Washington, v.63, n.10, p.1201-1205, Oct. 1984.
- 65- SCHAFER, F. Evaluation of the anticaries benefit of fluoride toothpastes using in enamel insert model. Caries Res., Basel, v.23, n.2, p.81-86, Mar./Apr. 1989.
- 66- SMITS, M.T., ARENDS, J. Influence of xylitol and/or fluoride-containing toothpaste on the remineralization of surface softened enamel defects in vivo. Caries Res., Basel, v.19, n.6, p.528-535, Nov./Dec. 1985.
- 67- SNEDECOR, G.W., COCHRAN, W.G. Statistical methods. 6.ed. Iowa: State Univ. Pr., 1974. 593 p.
- 68- STOOKEY, G.K. Are all fluoride dentifrices the same? In: WEI, S.H.Y. Clinical uses of fluorides. Philadelphia: Lea & Febiger, 1985. p.105-131.
- 69- _____. Critical evaluation of the composition and use of topical fluorides. J. dent. Res., Washington, v.69, n.special, p.805-812, Mar. 1990.
- 70- _____ et al. In situ fluoride uptake from fluoride dentifrices by carious enamel. J. dent. Res., Washington, v.64, n.6, p.900-903, June 1985.

- 71- TEIXEIRA, R.N., CURY, J.A. Reatividade dos dentifricios fluoretados comercializados no Brasil com esmalte dental humano. Revta gaúcha Odont., Porto Alegre, v.34, n.5, p.381-383, set./out. 1986.
- 72- TEN CATE, J.M. In vitro studies on the effects of fluoride on de- and remineralization. J. dent. Res., Washington, v.69, n.special, p.614-619, Mar. 1990.
- 73- _____, REMPT, H.E. Comparison of the in vivo effect of a 0 and 1500 ppmF MFP toothpaste on fluoride uptake, acid resistance and lesion remineralization. Caries Res., Basel, v.20, n.3, p.193-201, May/June 1986.
- 74- _____, SIMONS, Y. Efficacies of toothpastes with different fluoride concentrations, determined by "pH-cycling". In: LEACH, S.A., ed. Factors relating to demineralization and remineralization of the teeth. London: IRL Pr., 1986. p.35-43.
- 75- _____, PLASSCHE-SIMONS, Y.M., STRIJP, A.P.J. The effects of pyrophosphate/gantrez in fluoride dentifrice on enamel lesion remineralization. An in situ study. Caries Res., Basel, v.23, n.6, p.440, Nov./Dec. 1989.
- 76- _____. et al. Effect of timing of fluoride tratmente on enamel de and remineralization in vitro: a pH-cycling study. Caries Res., Basel, v.22, n.1, p.20-26, Jan./Feb. 1988.
- 77- VIEIRA, S. Introdução a bioestatística. Rio de Janeiro: Campus, 1981. p.223-235.
- 78- WHITE, D.J. Reativity of fluoride dentifrices with artificial caries. I - effects on early lesions: F uptake, surface hardening and remineralization. Caries Res., Basel, v.21, n.2, p.126-140, Mar./Apr. 1987.

- 79- WHITE, D.J. Reactivity of fluoride dentifrices with artificial caries. II. effects on subsurface lesions: F uptake, F distribution, surface hardening and remineralization. Caries Res., Basel, v.22, n.1, p.27-36, Jan./Feb. 1988.
- 80- _____, FALLER, R.V. Fluoride uptake from on anticalculus dentifrice in vitro. Caries Res., Basel, v.21, n.1, p.40-46, Jan./Feb. 1986.
- 81- _____, _____. Fluoride uptake from on anticalculus NaF dentifrice in vitro. Caries Res., Basel, v.20, n.4, p.332-336, July/Aug. 1986.