

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

AMANDA FALCÃO DA SILVA

**BIODISPONIBILIDADE DE FLUORETO A PARTIR DE DENTIFRÍCIO
CONTENDO CARBONATO DE CÁLCIO OU SÍLICA COMO ABRASIVO**

DISSERTAÇÃO DE Mestrado apresentada à
Faculdade de Odontologia de Piracicaba da
UNICAMP para obtenção do título de Mestre em
Odontologia, na área de Cariologia

Orientadora: Profa. Dra. Livia Maria Andaló Tenuta

**Este exemplar corresponde à
versão final da Dissertação
defendida pelo aluno, e orientada
pela Profa. Dra. Livia M.A. Tenuta**

Assinatura do Orientador

PIRACICABA

2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
MARILENE GIRELLO – CRB8/6159 - BIBLIOTECA DA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNICAMP

Si38b Silva, Amanda Falcão da, 1986-
Biodisponibilidade de fluoreto a partir de dentifrício contendo
carbonato de cálcio ou sílica como abrasivo / Amanda Falcão da
Silva. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2012.

Orientador: Livia Maria Andaló Tenuta.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas,
Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Flúor. 2. Fluorose dentária. I. Tenuta, Livia Maria Andaló,
1976 II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações para a Biblioteca Digital

Título em Inglês: Fluoride bioavailability from toothpaste containing calcium carbonate or silica as abrasive

Palavras-chave em Inglês:

Fluoride

Fluorosis, dental

Área de concentração: Cariologia

Titulação: Mestre em Odontologia

Banca examinadora:

Livia Maria Andaló Tenuta [Orientador]

Branca Heloísa de Oliveira Martins Vieira

Carlos Alberto Feldens

Data da defesa: 17-02-2012

Programa de Pós-Graduação: Odontologia



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 17 de Fevereiro de 2012, considerou a candidata AMANDA FALCÃO DA SILVA aprovada.

Livia M. A. Tenuta

Profa. Dra. LÍVIA MARIA ANDALÓ TENUTA

Branca de Oliveira

Profa. Dra. BRANCA HELOÍSA DE OLIVEIRA MARTINS VIEIRA

Carlos Alberto Feldens

Prof. Dr. CARLOS ALBERTO FELDENS

À minha família e ao Arthur, pelo amor e apoio incondicionais.

Em especial, à minha mãe, Elba Falcão, pelo exemplo pessoal e profissional, pela sua dedicação, amor e orientação em todos os momentos da minha vida.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A minha orientadora, **Profa. Dra. Livia Maria Andaló Tenuta** por ter acreditado em mim e pela constante contribuição na minha formação intelectual e científica. Agradeço por todos os ensinamentos, incentivo, dedicação e competência durante todo esse tempo. Manifesto aqui minha admiração pelo seu exemplo.

Ao **Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury** pelas grandes contribuições e diretrizes durante todo o planejamento e execução do trabalho. Sem a sua sabedoria, competência e disponibilidade este trabalho não seria o mesmo.

À **Profa. Dra. Branca Heloisa de Oliveira Martins Vieira**, minha orientadora de iniciação científica, pelo seu papel chave na minha formação durante a graduação. Obrigada por ser meu grande exemplo e me incentivar a seguir uma formação científica e docente.

AGRADECIMENTOS

Ao Magnífico Reitor da Universidade Estadual de Campinas, **Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa**.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, na pessoa do Diretor **Prof. Dr. Jacks Jorge Junior**.

À **Profa. Dra. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia**, Coordenadora Geral da Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas.

À **Profa. Dra. Cíntia Pereira Machado Tabchoury**, Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da FOP-UNICAMP, pela contribuição na minha formação durante o curso de mestrado.

Às **Profas. Dras. Marinês Nobre dos Santos Uchôa e Ynara Bosco de Oliveira Lima-Arsati** pelas sugestões e contribuições na fase de pré-qualificação.

Aos **Profs. Drs. Carolina de Castro Martins, Jaime Aparecido Cury e Marinês Nobre dos Santos Uchôa** pelas considerações e contribuições realizadas no exame de qualificação.

Aos técnicos do laboratório de Bioquímica Oral da FOP-UNICAMP, **Waldomiro Vieira Filho** e **José Alfredo da Silva**, pela agradável convivência e pela ajuda sempre disponível.

À **Nádia Masson**, pela sincera e sólida amizade construída nesses dois anos, pela constante disponibilidade em ajudar e pelo apoio sempre presente.

À **Alhethea Ratti, Danilo Catani, Karla Cook, Livia Helena, Renata Cerezetti, Sandro Kusano**, e aos demais colegas do curso de pós-graduação em Odontologia, pela amizade e agradável convivência.

Aos voluntários que participaram desta pesquisa, **Alhethea Ratti, Bárbara Neves, Constanza Fernandez, Eloá Cristina, Evelin Zulin, Flávio Azevedo, Heloísa Pantaroto, Igor Claes, , Jerônimo Junior, Juliane Gomes, Livia Galvão, Livia Helena, Letícia Gonçalves, Marcos Cunha, Moises da Costa, Nádia Masson, Paulo Zárate, Tamires Munerato, Wander J. Silva**, pela colaboração, cooperação e dedicação, indispensáveis para a realização deste trabalho.

Ao **CNPq**, pela concessão da bolsa de mestrado (processo 130645/2010-9), sem a qual a realização desse trabalho não seria possível.

“Develop a passion for learning. If you do, you will never cease to grow.”

(Anthony J D’Angelo)

RESUMO

Dentifrícios fluoretados tem sido considerados responsáveis pelo declínio de cárie ocorrido mundialmente, entretanto, são também considerados fatores de risco para fluorose dental. Todavia, não tem sido encontrada correlação entre a dose de ingestão de fluoreto (F) pelo dentifrício, na idade de risco para o desenvolvimento de fluorose e sua posterior prevalência. Uma das razões para esse achado é que a concentração total de F no dentifrício e não aquela biodisponível (fração solúvel que é absorvida) tem sido considerada no cálculo da dose de ingestão. Nesse contexto, dentifrícios fluoretados contendo carbonato de cálcio como abrasivo apresentam parte do F total indisponível para ser absorvido, ou seja, na forma insolúvel, que sofre aumento em função do tempo. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a biodisponibilidade de F a partir de dentifrício contendo carbonato de cálcio (CaCO_3) ou sílica (SiO_2) como abrasivos, em condição recém-adquirida ou após envelhecimento precoce, simulando armazenamento durante 1 ano. Em um estudo *in vivo*, cruzado e cego quanto ao examinador, 20 voluntários adultos jovens foram recrutados. Em 5 fases experimentais, os voluntários foram aleatoriamente submetidos a um dos grupos de tratamento: água purificada (controle), dentifrício a base de NaF/SiO_2 (1100 ppm F; Tandy®) e a base de MFP/CaCO_3 (1450 ppm F; Sorriso®), sob duas condições: recém-adquiridos e após submetidos a processo de envelhecimento precoce. Análises iniciais dos dentifrícios para F total (FT) e F solúvel total (FST) no dentifrício a base de MFP/CaCO_3 , apontaram que aproximadamente $80,1 \pm 2,8\%$ do FT encontrava-se solúvel e após o envelhecimento houve uma redução para $61,2 \pm 2,7\%$. No dentifrício a base de NaF/SiO_2 , em ambas as condições, todo o FT estava solúvel. Em cada fase experimental, após jejum, os voluntários ingeriram $49,5 \text{ ug F total/Kg}$ de peso corporal (baseada na ingestão diária de dentifrício por uma criança em idade de risco de desenvolvimento de fluorose) na forma de suspensão de dentifrício em água purificada, ou apenas água (controle). Como indicadores do F absorvido, saliva não-estimulada foi coletada por até 3 horas após a ingestão, sendo a área sob a curva (ASC) da concentração salivar de F em função do tempo e concentração máxima salivar de F (Cmax)

calculados. Toda urina produzida durante 24 horas antes e após a ingestão foi coletada, determinando-se a excreção urinária por diferença entre a quantidade de F excretada nos dois períodos. Fluoreto presente nas amostras foi determinado utilizando eletrodo íon-seletivo. Um delineamento fatorial 2x2 foi considerado (fatores dentifrícios e condição dos dentifrícios), utilizando-se ANOVA seguido de teste de Tukey. Resultados da análise salivar apontaram menor absorção do dentifrício de MFP/CaCO₃, em ambas condições, para ASC e Cmax (p<0,05). Para F na urina, o envelhecimento do dentifrício contendo cálcio reduziu significativamente a excreção de F (1,3±0,6 para 0,8±0,4 mg F/dia, recém-adquirido e envelhecido, respectivamente). Houve correlação moderada significativa (r=0,57, p<0,001, Spearman) somente para FST ingerido e ASC mas não para FT. Conclui-se que apenas o F solúvel dos dentifrícios é absorvido, o que deve ser considerado na recomendação de dentifrícios fluoretados e na estimativa do potencial risco de causarem fluorose.

Palavras-chave: flúor, fluorose dentária, dentifrícios

ABSTRACT

Fluoride toothpastes are considered responsible for caries decline worldwide but they are also considered as risk factors for dental fluorosis. Nonetheless, there has been no correlation between fluoride (F) intake from toothpaste in the age of risk for developing fluorosis and its subsequent prevalence. One reason for this finding is that the total F concentration in toothpastes and not that bioavailable (soluble fraction which is absorbed) has been considered in calculation of the F dose ingested. In this context, toothpastes containing calcium carbonate (CaCO_3) as abrasive present part of total F unavailable to be absorbed, in a insoluble form, which increases with time. Thus, the aim of the present study was to evaluate F bioavailability from toothpastes containing calcium carbonate or silica as abrasive, in two conditions: fresh or after aging, simulating one year storage. In an *in vivo*, crossover and blind study, 20 young adults volunteers, were selected. In five experimental phases, participants were randomly assigned to one of the treatment groups: purified water (control), NaF/SiO₂-based toothpaste (1100 ppm F; Tandy[®]) and MFP/CaCO₃-based toothpaste (1450 ppm F; Sorriso[®]), both under two conditions: fresh or after aging. Initial toothpastes analyzes of total F (TF) and total soluble F in the MFP/CaCO₃-based toothpaste found that approximately $80.1 \pm 2.8\%$ of TF was in a soluble form and after aging there was a decrease to $61.2 \pm 2.7\%$. For the NaF/SiO₂-based toothpaste, in both conditions, all F was soluble. Following fasting, purified water (control) or a toothpaste suspension containing $49.5 \mu\text{g TF/kg}$ body weight was ingested, based on daily intake from toothpaste considering a child in risk of developing fluorosis. F absorption was evaluated by unstimulated saliva collection for up 3 hours after ingestion and area under the curve (AUC) of salivary F concentration versus time and saliva maximum F concentration (C_{max}) were estimated. All urine produced 24 hours before and after intake was collected and urinary excretion was determined by the difference between amounts of F excreted in both periods. Fluoride present in samples was determined using ion selective electrode. A factorial 2x2 was considered for statistical

analyzes (factors under evaluation: toothpaste and toothpaste condition). Data were analyzed by ANOVA followed by Tukey test. Regarding AUC and Cmax, results showed lower absorption following CaCO₃-based toothpastes intake, in both conditions (p<0.05). For F in urine, data indicated that F excretion after aging of calcium-based toothpaste was significantly reduced (1.3 ± 0.6 to 0.8 ± 0.4 mg F/day, fresh and after aging, respectively), while for NaF/SiO₂ toothpaste, aging process did not altered F concentration in urine. In addition, there was a significant correlation (r = 0.57, p <0.001, Spearman) between total soluble F ingested and AUC but not for total F and AUC (r=0.14, p=0.20). The present study demonstrated that exclusively soluble fluoride is available for absorption and this should be considered in the recommendation of F toothpastes and estimation of potential risk of developing dental fluorosis.

Key words: fluoride, dentifrices, dental fluorosis

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	graus Celsius
%	porcentagem
®	marca registrada
F	fluoreto
FT	fluoreto total
FST	fluoreto solúvel total
FI	fluoreto insolúvel
ASC	área sob a curva
Cmax	concentração máxima
Tmax	tempo necessário para se atingir a concentração máxima
MFP	monofluorfosfato de sódio
NaF	fluoreto de sódio
SiO₂	dióxido de sílica
CaCO₃	carbonato de cálcio
CaF₂	fluoreto de cálcio
HF	ácido fluorídrico

Ppm	partes por milhão
TF	Índice de fluorose de Thylstrup & Fejerskov
Kg	quilo
Mg	miligramas
mg F/kg peso corporal	miligramas de flúor por quilo de peso corporal
mg F/kg peso/dia	miligramas de flúor por quilo de peso por dia
µg F/kg/dia	micrograma de flúor por quilo por dia
µg F total/kg peso corporal	micrograma de flúor por quilo de peso corporal
µg F/mL	micrograma de flúor por mililitro
pH	potencial hidrogeniônico
pKa	constante de dissociação para ácidos fracos
TISAB	<i>Total Ionic Strength Adjustor Buffer</i> (tampão de ajuste de força iônica e pH)
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISTA DA LITERATURA	4
3	PROPOSIÇÃO	35
4	MATERIAIS E MÉTODOS	36
5	RESULTADOS	46
6	DISCUSSÃO	58
7	CONCLUSÃO	63
	REFERÊNCIAS	64
	ANEXO	76
	APÊNDICES	77

1. INTRODUÇÃO

Dentifrícios fluoretados são considerados um dos meios mais efetivos de prevenção da cárie dental, sendo sua ampla utilização considerada responsável pela diminuição nos índices de cárie observados em todo mundo (Bratthall *et al.*, 1996; Cury *et al.*, 2004). Concomitantemente com esse quadro de redução da prevalência de cárie, a preocupação com fluorose dental tem aumentado, e a ingestão inadvertida de dentifrícios fluoretados por crianças no período de formação dos dentes permanentes tem sido considerada como um dos fatores de risco para o desenvolvimento da fluorose dental (Mascarenhas *et al.*, 2000; Franzman *et al.*, 2006).

A fluorose dental é o único efeito colateral conhecido associado à exposição sistêmica frequente a fluoretos em baixas doses. É caracterizada como uma hipomineralização da subsuperfície do esmalte resultante do efeito do F interferindo no processo de mineralização durante a amelogênese (DenBesten 1992, 1999; Aoba & Fejerskov, 2002). A severidade da doença está associada à dose ingerida (Larsen *et al.*, 1987; Fejerskov *et al.*, 1990) e ao período de exposição (Bardsen, 1999); os 2-3 primeiros anos de vida são os mais sensíveis no que diz respeito ao desenvolvimento de fluorose em incisivos centrais, importantes do ponto de vista estético (Pendrys *et al.* 1994; Hong *et al.*; 2006). Entretanto, não tem sido encontrada correlação entre a dose de ingestão de F pelo dentifrício na idade de risco para o desenvolvimento de fluorose e a posterior prevalência esperada baseada na dose de ingestão (Fejerskov *et al.*, 1996; Martins *et al.*, 2008). Uma das razões para estes achados seria o fato de que a biodisponibilidade do F (fração solúvel que é absorvida) dos dentifrícios não tem sido considerada.

Sob esse aspecto, uma vez que a fluorose é consequência do efeito sistêmico do F, para causar fluorose dental o F presente no dentifrício deve ser absorvido no trato gastrointestinal. Nesse sentido, a absorção do F depende da disponibilidade do íon na forma livre (F^-). Porém, dependendo da formulação do dentifrício fluoretado, alguns componentes, como cátions di- ou trivalentes Ca^{+2} , Al^{+3} podem se ligar ao F, levando a

formação de sais de baixa solubilidade, que impedirão a formação de HF e, conseqüentemente, a absorção no estômago será limitada (Ekstrand & Ehrnebo, 1980; Roldi & Cury, 1986; Drummond *et al.*, 1990).

Dentre as formulações de dentifrício disponíveis no mercado brasileiro, dois tipos de sistema abrasivos estão majoritariamente disponíveis: dióxido de sílica (SiO_2) e carbonato de cálcio (CaCO_3). Dentifrícios a base de sílica, normalmente são os utilizados quando da formulação de dentifrícios de apelo infantil, possuindo como fonte de íons flúor o NaF (fluoreto de sódio), sendo disponibilizado usualmente na concentração de $1100 \mu\text{g F/g}$ (Cury *et al.*, 2010). O dióxido de sílica é um abrasivo inerte; todo o F presente na formulação encontra-se na forma solúvel, livre para exercer seu efeito anticárie e, portanto, disponível para ser absorvido, se ingerido (Cury *et al.*, 2005a).

Em contrapartida, os dentifrícios brasileiros mais consumidos são formulados com CaCO_3 como sistema abrasivo (Cury *et al.*, 2004; Ricomini-Filho *et al.*, 2012) e a eficácia anticárie dessas formulações tem sido demonstrada (Cury *et al.*, 2003a, 2005b). Normalmente, contém o F na forma de MFP (monofluorofosfato de sódio), no qual o F está covalentemente ligado ao fosfato, objetivando evitar a inativação do F pela ligação com Ca dentro do tubo do dentifrício. Embora quimicamente compatíveis nessa formulação, F e Ca podem formar complexos insolúveis à medida que ocorre hidrólise espontânea do MFP, liberando o íon F para reação com o Ca do abrasivo. Assim, apesar desses dentifrícios apresentarem concentração de F total em torno de $1450 \mu\text{g F/g}$, parte do F total encontra-se na forma insolúvel (Orth *et al.*, 2001, Cury *et al.*, 2010, Ricomini-Filho *et al.*, 2012), não estando portanto, totalmente disponível para ser absorvido (Ekstrand & Ehrnebo, 1980; Roldi & Cury 1986). Em acréscimo, a porcentagem de F insolúvel nesse tipo de formulação de dentifrício aumenta em função do tempo de fabricação (Tabchoury & Cury, 1994), fato que deve ser levado em consideração. Ressalta-se ainda que tais dentifrícios são amplamente utilizados por possuírem baixo custo e serem consumidos por toda a família, sendo ainda os mais consumidos por crianças de menor condição sócio-econômica (Cury *et al.*, 2010).

Tendo em vista que a biodisponibilidade do F a partir de dentifrícios fluoretados tem sido ignorada nas discussões atuais sobre sua contribuição para o risco de desenvolvimento de fluorose dental, e na ausência de dados atualizados sobre a biodisponibilidade do F dessas formulações, o presente estudo foi realizado.

2. REVISTA DA LITERATURA

A presente revista da literatura está dividida nos seguintes tópicos:

2.1 FARMACOCINÉTICA DO FLUORETO

2.2 FLUOROSE DENTAL

2.2.1 FATORES DE RISCO PARA FLUOROSE DENTAL

2.2.2 DOSE ESTIMADA DE INGESTÃO DE FLUORETO POR CRIANÇAS

Fluoreto (F) corresponde à forma iônica do elemento flúor, que é o 13º elemento mais abundante na natureza – e, também, o mais eletronegativo dos halogênios, grupo que inclui ainda o cloro, o bromo e o iodo. Com grande capacidade de reagir com outros elementos químicos e formar compostos orgânicos e inorgânicos, o flúor está presente no ar, no solo e nas águas. A dispersão de flúor no ambiente ocorre frente a diversos processos, dentre eles, por meio de ação vulcânica, pelo processo de lixiviamento do solo e minerais, pela ação do vento em rochas, sendo posteriormente encontrado na vegetação, rios e oceanos (Withford, 1996; Smith & Ekstrand, 1996).

Em Odontologia, o F tem sido amplamente estudado frente ao seu comprovado efeito anticárie (Cury & Tenuta, 2008; Tenuta & Cury, 2010). Por ser reconhecidamente um agente de extrema importância dentre o arsenal de medidas que visam o controle da doença cárie, sua utilização tem promovido melhorias significativas na saúde bucal e na qualidade de vida das populações (Burt, 1995; Brasil, 2011).

No entanto, quando há ingestão crônica de F durante o período de formação do esmalte dentário, ocorrem alterações no processo de mineralização tecidual que levam ao desenvolvimento da fluorose dentária (Fejerskov, 1990; Levy, 1994). Dessa forma, para compreender como diferentes fatores podem influenciar o grau de susceptibilidade de um indivíduo a fluorose, é preciso analisar as principais características da farmacocinética do F no corpo humano.

2.1 FARMACOCINÉTICA DO FLUORETO

Em 1953, Dost propôs o termo farmacocinética para descrever o movimento de uma droga através do organismo. Atualmente, a farmacocinética pode ser mais bem definida como o estudo quantitativo dos processos de absorção, distribuição, biotransformação e eliminação das drogas no decurso do tempo (Silva, 2010a; Yagiela, 2011). A farmacocinética utiliza metodologia matemática para descrever as variações no tempo dos processos de administração, absorção, distribuição e eliminação. A variável básica desses estudos é a concentração da droga nos diferentes fluidos e excreções pelo organismo, sendo que a concentração está relacionada com a via de administração, a dose empregada e com a eliminação (Levine, 1991).

Portanto, para que se possa entender os efeitos biológicos do F no organismo humano, o conhecimento dos processos envolvidos na em sua farmacocinética são necessários.

2.2.1. ABSORÇÃO E DISTRIBUIÇÃO

A principal rota de absorção de F é através do trato gastrointestinal. Ao ser ingerido, o F é absorvido rapidamente e após alguns minutos atinge níveis detectáveis no plasma sanguíneo. O pico de F no plasma sanguíneo é proporcional a dose de F ingerida e ao grau de absorção. Por volta de 30 a 45 minutos após a ingestão, cerca de 90% do F encontra-se presente no sangue (Whitford, 1996).

Mais especificamente em relação à absorção, para que uma droga seja absorvida, atinja seu local de ação e, por fim, seja eliminada, a mesma deve atravessar uma ou mais barreiras, representadas pelas membranas biológicas (Silva, 2010b, Yagiela, 2011). O processo fisiológico pelo qual o F é absorvido parece ser a difusão passiva, um dos processos físico-químicos mais observados nos fluidos biológicos, sendo, portanto, o processo no qual a velocidade de transferência é proporcional ao gradiente de concentração através da membrana.

Como a membrana plasmática é composta por uma bicamada lipídica, a ausência de cargas iônicas constitui um importante fator que favorece a lipossolubilidade. Logo, a polaridade de certas moléculas tem grande importância na sua solubilidade e na sua absorção, especialmente quando essa se faz pela modalidade de difusão passiva ou simples (Nelson & Cox, 2008).

Dessa forma, o mecanismo e o grau de absorção gástrica de F estão intimamente relacionados com a acidez gástrica. Para os eletrólitos fracos, o pH do meio circundante afeta o grau de ionização e, por conseguinte, a absorção (Yagiela, 2011). Considerando tal fato, o suco gástrico possui pH ácido (entre 1,5 e 2,0) que favorecerá a formação de ácido fluorídrico (HF), que possui pKa de 3,45. Logo, o ácido fluorídrico formado atravessará facilmente a membrana das células, como as da mucosa gástrica, devido a sua apolaridade, sendo então, enviado para a corrente sanguínea. O F não absorvido no estômago será então absorvido na primeira porção superior do intestino, que possui grande capacidade de reserva para absorção (Ekstrand *et al.*, 1996), embora mais lentamente. O F não absorvido, por encontrar-se na forma insolúvel, como por exemplo, o fluoreto de cálcio e outros sais de baixa solubilidade, será excretado por meio das fezes, representando aproximadamente 10% da quantidade total ingerida de F em crianças e adultos (Withford, 1990; Withford, 1994; Ekstrand, 1996).

Experimentos têm comprovado que o pH, ou seja, a acidez gástrica, tem papel fundamental na absorção. Whitford *et al.* (1977) mostraram que ratos que receberam atropina, substância que reduz o grau de secreção e motilidade gástrica, e que receberam logo em seguida solução de NaF, tiveram uma taxa de absorção reduzida quando comparados com ratos que só receberam a solução de NaF. Sugere-se, então, a existência de uma relação inversa entre pH e taxa de absorção gástrica de F.

Um aspecto importante a se enfatizar é que todo o processo de distribuição corporal e eliminação ocorrem somente após o F atingir o plasma sanguíneo, que atua como um compartimento central. Em relação à distribuição corporal, faz-se necessário conhecer os aspectos quantitativos e qualitativos da distribuição de F em cada um dos principais tipos de tecido, para que se possa discernir o mecanismo por trás da

distribuição entre os fluidos intracelulares e extracelulares. Na maioria dos tecidos, o F penetra rapidamente nos espaços intracelulares por uma razão T/P (tecido/plasma). Dentre eles, o rim possui a maior concentração de F, com uma razão T/P, em média, de 4,16. Tal fato é atribuído principalmente a altas concentrações de F presentes no fluido tubular e intersticial, devido aos processos de filtração glomerular e reabsorção tubular durante a excreção urinária. Normalmente, nos demais tecidos, essa razão encontra-se entre 0,4 e 0,9. As exceções são o cérebro e o tecido adiposo onde o valor T/P normalmente é menor que 0,2. Portanto, as diferentes concentrações da razão T/P ocorrem devido a diferentes concentrações intracelulares de fluoreto (Whitford, 1996).

Dessa maneira, o F é distribuído pelo plasma para tecidos e órgãos. O fato de que as concentrações de F no plasma e no fluido extracelular são maiores do que aquelas do fluido intracelular consistem na hipótese de que o ácido fluorídrico (HF), e não o F iônico está em equilíbrio de difusão através das membranas celulares (Whitford *et al.*, 1979). Devido à facilidade de atravessar membranas na forma de HF, o F tenderá a ser acumular nos compartimentos mais alcalinos, que favorecem a ionização do HF em H^+ e F^- , dificultando a posterior passagem do F^- através da membrana pela qual ele transitou na forma de HF.

As concentrações de F no plasma não são reguladas homeostaticamente, elas aumentam ou decrescem de acordo com o padrão de ingestão de F, também denominado de estado aparente de equilíbrio de F, no qual a flutuação da concentração de F no plasma sanguíneo depende além da dose de fluoreto ingerida, da frequência da dose e meia-vida do F no plasma (Ekstrand, 1996).

Sob esse aspecto, Ekstrand *et al.* (1981) estudaram a farmacocinética do F com o objetivo de avaliarem em mais detalhes seu efeito farmacológico e toxicológico. Para tal, analisaram F de amostras de plasma de ratos ingerindo 25, 50, 100 e 150 ppm F pela água fluoretada durante 79 dias. Dentre os resultados, foi encontrada relação entre a concentração de F na água fluoretada e no plasma. A partir deste estudo ainda constatou-se que, quando a administração de F era suspendida, um rápido declínio na concentração

de F no plasma era notado em até 48 horas em todos os grupos de tratamento, sugerindo-se não haver uma regulação homeostática da concentração de F.

Ainda nesse contexto, durante seis meses, Richards *et al.* (1985) estudaram a farmacocinética do F em porcos, em um estudo longitudinal. A dose ingerida de F era adicionada a comida dos animais e correspondia a 2 mg F/kg de peso corporal/dia. Baseado em análises frequentes da concentração de F no plasma, os autores demonstraram que a exposição crônica a F resultava em contínuo aumento dos níveis de F no plasma, e que um equilíbrio entre os níveis de F no plasma não pode ser alcançado, confirmando que não há regulação homeostática de F.

2.2.2. ELIMINAÇÃO

A principal via de excreção do F circulante no sangue é por meio da eliminação renal pela urina. Basicamente, a eliminação urinária é controlada pelo grau de filtração glomerular e reabsorção tubular (Silva, 2010c). A eliminação renal de F é caracterizada por filtração glomerular seguida por um grau variável de reabsorção renal. O grau de reabsorção renal depende principalmente do fluxo urinário e do pH do fluido tubular. Por exemplo, em uma situação de pH ácido na urina, haverá tendência de formação de ácido fluorídrico dentro do túbulo renal, que será reabsorvido pela membrana tubular sendo então enviado para a corrente sanguínea, havendo uma menor excreção urinária de F (Whitford, 1996).

Outro aspecto a ser considerado diz respeito aos níveis plasmáticos de F, que são influenciados pelos relativos graus de deposição e dissolução óssea e pela eliminação renal do íon flúor. Nesse sentido, há uma relação direta entre a concentração de F no osso e no plasma com a idade; em crianças, por exemplo, a retenção de F nos tecidos mineralizados é elevada, devido ao crescimento e o estágio de desenvolvimento esquelético, em torno de 80-90% (Whitford, 1996). Portanto, considerando que o grau de acúmulo de F em tecidos mineralizados é inversamente proporcional a idade, em adultos

em contrapartida, a excreção renal de F é maior; aproximadamente em torno de 40-50% do F administrado é excretado na urina (Ekstrand *et al.*, 1990).

Recentemente, Villa *et al.* (2010) realizaram um estudo relacionando a ingestão total diária de F, a excreção urinária diária e a fração de F retida, em crianças e adultos, no sentido de prever a ingestão total diária a partir da excreção urinária de F. A fração diária de F retida foi estimada em função da ingestão em crianças e adultos, assumindo-se uma média de 90% de absorção de F. Em torno de 65% e 36% foram excretados para crianças e adultos, com uma ingestão média diária de F de 0,5 e 2 mg de F, respectivamente. Os resultados mostraram que há uma relação linear entre ingestão e excreção urinária de F, assim como a respeito do F retido, com algumas diferenças entre crianças e adultos. Os autores ainda concluíram que a excreção urinária de F pode ser uma ferramenta útil para estimar dados de ingestão total e fração retida de F.

Posteriormente, Martins *et al.* (2011) avaliaram a utilização da urina como potencial biomarcador da ingestão de F pela dieta e pelo dentifrício fluoretado. Para tal, realizaram uma investigação prospectiva avaliando o efeito da liberação do F retido após a interrupção na ingestão de F pela água de abastecimento e pelo dentifrício fluoretado e seu efeito após a reexposição a F. Onze voluntários, de 2 a 4 anos de idade, participaram do estudo no qual urina de 24 horas foi coletada inicialmente (voluntários expostos à água fluoretada e dentifrício F) e nos posteriores 28 dias de interrupção da exposição a F, tendo sido realizadas nove coletas durante o período de interrupção. Quando da reexposição à água e à dentifrício F, mais duas coletas de urina de 24 horas foram realizadas. Os resultados do estudo apontaram que a urina como biomarcador pode detectar rapidamente variações na ingestão de F, uma vez que demonstrou que o F circulante no organismo rapidamente reduz nas primeiras 24 horas de interrupção da ingestão de F pela água e pelo dentifrício, e aumenta rapidamente após a reexposição às mesmas fontes.

2.2.3. BIODISPONIBILIDADE

A noção de biodisponibilidade foi criada em 1945, por Oser e colaboradores, quando estudaram a absorção relativa das vitaminas existentes em diferentes formulações farmacêuticas. Em Farmacologia, o termo pode ser definido como a porção da droga que atinge a circulação geral, após a sua administração. A biodisponibilidade ainda indica a velocidade com que a droga atinge o sangue, que posteriormente será utilizada pelo organismo. A importância da biodisponibilidade é dada uma vez que é o primeiro de muitos fatores que determinam a relação entre a dose da droga e sua intensidade de ação (Silva, 2010d; Yagiela, 2011).

Quando se fala a respeito da biodisponibilidade de F, a mesma se refere a todo F ingerido e absorvido pelo plasma sanguíneo, estando então disponível para distribuição e deposição em tecidos.

Ekstrand (1977b) realizou um estudo com o objetivo de correlacionar a concentração de íon flúor na saliva e no plasma. Seis voluntários ingeriram tabletes de NaF contendo 3, 6 ou 10 mg de F e posteriormente, amostras de plasma e saliva estimulada da glândula parótida foram obtidas por até 12 horas após a ingestão. Os resultados apontaram que as curvas de concentração de F na saliva e no plasma sanguíneo eram paralelas, indicando que a análise de F na saliva poderia ser utilizada como substituto da análise de plasma sanguíneo em estudos a respeito da farmacocinética do F.

Ekstrand & Ehrnebo (1979) utilizaram dados de excreção urinária e concentração plasmática de F para investigar a extensão na qual a biodisponibilidade de tabletes de fluoreto de sódio (NaF) é influenciada pela administração simultânea de leite, exclusivamente, ou em combinação com outros produtos da dieta. Haja vista que os alimentos possuem em sua composição cátions bi- ou trivalentes, o grau de absorção de F foi reduzido devido à formação de complexos insolúveis, de baixa solubilidade, como por exemplo, fluoreto de cálcio (CaF_2). As curvas de concentração de F no plasma sanguíneo

foram consideravelmente menores quando o leite foi co-administrado e esta redução foi ainda maior quando outros produtos da dieta foram incluídos. Os autores sugeriram que a menor biodisponibilidade encontrada seria frente à formação de compostos de baixa solubilidade com o F, fato que deveria ser levado em consideração quando da determinação da dose de suplementos de F, ressaltando ainda que tabletes que contivessem fluoreto de sódio não deveriam ser ingeridos juntamente com produtos a base de leite.

Considerando-se as diferentes formulações de dentifrícios fluoretados, Ekstrand *et al.* (1980) avaliaram a biodisponibilidade de F de dois dentifrícios, um contendo fluoreto de sódio (NaF) e o outro, contendo monofluorofosfato de sódio (MFP) e carbonato de cálcio (CaCO₃) como abrasivo. Foram comparados dados de concentração de F no plasma e na urina através de administração intravenosa de uma única dose de 3 mg F e ingestão de 6 g de cada tipo de dentifrício. Os resultados apresentados demonstraram que houve tendência de maiores picos plasmáticos de F seguidos da ingestão do dentifrício contendo NaF do que aquele formulado com MFP/CaCO₃. O mesmo padrão foi visto em relação à quantidade de F na urina, sugerindo, portanto, um maior grau de absorção de dentifrícios contendo fluoreto de sódio do que aquele contendo MFP/CaCO₃. Todavia nesse estudo, a concentração de fluoreto solúvel total presente nos dentifrícios não foi considerada.

Roldi & Cury (1986) estudaram a biodisponibilidade de F dos dentifrícios mais vendidos no Brasil na época por meio da análise comparativa das curvas de absorção plasmática e salivares de F, assim como da excreção urinária. Em relação ao delineamento experimental do estudo, três voluntários ingeriram suspensão contendo 6 g de um dos seguintes dentifrícios: (1) Kolynos Azul com Flúor (0,76% MFP + carbonato de cálcio), (2) Anti-cárie Xavier (composição não declarada na embalagem), (3) Pruff (MFP – composição do abrasivo não declarada na embalagem), (4) Aim (composição não declarada na embalagem), (5) Kolynos Gel (0,76% MFP + sílica), (6) Colgate Flúor Gard (0,76% MFP + fosfato de cálcio) e (7) Signal com Flúor (0,8% MFP + alumina hidratada). Os autores observaram que as concentrações plasmáticas e salivares ocorreram em função da

concentração de F solúvel total presente nos dentifrícios, e que em formulação com abrasivos contendo carbonato de cálcio e fosfato de cálcio houve menor absorção de F. Os autores concluíram ainda que, se houvesse ingestão de dentifício durante as três escovações diárias, poderia ser ingerida e absorvida uma quantidade de fluoreto recomendada pelos métodos sistêmicos de administração que ainda eram utilizados na época, fato este que deveria ser levado em consideração.

A absorção do íon flúor no trato gastrointestinal pode estar sujeita a vários outros fatores além da acidez gástrica, como por exemplo, o tipo de formulação do dentifício fluoretado e o conteúdo gástrico no momento da absorção. Ekstrand & Spak (1988) estudaram o efeito da ingestão de alimentos na biodisponibilidade de F ingerido na forma de dentifício fluoretado. Em relação ao delineamento do estudo, os voluntários (n=6) ingeriram 3 mg de F nas seguintes ocasiões: em jejum, 15, 60 ou 120 minutos após ingerirem um café da manhã padrão. Em cada fase, 3 g de dentifício (dentifício contendo 0.76% de MFP) eram ingeridas na forma de suspensão de dentifício. Amostras de plasma foram coletadas por até seis horas após a ingestão. Os resultados apontaram que a biodisponibilidade do F foi menor após 15 e 60 minutos da ingestão de alimentos; entretanto, após 120 minutos da ingestão, não houve diferença estatística em relação à situação de jejum. Os autores concluíram que a implicação clínica do estudo seria de que, se a escovação ocorrer logo após as refeições, a absorção de F será inibida em algum grau e altos picos plasmáticos de F não irão ocorrer.

Drumond *et al.* (1990) estimaram a absorção de F a partir de diferentes formulações de dentifrícios, por meio da análise de amostras de saliva total. Os dentifrícios selecionados e formulados para a realização do estudo foram escolhidos considerando-se as formulações de dentifrícios presentes no mercado, sendo eles: (1) dentifício a base de carbonato de cálcio contendo 0,8% MFP, (2) dentifício não fluoretado a base de carbonato de cálcio, (3) dentifício a base de dicálcio fosfato diidratado contendo 0,8% MFP, (4) dentifício não fluoretado a base de dicálcio fosfato diidratado, (5) dentifício a base de sílica contendo 0,8% MFP, (6) dentifício a base de sílica contendo 0,22% NaF, (7) dentifício não fluoretado a base de sílica, (8) dentifício a

base de alumina contendo 0,8% MFP, (9) dentifrício não fluoretado a base de alumina. Como controles, os voluntários ingeriram água destilada e tabletes de NaF puro. Os dentifrícios foram ingeridos na forma de cápsulas de gelatina, contendo aproximadamente 1,0 g de dentifrício por cápsula, o que corresponderia a em média 5,0 mg F. Dentre os resultados, foi identificado uma absorção significativamente menor apenas do dentifrício a base de MFP/dicálcio fostato diidratado quando comparado com o controle de NaF. Os outros grupos avaliados contendo F não diferiram estatisticamente entre si. Os autores concluíram que a menor absorção estaria relacionada à ligação de F com o abrasivo, sendo ainda necessários mais estudos de biodisponibilidade elucidando os mecanismos que possam estar envolvidos nos diferentes perfis de absorção de F encontrados quando da ingestão de diferentes formulações de dentifrícios.

Cury *et al.* (2005a) avaliaram o efeito combinado das refeições e de um dentifrício de baixa concentração de F na redução da absorção de F, testando-se a hipótese de que, se um dentifrício convencional fosse utilizado logo após as refeições seria tão seguro quanto um dentifrício de baixa concentração utilizado em jejum, em termos de risco de fluorose dental. Os dentifrícios avaliados possuíam sílica como abrasivo, e continham 0, 550 e 1100µg F/g, na forma de NaF. Foram simuladas três condições de conteúdo gástrico: jejum, após café da manhã e após almoço. Os voluntários ingeriram suspensão do dentifrício (45 mg/kg de peso corporal) em jejum ou 15 minutos após as refeições, sendo realizadas coletas de amostras de saliva e urina para se avaliar a biodisponibilidade de F. Considerando-se os resultados encontrados, os autores sugeriram que, em relação ao risco de fluorose dental, a utilização de dentifrício convencional contendo 1000 a 1100 µg F/g logo após as refeições seria tão seguro quanto o de baixa concentração ingerido em jejum.

2.2 FLUOROSE DENTAL

A fluorose ocorre devido à exposição crônica do esmalte à F durante seu período de formação. Essa exposição ocorre de maneira sistêmica, ou seja, é resultado de

todo o F ingerido, absorvido e distribuído pelo organismo por meio da circulação sanguínea, atingindo a matriz do esmalte secretada pelos ameloblastos (DenBesten & Crenshaw, 1987; Fejerskov *et al.*, 1990; Aoba & Fejerskov, 2002).

Especificamente, a formação do esmalte dentário envolve uma fase de proliferação e diferenciação celular, seguida pela fase de secreção de matriz protéica e uma fase de degradação, onde há degradação das proteínas pelas proteases. A formação dos cristais do esmalte se caracteriza pela precipitação de precursores ácidos, com consequente crescimento do cristal de hidroxiapatita. Acredita-se que o F tenha capacidade de acelerar a precipitação da apatita, diminuindo o volume do cristal e a remoção de proteínas de dentro do cristal. Portanto, o F parece interferir mais diretamente na fase de maturação do esmalte dentário. Uma vez que pode haver sobreposição das duas fases (secreção e maturação), a exposição do F durante e após a fase de secreção também pode aumentar o risco à fluorose dentária (Aoba & Fejerskov, 2002).

Ainda a respeito dos mecanismos moleculares envolvidos na patogênese da fluorose, outros mecanismos são propostos para elucidar qual seria o efeito do F na formação do esmalte, como: efeito direto do F nos ameloblastos (Kubota *et al.*, 2005, Yan *et al.*, 2007), alterações na formação da matriz do esmalte afetando indiretamente a função do ameloblastos (DenBesten *et al.*, 2002), redução da atividade proteolítica (DenBesten *et al.*, 1985, Richards *et al.*, 1989), entre outros. Entretanto, ainda não há consenso na literatura a respeito de qual seria o mecanismo molecular primário envolvido nesse processo (Aoba e Fejerskov, 2002, Bronckers *et al.*, 2009).

Histologicamente, o esmalte fluorótico é caracterizado por uma subsuperfície hipomineralizada recoberta por uma superfície normalmente mineralizada (Fejerskov *et al.*, 1990). A severidade da fluorose dentária está relacionada à dose e a duração da exposição ao F, havendo uma correlação direta entre o aumento da quantidade de F ingerido por um indivíduo e a subsequente ocorrência da fluorose (Warren *et al.*, 1999). Além da dose de F ingerida cronicamente, outros fatores interferem na severidade da doença: baixo peso corporal, taxa de crescimento esquelético e períodos de

remodelamento ósseo que constituem de fases de maior absorção do F; estado nutricional, altitude e alterações da atividade renal e da homeostase do cálcio também são fatores relevantes (DenBesten, 1999).

Sugere-se que o período crítico de exposição a F durante a amelogênese que seria responsável pelo desenvolvimento de fluorose, nos primeiros molares, incisivos e pré-molares permanentes esteja compreendido desde o nascimento até os 11, 12 e 24 meses, respectivamente (Ishii & Suckling, 1991). Porém, alguns autores estimam que o período de transição e maturação inicial do esmalte dentário em incisivos centrais superiores mais suscetível à fluorose está entre a idade de 20 e 36 meses (Evans & Stamm, 1991). No entanto, em um estudo de meta-análise a respeito dos períodos de risco que estariam associados ao desenvolvimento de fluorose dental em incisivos centrais superiores permanentes, importantes do ponto de vista estético, Bardsen *et al.* (1999) afirmam que a duração da exposição do F durante a amelogênese dentária, mais do que períodos específicos de risco, parece explicar melhor o desenvolvimento do fluorose dental, ou seja, exposição mais prolongada resulta em efeitos mais evidentes.

É importante, portanto, que haja um equilíbrio entre os benefícios da utilização de fluoretos na prevenção da cárie dentária e o risco de desenvolvimento de fluorose (Do & Spencer, 2007). Entretanto, existem inúmeras dificuldades para estimar uma relação dose-resposta em relação à fluorose dental válida, considerando que o tempo entre o período de exposição a fluoretos e seu efeito. De acordo com Fejerskov (1996) a ingestão de água fluoretada equivalente a 0,02 mg F/kg peso corporal estaria associado a uma prevalência de fluorose em torno de 40-50%, reduzindo para 15-25% quando a classificação “questionável”, pelo Índice de Dean, é excluída. Nesse sentido, Richards *et al.*, (1989) em um estudo realizado com 7000 crianças de 18 áreas contendo diferentes concentrações de F na água, verificaram que a dose diária de F estava correlacionada positivamente com a prevalência de fluorose. Concomitantemente, Butler *et al.*(1985) verificaram em 2500 crianças de 16 comunidades do Texas, que outras fontes de F, além da água fluoretada, estavam associadas com a prevalência de fluorose. Esses

estudos, portanto, permitiram demonstrar uma relação linear entre ingestão de F e fluorose resultante.

Os estudos epidemiológicos desenvolvidos no mundo na década de 90 descrevem diferenças na prevalência da fluorose, que variam desde a quase ausência da doença nas populações – 2,2%, até proporções maiores que 90% (Akpatha *et al.*, 1997; Downer, 1994). Observa-se, entretanto, que mesmo com altas prevalências, a proporção de indivíduos que apresentam as formas moderada e severa ainda é pequena, só aumentando significativamente nos locais onde a fluorose é endêmica e deve-se à alta concentração do F nas fontes naturais de água (Cangussu *et al.*, 2002).

De acordo com os dados do levantamento epidemiológico SB Brasil, em 2003, a prevalência de fluorose entre os examinados pôde ser considerada baixa: 7,31% aos 12 anos e 19,15% entre os 15 e 19 anos, sendo que destes, somente 1,37% e 0,64% respectivamente apresentam fluorose severa. A presença de fluorose dentária (condições muito leve, leve, moderada e severa) foi identificada tanto em municípios com F na água de abastecimento quanto em municípios sem F na água, com uma maior prevalência nos municípios com F, entretanto, a maior parte dos casos foram classificados entre as condições muito leve e leve, que possuem pequena repercussão na estética e nenhuma na função dos dentes envolvidos. Comparativamente, ao relacionar-se os resultados encontrados para a prevalência de cárie dental e fluorose do presente levantamento, os dados epidemiológicos apontaram que CPO-D nas crianças de 12 anos e adolescentes dos municípios que têm água fluoretada foi de 2,27 e 5,69, respectivamente. Já nos municípios que não têm flúor na água, o CPO-D médio das crianças de 12 anos foi de 3,38 (49% maior) e dos adolescentes de 6,56 (15% maior) (Brasil, 2004), reforçando a importância dos meios coletivos de uso de F para o controle da cárie.

A respeito do último levantamento realizado em 2010 no Brasil, 16,7% apresentavam fluorose aos 12 anos de idade, sendo que 15,1% foram representados pelos níveis de severidade muito leve (10,8%) e leve (4,3%). Fluorose moderada foi identificada em 1,5% das crianças. O percentual de examinados com fluorose grave pode ser considerado nulo. A maior prevalência de crianças com fluorose foi observado na região

Sudeste (19,1%) e o menor valor, na região Norte (10,4%). Considerando-se dados para cárie dental, houve uma redução de 26% do índice CPO-D, aos 12 anos de idade, em relação ao último levantamento realizado (Brasil, 2011).

Considerando-se os resultados encontrados em ambos os levantamentos epidemiológicos, pode-se concluir, portanto que, em vista do indiscutível benefício da utilização de fluoretos, e diante da baixa prevalência e severidade constatada, a fluorose não representa um risco à saúde dos indivíduos. Ainda é importante ressaltar que apesar de atualmente o impacto da água fluoretada em termos de benefício anticárie ser menor que no passado, pela utilização e disponibilização de outros produtos fluoretados, a mesma ainda apresenta grande importância para o controle da cárie dental, principalmente considerando as dimensões e diferenças sociais do país.

Em uma recente revisão da literatura, Chankanka *et al.* (2010) avaliaram a relação entre qualidade de vida relacionada a saúde bucal/aparência dental e fluorose dental. Após busca de dados por meio do PubMed, 35 artigos foram qualificados para inclusão no estudo e classificados baseados no tipo de abordagem do estudo. Dentre as conclusões do estudo, verificou-se que a maior parte da fluorose dental nos Estados Unidos e outras nações, encontrava-se nos níveis leve ou muito leve, o que não causou impacto adverso na saúde bucal relacionada à qualidade de vida. Portanto, os profissionais da área de Saúde Pública Dental e da área de Odontopediatria deveriam focar seus esforços primariamente no uso apropriado de fluoretos na redução dos índices de cárie dental e na prevenção de fluorose em níveis moderados/severos, que foi consistentemente relatado causar efeitos negativos na qualidade de vida.

2.2.1 FATORES DE RISCO PARA FLUOROSE DENTÁRIA

As principais fontes de F associadas ao aumento da prevalência da fluorose dental são: água, suplementos, dentifrícios e alimentos infantis industrializados antes dos seis anos de idade (Mascarenhas, 2000). Dentre essas fontes, destacam-se o consumo de

água fluoretada e a ingestão inadvertida de dentifrícios fluoretados. Os fatores de risco são descritos separadamente a seguir.

2.2.1.1 Água fluoretada

Um dos primeiros relatos de fluorose dentária ocorreu no início do século XX, em crianças de uma comunidade americana chamada Colorado Springs. Na época, esta alteração foi definida como “esmalte mosqueado” (McKay & Black, 1916). McKay analisou as condições climáticas e os hábitos alimentares e, intrigado com as razões dessa alteração dentária, percebeu que a água ingerida pelos indivíduos era a única diferença entre eles, alguns eram abastecidos por água proveniente de poços rasos; enquanto que outros grupos serviam-se de água retirada de poços profundos – estes apresentavam dentes manchados. Surgiu então a hipótese de que algum elemento químico existente na água seria responsável pela diferença (McKay & Black, 1916; McKay, 1928). Identificou-se posteriormente que essa diferença seria a concentração de F, que variou de 2,0 a 12,0 ppm F nas regiões com fluorose endêmica.

Alguns anos depois, em 1942, Dean realizou um estudo conhecido como “Estudo das 21 cidades”, que procurou descobrir concentrações de fluoreto na água capazes de uma ação preventiva e eficaz na redução da cárie dentária, ao mesmo tempo em que buscou responder qual concentração de F na água provocava fluorose. Utilizando cálculos matemáticos para interpolar o efeito anticárie versus fluorose nas cidades com distintas concentrações de F, foi determinado que o melhor balanço benefício x risco seria obtido com concentrações em torno de 1 ppm.

Observando o efeito do F na prevenção de cárie, em 1945, o F foi adicionado pela primeira vez à água de abastecimento, na cidade de Grand Rapids, Michigan. Depois de mais de 10 anos, o número de dentes com experiência de cárie diminuiu de 12,5 em 1944 para 6,2 em 1959, com uma redução em torno de 50%. Esse resultado foi repetido em numerosos estudos por todos os Estados Unidos e em outras partes do mundo, o que

proveu uma evidência inquestionável da eficácia da fluoretação das águas (Arnold *et al.*, 1962).

No Brasil, o município de Baixo Guandu, no Espírito Santo, foi o primeiro a adicionar F artificialmente na água, em 1953. A partir dessa data, a fluoretação foi se expandindo por todo o país e estima-se que aproximadamente 43% da população brasileira receba este benefício (Narvai, 2000). Atualmente, o Brasil dispõe do segundo maior sistema de fluoretação de águas de abastecimento público de todo o mundo (Brasil, 2009). Utilizando-se uma fórmula de conversão que considera a temperatura média anual (Galagan & Vermillion, 1957), a concentração ótima de 0,7 ppm F (0,6-0,8 ppm F) foi estabelecida como ideal para a maioria das regiões do Brasil, considerando a maior ingestão de líquidos devido às maiores temperaturas (Lima & Cury, 2003).

Em um estudo realizado em cidades com fluoretação da água de abastecimento e cidades sem fluoretação no ano de 1987, anteriormente ao uso disseminado de dentifrícios fluoretados no Brasil, Maltz & Farias (1998) avaliaram a prevalência de fluorose dental por meio do Índice Thylstrup & Fejerskov em 4 cidades localizadas em duas regiões com condições climáticas distintas. Dentre os resultados, os autores detectaram que a prevalência e a severidade de fluorose foram baixas nas cidades com água fluoretada, sugerindo que somente o consumo de água fluoretada não causava alta prevalência de fluorose, mesmo em cidades com clima tropical semi-árido. No entanto, vale ressaltar que se observou uma grande variação na concentração de F presente nas cidades que possuíam água de abastecimento fluoretada ($0,45 \pm 0,26$ à $0,96 \pm 0,11$ ppm F, durante o período de 1979 a 1987) visto que não havia controle operacional da concentração de F na região.

Em uma revisão sistemática acerca da fluoretação da água, McDonagh *et al.* (2000), após análise de 214 estudos, observaram que a fluoretação da água de abastecimento estava associada com um aumento na proporção de crianças livres de cárie e uma redução no número de dentes afetados por cárie. Como único efeito colateral da exposição à água fluoretada, os autores encontraram um aumento dose-dependente na fluorose dental, sendo que com um nível de 1 ppm F, estimou-se que 12,5% das pessoas

expostas teriam fluorose considerada preocupante do nível estético. Os autores reforçaram a idéia de que qualquer decisão acerca da fluoretação das águas não apenas em relação a risco (fluorose dental)/benefício (redução da cárie dental), mas também aspectos éticos, ambientais, ecológicos, financeiros e legais.

Dados do levantamento das condições de saúde bucal do estado de São Paulo, realizado em 2002, apontaram que a prevalência de fluorose, aos 12 anos de idade, nos municípios com flúor na água de abastecimento, foi de 13,77%, enquanto que, nos municípios sem água fluoretada, essa porcentagem reduziu para 0,66%. Na faixa etária de 15 a 19 anos, 6,26% dos indivíduos que viviam em municípios com água fluoretada apresentaram fluorose, enquanto que naqueles sem flúor na água de abastecimento, a prevalência reduziu para 0,40% (Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo, 2002).

Clark *et al.* (2006) avaliaram as mudanças no perfil da prevalência da fluorose dental e na percepção estética após cessado o abastecimento de água fluoretada, no ano de 1992, na província de British Columbia, no Canadá. Nos anos de 1993-1994 foram examinadas crianças cujo desenvolvimento dos dentes permanentes ocorreu durante a época de abastecimento com água fluoretada. Para a quantificar a fluorose dental, foi utilizado o Índice de Thylstrup-Fejerskov (TF) e a percepção estética foi avaliada por meio de questionários respondidos pelos responsáveis. Em 1996-1997, os voluntários possuíam dentes permanentes expostos tanto à água fluoretada como a não fluoretada, e em 2002-2003, todos os participantes estavam expostos exclusivamente à água não fluoretada. O estudo mostrou que a prevalência de fluorose reduziu de 58% para 24% após dez anos de paralisação da fluoretação da água de abastecimento público. A distribuição do índice TF sugeriu que a severidade da fluorose também sofreu uma diminuição, com índices TF menores do que 3 após o período de paralisação da fluoretação das águas de abastecimento.

Catani *et al.* (2007) avaliaram a relação entre os níveis de fluoreto na água de abastecimento público e a prevalência de fluorose dentária em 386 escolares de sete anos de idade, moradores de dois municípios do estado de São Paulo, que realizaram heterocontrole da fluoretação de suas águas, resultando em concentrações homogêneas

(0,6 – 0,8 ppm F) ou oscilantes (0,3 – 1,2 ppm F) durante os anos de realização do controle. A prevalência de fluorose no município com teores oscilantes de F na água foi de 31,4%, e no município com teores homogêneos de 79,9%. É importante destacar que, embora o percentual de crianças com fluorose no município com teores homogêneos de fluoreto na água tenha sido superior ao do município com concentrações oscilantes, não foram encontrados percentuais elevados de fluorose nos graus moderado e severo. Predominou-se o grau leve, que seria o esperado em locais com teores adequados de F na água de abastecimento. Os autores sugeriram a possibilidade de associação entre a regularidade da manutenção da concentração ótima de F na água com o aumento da prevalência de fluorose dentária, em consonância com revisão da literatura (Bardsen, 1999) que demonstrou que a exposição prolongada a F tem implicações na fluorose resultante.

Em regiões de água fluoretada, os alimentos cozidos com a mesma apresentam uma concentração de F mais elevada quando comparados aos preparados com água não fluoretada. Casarin *et al.* (2007) analisaram a concentração de F no arroz, feijão e em alimentos industrializados infantis do comércio brasileiro afim de estimar suas contribuições para o desenvolvimento de fluorose dental. Dentre os resultados, a quantidade de F ingerido numa refeição de arroz e feijão cozidos com água otimamente fluoretada foi considerada segura, pois corresponde a 29% do limite da dose de risco de fluorose dental. Os autores sugeriram que, considerando a concentração de F nos alimentos, a quantidade ingerida e a dose considerada como limiar para uma fluorose clinicamente aceitável (Burt, 1992), a maioria dos alimentos estudados não constituem motivo de preocupação quanto à toxicidade crônica do fluoreto, inclusive os alimentos típicos da dieta brasileira.

A concentração de F natural em produtos da dieta também pode apresentar risco de fluorose para crianças jovens. Hayacibara *et al.* (2004) verificaram a concentração de F em diversos chás, em sachês ou prontos para beber. As análises demonstraram que uma marca de chá pronto para beber apresentava uma dose de F que, se fosse ingerida 1 lata/dia, a dose seria duas vezes superior ao limiar de ingestão de F considerado-se o

desenvolvimento de fluorose em níveis esteticamente aceitáveis. Outros alimentos (como tipos especiais de peixes e mariscos) e bebidas, que também possuem F natural em sua composição, contribuirão da mesma forma para o risco de desenvolvimento da fluorose (Clark, 1994).

2.2.1.2 Suplementos de flúor

A indicação de suplementos fluoretados para serem ingeridos e agirem sistemicamente surgiu a partir da suposta ação do F durante o período de mineralização dos dentes (Fejerskov, 1996).

Em 1996, Guha-Chowdhury *et al.* realizaram um estudo para testar a hipótese de que a quantidade total de F ingerida através da dieta, dentifício e suplementos por crianças residentes em áreas com baixos teores de F na água, era similar àquela recebida por meio da dieta e do dentifício por crianças residentes em áreas fluoretadas. Os autores verificaram que, se crianças pertencentes a áreas de baixos teores de F recebessem 0,5 ou até mesmo 0,25 mg F/dia, receberiam uma quantidade total de F superior às recebidas pelas crianças das áreas fluoretadas. Desta maneira, este estudo foi importante visto que apontou que deveria haver a redução das doses de F dos suplementos com o objetivo de diminuir o risco de fluorose nos dentes anteriores permanentes e primeiros molares.

Em uma revisão sistemática da literatura, Ismail & Bandekar (1999) investigaram se o uso regular de suplementos fluoretados em regiões de água não-fluoretada durante o período de desenvolvimento dental aumentaria o risco de fluorose dental. Análise qualitativa dos estudos selecionados apontou forte e consistente associação entre uso de suplementos fluoretados e fluorose dental. A revisão confirmou que em locais de água de abastecimento não-fluoretada, o uso de suplementos fluoretados nos primeiros seis anos de vida é associado significativamente com o aumento no risco de desenvolvimento de fluorose.

Sob esse mesmo aspecto, Mascarenhas (2000) apontou que o risco de fluorose dentária em regiões com água fluoretada, quando há concomitantemente a utilização de suplementos fluoretados, é quase quatro vezes maior do que em áreas não fluoretadas.

Dessa forma, considerando que o mecanismo de ação do F é por meio de sua ação local quando presente na cavidade bucal e levando-se em conta a abrangência dos métodos tópicos de utilização de F, em especial destaque os dentifrícios fluoretados, a indicação de suplementos fluoretados para se alcançar um efeito sistêmico, parece ser contra-indicada.

2.2.1.3 Dentifrícios fluoretados

No Brasil, até a década de 70, a única fonte de exposição sistêmica coletiva a F era a água fluoretada. Em 1989, os dentifrícios passaram a ser uma fonte significativa de F devido à fluoretação do creme dental responsável por 50% do consumo total da população brasileira (Cury, 1989). Em acréscimo, a partir de 1990, praticamente 100% dos dentifrícios vendidos no Brasil passaram a conter F em sua composição. (Cury *et al.*, 2004).

Sendo considerado um dos métodos mais racionais de prevenção de cárie, pois associa a remoção do biofilme dental à exposição constante local do biofilme e da saliva a F, sua utilização tem sido considerada responsável pela diminuição nos índices de cárie observados no mundo todo e sua eficiência na redução de tais índices tem sido suportada pelas melhores evidências científicas (Marinho *et al.*, 2003, 2004, Walsh *et al.*, 2010).

Quanto à efetividade dos dentifrícios fluoretados, a mesma está diretamente relacionada com disponibilidade do F em sua forma solúvel (íon F^- e íon MFP); portanto, o requisito mínimo para que um dentifrício tenha potencial anticárie é que ele possua F em concentrações adequadas na forma solúvel e que essas concentrações mantenham-se estáveis com o tempo. A respeito deste fato, Cury (1986) avaliou a estabilidade do F em sete dentifrícios brasileiros comercializados após seis e 12 meses do armazenamento à temperatura ambiente, constatando nos dentifrícios a base de $NaF/CaCO_3$ uma

diminuição da concentração de F solúvel, sendo que após um ano, apenas 20% do F permaneceu disponível. Houve um simultâneo aumento da concentração de F insolúvel, devido a ligação com o abrasivo, a base de Ca, indicativo de incompatibilidade do sal NaF com abrasivos a base de Ca, uma vez que o mesmo ioniza-se em meio aquoso, liberando F para reagir com o Ca e formar compostos insolúveis.

Posteriormente, em 1994, Tabchoury & Cury desenvolveram uma condição laboratorial capaz de determinar previamente o que ocorreria com a concentração de F solúvel de um dentifrício após um ano de fabricação, considerando-se que seria inadequado observar novas formulações de dentifrício por um ano para então saber se elas atenderiam as normas estabelecidas. Para tal, foram utilizados dentifrícios na forma de NaF e MFP, ambos contendo CaCO_3 como abrasivo. Os dentifrícios foram armazenados tanto a temperatura ambiente, sendo analisados após 44, 90, 179 e 358 dias, como foram também armazenados a 45 e 55 °C em estufa, sendo analisados após 24, 48, 96, 192 e 384 horas, testando-se a melhor condição laboratorial que simularia o envelhecimento precoce dos dentifrícios. Após a análise dos resultados, os autores concluíram que para os dentifrícios contendo NaF, o armazenamento a 45 °C durante 192 horas (8 dias) corresponderia ao armazenamento à temperatura ambiente por um ano. Para os dentifrícios contendo MFP, o armazenamento a 55 °C durante 384 horas (16 dias) seria o mais adequado para simular tal condição.

Outro aspecto estudado em relação à estabilidade de dentifrícios fluoretados está relacionado à temperatura na qual seria armazenado levando-se em conta as condições climáticas de uma determinada região. Nesse sentido, Conde *et al.* (2003) avaliaram a disponibilidade e estabilidade de F em dentifrícios comprados e consumidos na cidade de Manaus, Amazonas, considerando a distância das indústrias produtoras de dentifrício, situadas no estado de São Paulo, assim como as condições climáticas da cidade. Foram testados os cinco dentifrícios mais consumidos na cidade (todos formulados a base de MFP/ CaCO_3) além de dois dentifrícios formulados com NaF/ SiO_2 (Crest® e Tandy®). As análises da concentração de F presente foram realizadas logo após a aquisição dos produtos, e após 4, 8 e 12 meses. Duas situações de armazenamento foram

avaliadas: o primeiro, pela manutenção dos dentifrícios em ambiente refrigerado, simulando condições de um estabelecimento comercial, e o segundo, mantendo-se os dentifrícios estocados a temperatura residencial ambiente. Os resultados mostraram que os dentifrícios a base de MFP/CaCO₃ não mantiveram-se estáveis quando do armazenamento sendo que o maior aumento da concentração de F insolúvel (frente a hidrólise do MFP e posterior ligação com o Ca do abrasivo) ocorreu a temperatura ambiente, atingindo em torno de 40% de F na forma insolúvel. Os autores concluíram que dependendo da condição de armazenamento, a perda de F solúvel pode comprometer o efeito anticárie de alguns tipos de formulações de dentifrício.

Os dentifrícios fluoretados podem ser considerados como uma forma indireta de exposição sistêmica a F, devido à ingestão por crianças durante a realização da escovação. A principal faixa etária de risco de desenvolvimento da fluorose dentária está situada entre 20 e 30 meses de idade. Nessa faixa, o reflexo de expectoração não está totalmente desenvolvido e a ingestão de flúor pelo dentifrício pode ser acima da recomendada (Paiva *et al.*, 2003). Além disso, esse período é considerado como crítico devido ao envolvimento estético dos dentes anteriores, de acordo com a cronologia de formação (Bardsen, 1999; Wong *et al.*, 2010).

Mascarenhas & Burt (1998) avaliaram a prevalência e o risco de desenvolvimento de fluorose dental pelo dentifrício fluoretado em uma população em que ele é a única fonte potencial de exposição a F, pela realização de exame clínico e utilização de questionários. Foram avaliadas 1189 crianças, com idade média de 12,2 anos, em Goa, na Índia. Os resultados mostraram prevalência de fluorose dental em torno de 12,9% aos 12 anos de idade, sendo que o uso de dentifrício fluoretado antes dos 6 anos de idade foi considerado um indicador de risco para a fluorose dentária nessa população. Além disso, dentre as crianças com fluorose, o aumento da severidade teve correlação significativa ($p < 0,001$) com início da escovação antes dos 2 anos de idade.

Segundo Richards & Banting (1996), a quantidade média de dentifrício aplicado na escova por crianças menores de 6 anos é de 0,55g por escovação. Em média, 48% desta quantidade é ingerida por crianças de 2-3 anos, 42% por crianças de 4 anos e

32% por crianças de 5 anos, sugerindo-se que a quantidade de dentifrício ingerida tende a diminuir com a idade. Em estudo realizado por Paiva *et al.* (2003), realizado com crianças de 20 a 30 meses de idade, a ingestão de F exclusivamente pelo dentifrício foi de 0,052 mg F/kg/dia e 0,062 mg F/kg/dia, nas cidades de Piracicaba (SP) e Ibiá (MG), respectivamente. Adicionalmente, em 2006, Franzman *et al.* apontaram que aos 16 meses de idade, uma criança ingeria em média 0,002 mg F/kg peso corporal por escovação. Aos 24 meses, esse valor situava-se em torno de 0,010 a 0,017 mg F/kg peso corporal, e aos 36 meses, 0,012 a 0,016 mg F/kg peso corporal a cada escovação.

Algumas das variáveis relacionadas ao uso de dentifrício e o risco de fluorose são a frequência da escovação e a quantidade de dentifrício utilizada correlacionados com a quantidade ingerida durante as escovações (Warren & Levy, 1999). Outra variável que poderia estar relacionada ao uso de dentifrício e o risco de fluorose é o uso de dentifrícios fluoretados com sabores especiais para crianças, o que poderia levar a um consumo maior em relação aos dentifrícios convencionais. Oliveira *et al.* (2007) determinaram a ingestão de F em crianças de 20 a 30 meses de idade de acordo com o tipo de dentifrício utilizado, convencional ou infantil. Os resultados mostraram que a ingestão de fluoreto foi um pouco maior com o uso de dentifrícios com sabores especiais para crianças em relação ao convencional. No entanto, Moraes *et al.* (2007) ao avaliarem a influência do sabor do dentifrício na quantidade de F ingerida durante a escovação, por crianças na faixa etária de 2 a 3 anos, verificaram que o sabor do dentifrício não influenciou na ingestão de fluoreto, pois a porcentagem de ingestão dos diferentes grupos (grupo A e B – dentifrícios infantis; grupo C- dentifrício convencional) foi similar.

Ellwood & Cury (2009) ao revisarem que o risco de fluorose é dependente da dose ingerida, sugeriram que a eficácia anticárie de uma dada dose de F poderia ser maximizada utilizando pequenas quantidades de dentifrício fluoretado de maior concentração do que quantidades maiores de dentifrício fluoretado de baixa concentração. Este efeito entre a dose e a concentração de fluoreto também foi investigado por Duckworth & Stewart (1994), que também sugeriram que a aplicação de

uma dose de F em pequeno volume e maior concentração pode aumentar o benefício anticárie sem aumentar o risco de efeitos adversos.

Em recente estudo, Warren *et al.* (2010) compararam a experiência de cárie dentária e a prevalência de fluorose levando-se em consideração o uso de diferentes quantidades de dentifrício fluoretado em crianças, durante o período pré-escolar. Os dados foram obtidos a partir do Iowa Fluoride Study, que realizou um estudo coorte ao nascimento, por meio de questionários respondidos pelos responsáveis com questões detalhadas sobre exposição a fluoretos com intervalos de três a seis meses. Aos cinco anos de idade, os grupos foram comparados quanto à experiência de cárie, e aos nove anos, os incisivos superiores foram avaliados para a detecção de fluorose dentária. Concluiu-se que a utilização de pequena quantidade de dentifrício promove prevenção da cárie dentária equivalente àquela quando se utiliza uma maior quantidade de dentifrício, com risco reduzido para a fluorose dentária.

Adicionalmente, em 2010, Feldens *et al.* avaliaram o padrão de uso de dentifrício fluoretado e fatores associados em crianças brasileiras em idade pré-escolar. Por meio de um questionário estruturado, questões a respeito da quantidade de dentifrício utilizada e idade referente ao início do uso de dentifrício fluoretado foram avaliadas. Os resultados apontaram que 57,7% do dentifrício aplicado na escova seguia a técnica de aplicação transversal, que corresponderia em média a 0,3 g de dentifrício. Entretanto, 33,6% responderam utilizar a técnica longitudinal de deposição do dentifrício na escova, que corresponderia em média a 0,9 g de dentifrício. Quanto ao início do uso de dentifrício fluoretado, 75% dos participantes relataram terem introduzido o uso dentifrício contendo F antes dos 2 anos de idade. Os autores enfatizaram a importância da introdução precoce do uso de dentifrício fluoretado como medida de saúde pública assim como a importância na redução da quantidade de dentifrício utilizado a cada escovação, minimizando o risco de desenvolvimento de fluorose.

Evidências disponíveis em uma revisão sistemática sobre o uso do F tópico como fator de risco para o desenvolvimento da fluorose dentária em crianças (Wong *et al.*, 2010) apontaram que a maioria das evidências disponíveis concentra-se em fluorose

numa severidade classificada como leve. Ainda, há evidências duvidosas fracas de que o uso de dentifrício fluoretado em crianças com menos de 12 meses de idade possa estar associado a um aumento do risco de fluorose. A evidência do uso entre as idades de 12 e 24 meses parece ser equívoca. Adicionalmente, os autores corroboraram a afirmativa de que deve haver um equilíbrio entre os benefícios do uso do F tópico na prevenção da cárie e o risco de desenvolvimento de fluorose.

A partir dessa premissa de se buscar um equilíbrio entre riscos e benefícios da utilização de F, é de extrema importância que sejam consideradas as melhores evidências científicas disponíveis a respeito tanto da recomendação de dentifrícios fluoretados quanto sobre práticas de higiene oral. Nesse sentido, dois estudos recentes (Santos *et al.*, 2010 e 2011) apontaram resultados importantes no que diz respeito a inconsistência entre órgãos governamentais, como as Secretarias de Saúde no Brasil, e organizações na área de pediatria, ligadas a Odontologia e Medicina, quanto a recomendação de práticas de higiene oral para crianças. Foram pesquisadas quais eram as condutas indicadas quanto a hábitos de escovação, como técnica utilizada, frequência, horário, supervisão, indicação de idade para o início da prática entre outros. Ainda, em relação aos dentifrícios fluoretados, foram coletadas informações a respeito de tipo de dentifrício utilizado, quantidade aplicada na escova e recomendação quanto à ingestão acidental. Dentre os resultados, diversas das informações que são disponibilizadas demonstraram inconsistências entre as diferentes organizações e, apesar de algumas estarem de acordo com as evidências científicas disponíveis, a maioria não era suportada por achados científicos, como por exemplo, a indicação do uso de dentifrício não-fluoretado por crianças menores de seis anos. Tais estudos destacam a importância da realização e disseminação de revisões sistemáticas para que haja um consenso entre os diversos órgãos quando da transmissão das informações à população com intuito de que as mesmas sejam baseadas nas melhores evidências.

2.2.2 DOSE ESTIMADA DE INGESTÃO DE FLUORETO POR CRIANÇAS

Qualquer utilização de F por crianças, seja sistêmica ou tópica, resultando em ingestão e conseqüentemente absorção do mesmo torna-se relevante em relação à fluorose dentária (Fejerskov *et al.*, 1990). Dessa forma, diversos estudos têm sido realizados para estimar a dose total de F ingerido por crianças em idade de risco de desenvolvimento da doença.

Sob tal aspecto, pesquisas que analisam a ingestão total de F por meio da dieta líquida e sólida e do uso de dentifrício fluoretado apresentam algumas limitações no que diz respeito ao confronto desses estudos, principalmente devido a aplicação de metodologias variadas, discordâncias em relação a dose de risco, diferentes faixas etárias e unidades de medidas para a avaliação dos níveis de ingestão de F e risco potencial de desenvolvimento de fluorose dentária.

Em relação à dose de risco de desenvolvimento de fluorose dental, Burt (1992) por meio de uma revisão de diversos estudos realizados na América do Norte estudou a mudança nos padrões de ingestão de F desde a década de 70, levando em consideração a evidência do aumento da ingestão de F por diversas fontes (dieta, alimentos industrializados, dentifrícios) juntamente com o fato do F ser considerado na época como um micronutriente essencial. Em um breve retrospecto histórico, em 1943, McClure estimou que a quantidade de F ingerida por crianças na faixa de 1 a 12 anos estava entre 0,4 mg e 1,7 mg F por dia. Contudo, na época de tal estudo, a única exposição a F se dava por meio da água naturalmente floretada. Nesse mesmo estudo, McClure sugeriu que 0,05 mg F/kg peso corporal/dia para crianças de 1 a 12 anos fosse a quantidade de F diária ideal a ser ingerida, considerando que em média, a ingestão diária de F pela dieta correspondia a 1,0 a 1,5 mg F.

Posteriormente, essa informação foi interpretada como recomendação, quando Farkas &Farkas (1974) citaram uma série de opiniões pessoais nas quais indicavam que a ingestão de F deveria ser baseada em função do peso corporal, sugerindo a ingestão

ótima diária de 0,06 mg F/kg peso/dia. Posteriormente, Ophaug (1980), sugeriu que 0,05-0,07 mg F/kg/dia fosse considerado como ótimo. Nesse sentido, considerando trabalhos realizados que avaliaram a ingestão de F por crianças e partindo do princípio que a ingestão de certa quantidade de F é desejável quando se considera o fato de que o F seria um micronutriente essencial da dieta, o limite máximo de ingestão de F por comidas e bebidas sugerido seria de 0,2 – 0,3 mg por dia, e pelo dentifrício fluoretado entre 0,2 – 0,3 mg por dia. Burt (1992) concluiu, portanto que, se a ingestão de F fosse necessária (por exemplo, água fluoretada) ou inevitável (escovação com dentifrício fluoretado), uma dose entre 0,05 – 0,07 mg F/dia/kg deveria ser o considerado como limiar para o provável desenvolvimento de fluorose. Desde então, esse valor tem sido considerado como a dose limite para o desenvolvimento de uma fluorose em níveis esteticamente aceitáveis, embora nunca tenha sido testado experimentalmente. Tanto pior, persiste o conceito de que F é um micronutriente, o que além de incorreto, demonstra a manutenção do conceito de que F precisa ser ingerido para ter efeito anticárie.

Diante da possibilidade de ingestão excessiva de F, por meio diversas fontes de F disponíveis atualmente, torna-se importante analisar os níveis de ingestão em crianças, com o objetivo de avaliar os riscos potenciais de desenvolvimento de fluorose dentária. Dentre os estudos realizados, Guha-Chowdhury *et al.* (1996) analisaram a ingestão total de F por meio da metodologia da dieta duplicada, que é um dos métodos mais acurados para determinação da ingestão de F pela dieta, em crianças de 3 a 4 anos de idade residentes em área otimamente fluoretada (0,9-1,0 ppm F) e áreas com baixa concentração de F na água (0,2-0,3 ppm F), na Nova Zelândia. A hipótese sob estudo seria a de que a quantidade total de F ingerida por crianças em áreas com baixa concentração de F na água pela dieta, dentifrícios e suplementos de F seria similar àquela por crianças vivendo em região fluoretada considerando a dieta e dentifrícios. Os resultados para ambas as regiões estudadas apontaram que a ingestão de F na dieta não ultrapassou 0,04 mg F/kg de peso corporal, enquanto que a ingestão de F total não excedeu a dose limite de 0,07 mg F/kg de peso corporal. Adicionalmente, foi calculado que se todas as crianças pertencentes a área de baixa concentração de F na água realizassem as recomendações de

dosagem de suplementos de F que eram recomendadas, a ingestão total de F de alguns indivíduos ultrapassaria aos daqueles vivendo em região de água otimamente fluoretada.

Lima & Cury (2001) determinaram o nível de ingestão de F por meio da dieta e do dentifrício fluoretado, em 39 crianças de 20 a 30 meses de uma creche do município de Piracicaba-SP, que possui água otimamente fluoretada (0,6-0,8 ppm F). Os resultados mostraram que as crianças analisadas estavam expostas a uma dose acima do limite de risco para o desenvolvimento de fluorose dentária em dentes anteriores, apresentando uma ingestão total de 0,09 mg F/kg peso/dia. Desse total ingerido, a dieta contribuiu com 45% ($\pm 0,04$ mg F/kg peso/dia) e a escovação com dentifrício fluoretado, com 55% ($\pm 0,05$ mg F/kg peso/dia). A alta ingestão de F pelo dentifrício, possivelmente tenha sido justificada pela quantidade de dentifrício dispensada na escova (0,52 g) e ingerido pelas crianças, que alcançou valores percentuais em torno de 57%. Os autores sugeriram três alternativas para esta dose ser reduzida: redução da concentração ótima de F de 0,7 para 0,3-0,4 ppm F; utilização de dentifrício contendo baixa concentração de F e utilização de, no máximo, 0,3 g de dentifrício por escovação. Do ponto de vista de risco e benefício de uso do F, segundo os autores, a terceira possibilidade seria a mais viável. Na condição deste estudo, se as crianças utilizassem 0,3 g de dentifrício por escovação, seriam submetidas a uma dose considerando-se o limiar proposto por Burt (1992) de 0,05 a 0,07 mg F/kg/dia.

Paiva *et al.* (2003) avaliaram o risco de fluorose dentária por meio da ingestão total de F, em 71 crianças de 19 a 38 meses de idade, das cidades de Ibiá-MG e Piracicaba-SP, ambas com fluoretação da água de abastecimento (0,6 - 0,8 ppm F). As crianças de Piracicaba-SP eram frequentadores de uma creche, enquanto que em Ibiá-MG a coleta dos dados foi feita na própria casa das crianças. Os resultados encontrados mostraram que a maioria das crianças, de ambas as cidades, estavam expostas a doses acima do limite de risco para a fluorose dentária (em torno de 0,09 mgF/Kg peso/dia), sendo maior a contribuição do dentifrício fluoretado na dose total ingerida (55% a 64%). Não houve diferença significativa na quantidade de F ingerida pelo dentifrício, entre as crianças da creche de Piracicaba-SP (0,05 mgF/Kg peso/dia) e as residentes em Ibiá-MG (0,06 mgF/Kg

peso/dia). Os autores concluíram que, considerando que a combinação dieta mais dentifrício fluoretado encontrada foi maior do que a dose para o risco de desenvolvimento de fluorose, medidas deveriam ser tomadas no intuito de reduzir a ingestão de F; a utilização de pequena quantidade de dentifrício a cada escovação seria a mais viável em termos de medida de saúde pública para o país em relação aos riscos advindos da exposição a fluoretos. Nestas condições, assim como anteriormente proposto, se as crianças utilizassem 0,3 g de dentifrício por escovação, seriam submetidas a uma dose dentro dos limites considerados como seguros de 0,05 – 0,07 mg F/Kg/dia.

A análise de ingestão total de F, em crianças de 22 a 35 meses de idade, de quatro cidades colombianas com níveis de água fluoretada variando entre 0,5 a 0,8 ppm F, apontou como resultados valores de ingestão de F em torno de 0,11 mg F/kg de peso/dia. O uso do dentifrício fluoretado contribuiu com 70% e a dieta líquida+sólida com 30% da ingestão total de F. Dentre os resultados, os autores verificaram que as crianças de nível sócio-econômico ingeriram mais fluoreto do que aquelas com nível sócio-econômico mais alto. No entanto, independente deste fator, verificou-se que os indivíduos analisados estavam expostos a doses acima do limite para o desenvolvimento de fluorose dentária (Franco *et al.*, 2005).

Franzman *et al.* (2006) estimaram a ingestão de F pelo dentifrício, dieta e suplementos aos 16, 24 e 36 meses de idade e posteriormente verificaram a experiência de fluorose nos dentes permanentes recém-erupcionados. Os dados foram coletados através de questionários realizados em intervalos regulares, onde a ingestão diária foi calculada a partir da quantidade total ingerida dividida pelo peso corporal em kg dos participantes, recrutados no Iowa Fluoride Study (estudo coorte ao nascimento). Dentre os resultados, 60% dos participantes não apresentaram fluorose nos incisivos e 27% possuíam fluorose em dois ou mais incisivos. Aos 16 meses de idade, as crianças com e sem fluorose apresentavam valores de ingestão de F pelo dentifrício similares. Aos 24 meses, essa diferença aumentou, sendo maior naquelas que desenvolveram fluorose (0,017 mg F/kg peso corporal e 0,010 mg F/kg peso corporal, respectivamente), e o mesmo padrão também foi visualizado aos 36 meses.

Em estudo realizado por de Almeida *et al.* (2007), a ingestão de F, somente a partir do dentífrico, foi de 0,106 mg F/kg peso/dia, sendo responsável por 81,5% da ingestão diária de F. Além disso, houve uma correlação positiva entre a quantidade de dentífrico utilizada ($0,488 \pm 0,303$ g) e a de F ingerido por escovação ($0,591 \pm 0,445$ mg). No mesmo ano, Moraes *et al.* (2007) avaliaram a ingestão de F após o uso de dentífricos contendo diferentes concentrações em crianças de 24-36 meses de idade. A quantidade de F ingerida foi indiretamente obtida subtraindo-se a quantidade de F expelida e a quantidade que restou na escova, daquela inicialmente colocada. Os resultados demonstraram que aproximadamente 60% do dentífrico colocado na escova foi ingerido pelas crianças. Além disso, houve correlação positiva entre a quantidade de dentífrico utilizada e a quantidade de F ingerida durante a escovação.

A prevalência da fluorose dental é menor do que a esperada pelos dados de dose de ingestão de F (Fejerskov *et al.*, 1996, Martins *et al.*, 2008). No estudo prospectivo realizado em 2008, avaliou-se a relação entre ingestão de F e fluorose dental em incisivos centrais e molares permanentes. A determinação da ingestão total de F (dieta, dentífrico e dieta + dentífrico) foi realizada em 1998 com crianças entre 19-36 meses. A avaliação da prevalência de fluorose dental foi realizada seis anos após o estudo inicial. Não foi encontrada associação estatisticamente significativa entre fluorose dental em dentes permanentes e a ingestão de F (Martins *et al.*, 2008).

Uma razão que poderia explicar tal fato é que, em grande parte dos estudos, o cálculo da dose de exposição a F não leva em consideração a quantidade de F absorvida, que seria dependente da concentração de F solúvel total na formulação do dentífrico (Guha-Chowdury *et al.*, 1996; Franco *et al.*, 2005; de Almeida *et al.*, 2007; Moraes *et al.*, 2007). Adicionalmente, a ingestão pelos dentífricos pode estar superestimada em alguns casos, pois o cálculo baseou-se no número de escovações diárias descritas pelo responsável, que pode ter relatado uma frequência maior que a real (Lima & Cury, 2001; Paiva *et al.*, 2003; Franzman *et al.*, 2006).

Em recente estudo, Martins *et al.* (2011) avaliaram se fatores sócio-econômicos e hábitos de escovação estavam associados com a compra de um específico

tipo de dentifrício (familiar ou infantil) e com a ingestão diária de F por meio da escovação com dentifrício fluoretado. Foram coletados dados de 197 crianças, de nove a 48 meses de idade, pertencentes a quatro escolas públicas e quatro escolas privadas, para obter-se equilíbrio a respeito do status sócioeconômico. Aplicou-se um questionário aos responsáveis com questões a respeito dos hábitos de escovação das crianças e questões relacionadas a características sóciodemográficas. Em acréscimo, no mesmo dia da entrevista, os participantes realizavam escovação, com a escova e o dentifrício usualmente utilizado em casa. Informações a respeito de quantidade de dentifrício depositada na escova, hábitos de cuspir ou não o dentifrício, realização de bochecho com água, e ainda, tipo de escova utilizada e dentifrício foram obtidos no momento da realização da escovação, sendo, os produtos da escovação posteriormente analisados. Os resultados apontaram que houve uma tendência de que crianças com maior status sócioeconômico comprassem dentifrício infantil. Ainda aquelas crianças cujos pais tinham menor nível educacional estavam associados a uma maior ingestão de F pelas crianças. Houve efeito sinérgico entre frequência de escovação e dose de F ingerida. Os resultados apontaram ainda que crianças com menor status sócioeconômico e menor nível educacional aplicavam significativamente maior quantidade de dentifrício na escovação. Os autores concluíram que fatores sócioeconômicos podem influenciar na escolha do dentifrício, de modo que famílias com maior nível sócioeconômico possuem maior tendência a comprar dentifrício infantil. A frequência de escovação e a quantidade de dentifrício aplicada na escova podem influenciar negativamente, aumentando o risco de exposição a altas doses de F, independente do tipo de dentifrício utilizado.

3. PROPOSIÇÃO

Avaliar *in vivo* a biodisponibilidade de F a partir de dentifrícios contendo carbonato de cálcio (CaCO_3) ou sílica (SiO_2) como abrasivos, sob duas condições: recém-adquiridos e após envelhecimento precoce, simulando o armazenamento do dentifrício durante o período de um ano.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP, processo nº 184/2009 (Anexo 1). Em um estudo *in vivo*, de delineamento experimental cruzado (Figura 1) e cego quanto ao examinador, 20 voluntários, de 19 a 40 anos, em bom estado de saúde geral e bucal, foram incluídos. Durante cinco fases experimentais, os voluntários foram aleatoriamente submetidos a um dos seguintes grupos de tratamento: água purificada (grupo controle), dentifrício a base de NaF/SiO₂ (1100 ppm F; Tandy®, Colgate – Palmolive, SP, Brasil) e dentifrício a base de MFP/CaCO₃ (1450 ppm F; Sorriso®, Colgate – Palmolive, SP, Brasil), sob duas condições: recém-adquiridos e após serem submetidos a processo de envelhecimento precoce, simulando armazenamento do dentifrício durante o período de 1 ano (Tabchoury & Cury, 1994).

Previamente ao início do estudo, realizou-se análise da concentração de FT (F total, soma de todas as formas de F, solúveis e insolúveis presentes na formulação) e F solúvel total (FST, soma das formas solúveis de F (íon F ou íon monofluorofosfato) presentes na formulação) presente nos dentifrícios (Cury *et al.*, 2010). Em cada fase experimental, os voluntários ingeriram, após jejum durante o período noturno, água purificada (controle) ou quantidade de dentifrício correspondente a 49,5 µg de FT/kg de peso corporal, diluídos em 30 mL de água purificada. A dose ingerida foi baseada na ingestão de F pelo dentifrício por uma criança na faixa etária de risco de desenvolvimento de fluorose (Paiva *et al.*, 2003). Em seguida, foram realizados 3 bochechos com 30 mL de água purificada seguidos de deglutição, garantindo a eliminação de resíduos contaminantes de F presentes na saliva logo após a ingestão dos dentifrícios. Saliva não-estimulada foi coletada em diferentes intervalos por até 3 horas após a ingestão, para determinação da concentração de F como indicador do F disponível no sangue (Oliveby *et al.*, 1989). Adicionalmente, toda urina produzida durante 24 horas antes e 24 horas após a ingestão do dentifrício foi coletada (Cury *et al.*, 2005a), como indicador de

biodisponibilidade. A concentração de F na saliva e na urina foi determinada por meio de um eletrodo íon-seletivo.

Durante o período pré-experimental e o período de wash-out entre as fases, estabelecidos em pelo menos 7 dias, os voluntários utilizaram dentifrício não-fluoretado.

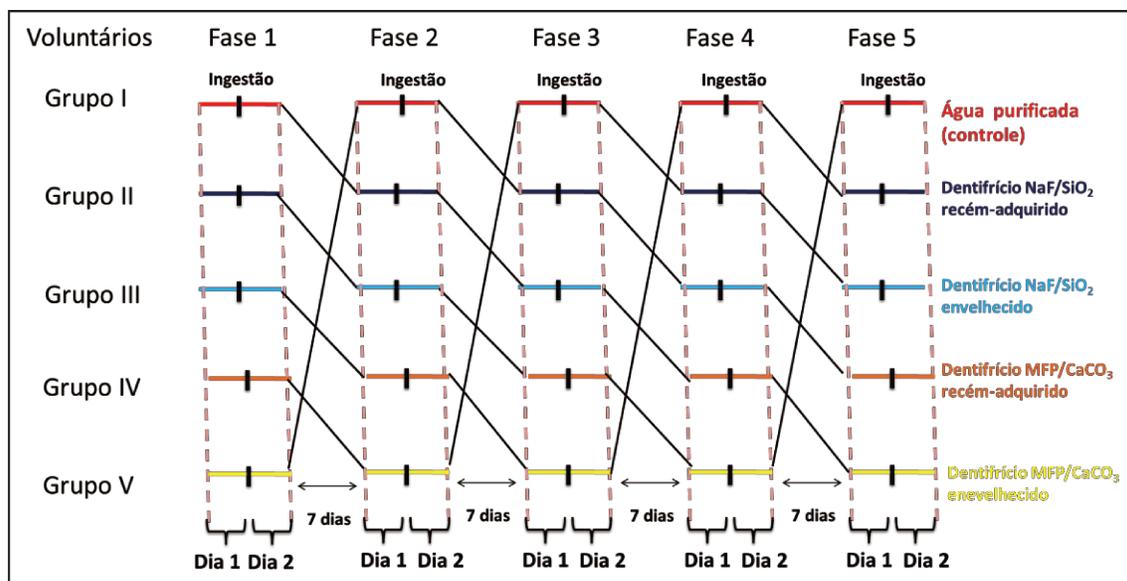


Figura 1. Esquema ilustrativo do delineamento experimental cruzado do estudo

4.2. ANÁLISE DOS DENTIFRÍCIOS

Dentifrícios recém-adquiridos, de ambas as formulações, (n=6 por dentifrício, pertencentes ao mesmo lote) foram analisados quanto à concentração de FT e FST. Subsequentemente, para simular a condição de armazenamento durante o período de 1 ano, que leva ao aumento na concentração de F insolúvel no dentifrício contendo cálcio no abrasivo, os dentifrícios foram mantidos em estufa a 55°C durante 16 dias, como previamente descrito por Tabchoury & Cury (1994), sendo obtidas as concentrações de FT e FST. As análises foram realizadas em duplicata de acordo com protocolo modificado de

Pearce (1974), que tem sido utilizado desde 1980 no Laboratório de Bioquímica Oral da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (Cury *et al.*, 1981; Cury *et al.*, 2010). O fluxograma do protocolo de análise dos dentifrícios está descrito na Figura 2.

Todas as análises foram realizadas utilizando-se eletrodo específico (Orion model 96-09, Orion Research, Cambridge, MA, USA) acoplado a analisador de íons (Orion EA-740) previamente calibrado com padrões de F contendo de 0,032 a 2 ppm F, preparados com os mesmos reagentes das amostras. Os resultados foram utilizados para correlacionar o FT e FST obtidos pelos dentifrícios em ambas as condições com o F absorvido.

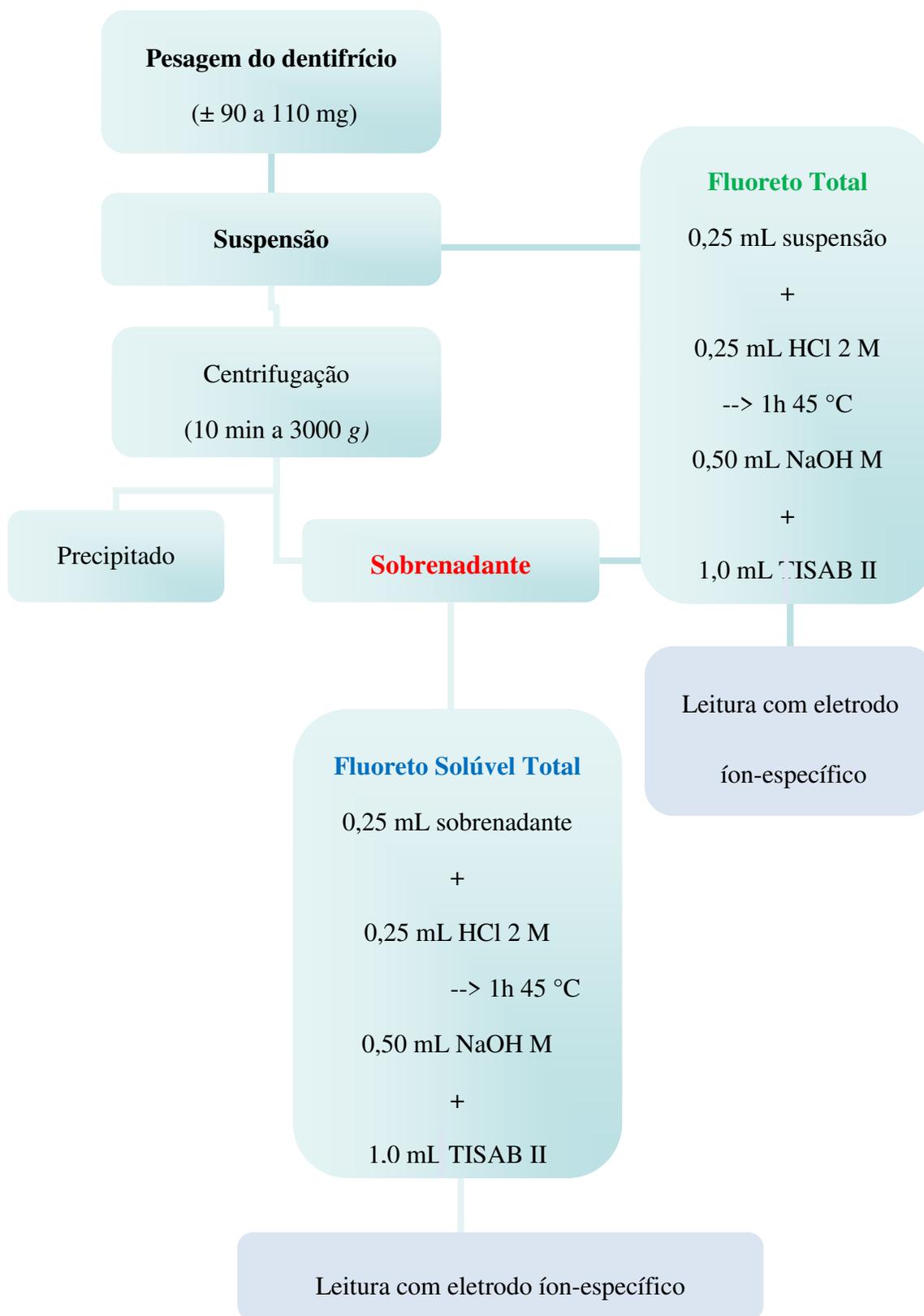


Figura 2. Protocolo para análise de fluoreto total e fluoreto solúvel total nos dentifrícios.

4.3. PROCEDIMENTOS CLÍNICOS

Após aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisa da instituição, 20 voluntários (Cury *et al.*, 2005a), na faixa etária de 19 a 40 anos (mediana = 24 anos), foram selecionados a participar da presente pesquisa. Todos os voluntários eram residentes em Piracicaba, SP, cidade que apresenta regularidade na fluoretação da água de abastecimento público (0,6-0,8 ppm F). Indivíduos apresentando qualquer alteração gástrica e/ou renal, que pudessem afetar os processos fisiológicos normais de absorção e excreção, foram excluídos da pesquisa.

Atendendo às considerações éticas, aos voluntários foi apresentado o termo de consentimento livre e esclarecido, para, após informação sobre o experimento, consentirem ou não em participar da pesquisa. Para melhor explicar os passos do experimento, todos os potenciais voluntários participaram de uma reunião na qual foi apresentado o projeto de pesquisa, seus objetivos e delineamento experimental. Todas as recomendações e informações sobre os procedimentos a serem realizados durante o período do experimento, bem como o cronograma do período do estudo, foram entregues a cada um dos potenciais voluntários (Anexo 3). Em seguida, os voluntários leram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 2) concordando a respeito de sua participação na presente pesquisa (de acordo com a Resolução nº 196 do Conselho Nacional de Saúde, Ministério da Saúde, Brasília, DF, 10/03/1996).

Inicialmente, durante todo o período pré-experimental e no período de wash-out entre as fases, os voluntários utilizaram dentifrício não-fluoretado fornecido pelos pesquisadores. Quanto à dieta, não houve padronização da mesma, entretanto os voluntários foram instruídos a evitar produtos e alimentos contendo F biodisponível, como chás e frutos do mar. Em acréscimo, todos os indivíduos ingeriam água otimamente fluoretada (0,6-0,8 ppm F) e alimentos cozidos com ela durante todo o período do estudo.

Em cada fase experimental, pela manhã, após jejum durante o período da noite, os voluntários ingeriram água purificada (controle) ou suspensão dos dentifrícios contendo 49,5 µg de FT/kg de peso corporal diluídos em 30 mL de água purificada. A

quantidade de dentifício ingerida pelos voluntários foi baseada na quantidade deglutida por uma criança pesando 13,5 kg, escovando seus dentes duas vezes ao dia, e ingerindo em volta de 0,3 g de dentifício por escovação (Paiva *et al.*, 2003).

Posteriormente à ingestão da suspensão dos dentifícios ou controle, os voluntários realizaram três bochechos com 30 mL de água purificada, seguidos de deglutição. Esse procedimento garantiu a eliminação de resíduos do dentifício que poderiam permanecer na cavidade bucal, sendo o volume de água a ser ingerido determinado após a realização de estudo piloto.

Saliva não estimulada foi coletada, durante um período de 3 minutos, para que fosse possível a obtenção de pelo menos 1 mL de amostra, mínimo necessário estabelecido para a realização da análise de F, no tempo zero (baseline, antes da ingestão do tratamento) e após 15, 30, 45, 60, 120 e 180 minutos, para determinação da concentração de F. As amostras coletadas foram centrifugadas a 16,000 *g* durante 3 minutos e mantidas congeladas até a análise.

Vinte e quatro horas antes e após o experimento, os voluntários coletaram toda urina, em frascos plásticos separados contendo partículas de timol (LabSyntt, Symrise, Alemanha), como agente de conservação. Ao início do primeiro dia de coleta (24 horas antes da ingestão dos dentifícios), os voluntários eram instruídos a desprezar a primeira urina da manhã, colhendo posteriormente todo o volume até a primeira urina do dia seguinte. A coleta de urina no dia do experimento iniciava-se após a ingestão do dentifício, sendo todo o volume colhido por mais 24 horas. O volume total foi mensurado separadamente a cada dia e alíquotas foram congeladas até a análise. O fluxograma do delineamento experimental do estudo está ilustrado na Figura 3.

Um intervalo de pelo menos uma semana foi aguardado entre cada fase experimental (Roldi & Cury, 1986; Cury *et al.*, 2005).

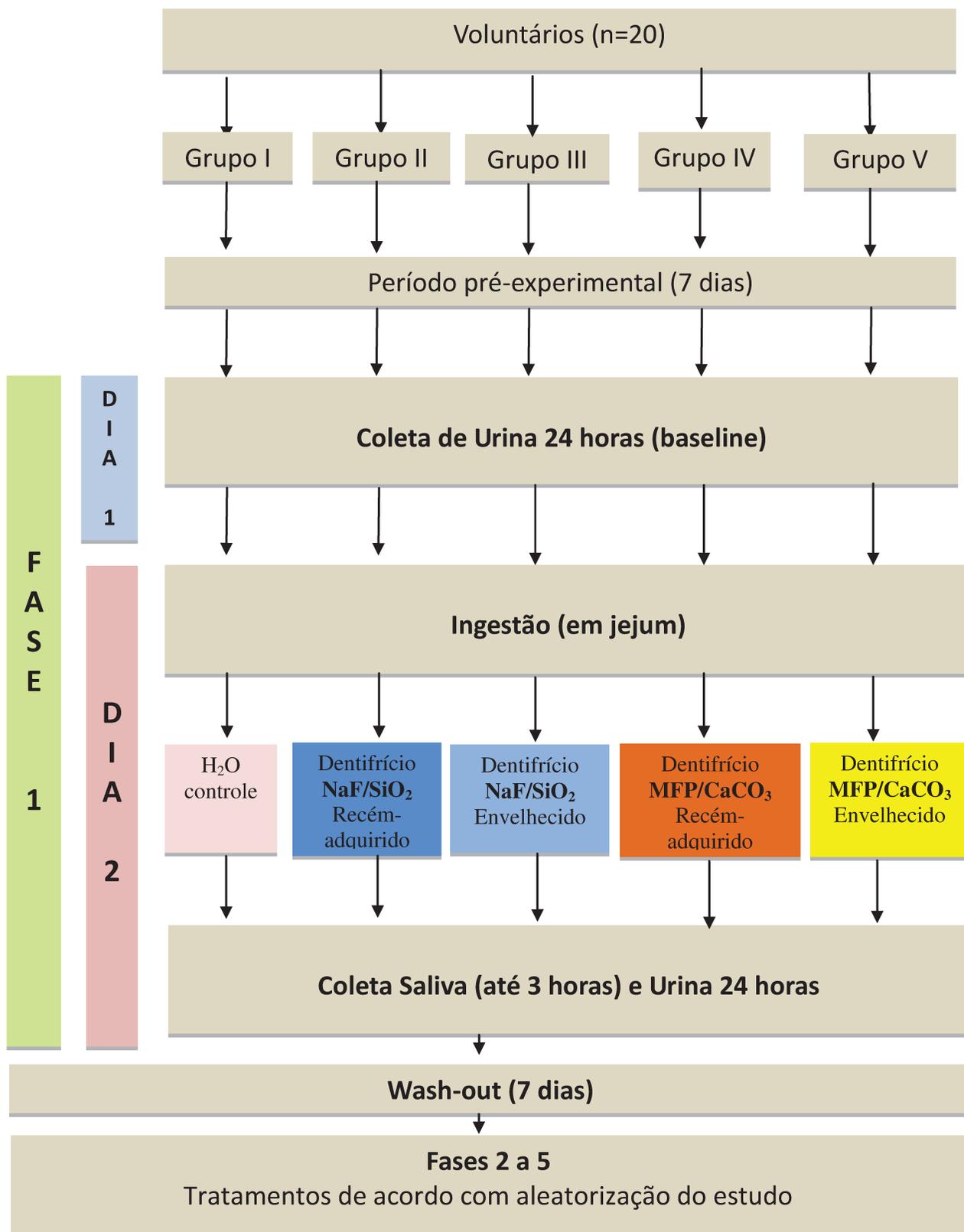


Figura 3. Fluxograma do delineamento experimental do estudo

4.4. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE F NAS AMOSTRAS

Para dosagem da concentração de F na saliva e urina, utilizou-se um eletrodo específico (Orion model 96-09, Orion Research, Cambridge, MA, USA) acoplado a um analisador de íons (Orion EA-740). Alíquotas de 1 mL de saliva e urina foram tamponadas com TISAB III, seguindo a proporção de 10 partes de amostra para 1 parte de TISAB III, e a concentração de F foi calculada por regressão linear da curva de calibração, obtida a partir de padrões com concentração conhecida de F de 0,031 a 2 $\mu\text{g F/mL}$, preparados nas mesmas condições das amostras. O fluxograma do protocolo de análise das amostras está descrito na Figura 4.

A área sobre a curva da concentração da concentração salivar de F ($\mu\text{g F/mL}$) em função do tempo (min) foi calculada por meio do programa Origin 8.5.1 (One Roundhouse Plaza, Northampton, MA, USA). Adicionalmente, os parâmetros farmacocinéticos concentração máxima salivar de F (C_{max}) e tempo para obtenção da concentração máxima salivar de F (T_{max}) foram determinados por meio do cálculo da média e desvios padrão dos resultados individuais em cada fase experimental. Em relação à excreção de F na urina, calculou-se a diferença na excreção de F (mg F/dia), uma vez que a quantidade de F encontrada na urina do dia do experimento foi subtraída do dia anterior a ingestão (baseline).

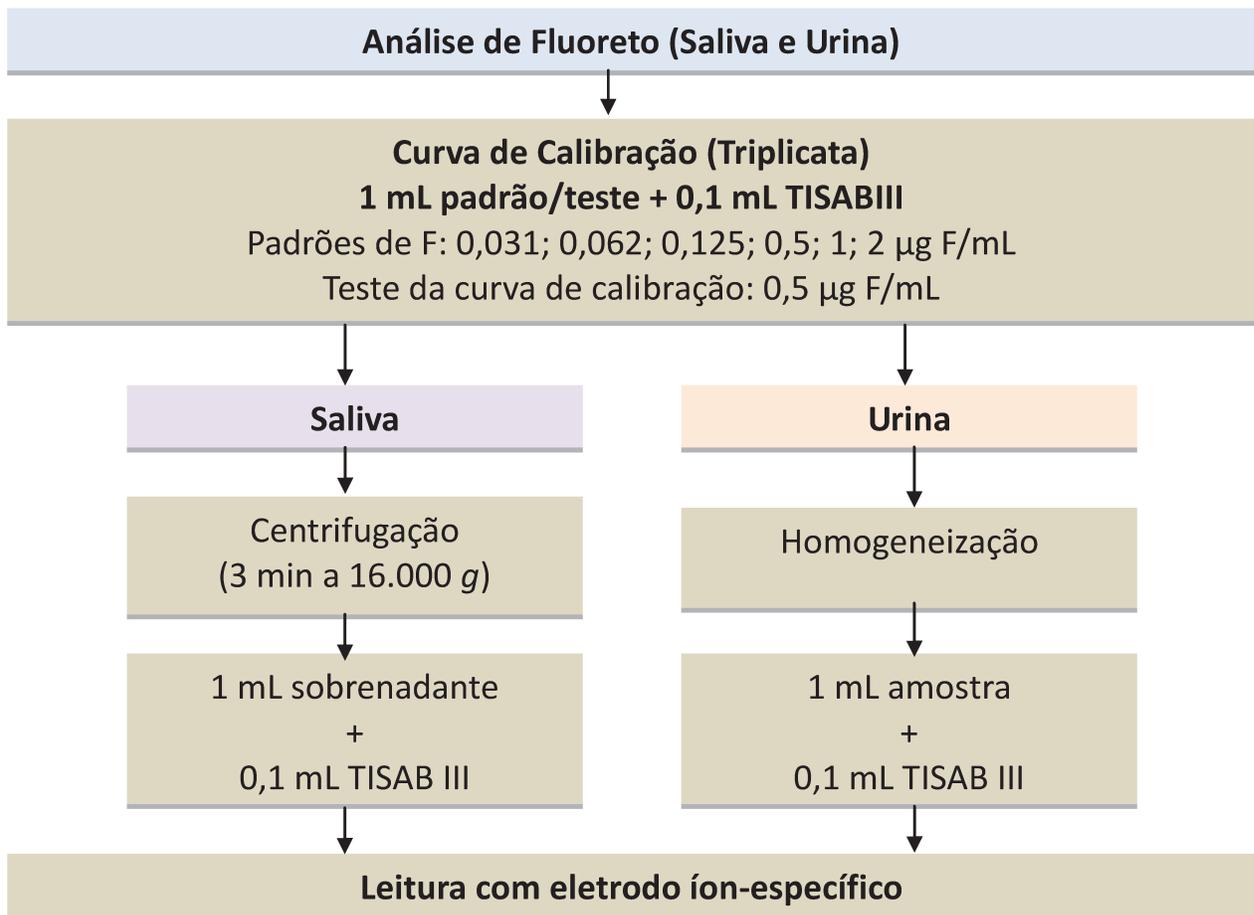


Figura 4. Fluxograma das análises de F nas amostras de saliva e urina

4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística, um fatorial 2 x 2 foi considerado e os fatores sob avaliação foram: dentifrício em 2 níveis (dentifrício a base de NaF/SiO₂ e a base de MFP/CaCO₃) e condição do dentifrício em 2 níveis (recém-adquirido ou envelhecido). Dados os quais não preencheram as suposições de distribuição normal de erros e igualdades de variância foram transformados (Box *et al.*, 1978). Para os dados das variáveis ASC, Cmax e Tmax utilizou-se a função logaritmo enquanto que para F na urina, os dados foram transformados em raiz quadrada. Análises foram realizadas por meio da análise de variância (ANOVA), considerando-se os voluntários como blocos estatísticos,

seguidos de Teste de Tukey. A correlação entre ASC e a quantidade de FT ou FST ingerido pelos voluntários foi estudada por meio da correlação de Spearman, já que esses dados não apresentaram distribuição normal. Todas as análises foram feitas utilizando-se o programa SAS System 9.2 (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA), com nível de significância de 5%.

5. RESULTADOS

A Figura 5 sumariza os resultados em termos de média e desvio padrão da concentração de F total (soma das formas solúveis e insolúveis de F), solúvel total e insolúvel dos dentifrícios recém-adquiridos e após o envelhecimento.

Os resultados apontaram que na condição recém-adquirida, as concentrações de FT e FST não são diferentes para o dentifrício formulado com NaF/SiO₂ (FT= 1103,5 ± 21,4 e FST= 1129,7 ± 49,4 ppm F), enquanto para o dentifrício a base de CaCO₃, em torno 1400,6 ± 65,8 ppm de FT foi encontrado, sendo que destes 1122,4 ± 76,4 ppm F encontravam-se na forma solúvel.

Quando avaliados após o envelhecimento, verificou-se que no dentifrício a base de NaF/ SiO₂ a concentração de FST antes ou após o envelhecimento não sofreu alterações (1129,7±49,4 e 1086,7±27,5 ppm F, respectivamente), enquanto que para o dentifrício a base de MFP/CaCO₃ a concentração diminuiu de 1122±76,4 para 869,3±49,6 ppm F, havendo uma porcentagem de F insolúvel em torno de 19,9 ± 2,8% e 38,8 ± 2,7% (recém-adquirido e envelhecido, respectivamente), em relação ao FT encontrado.

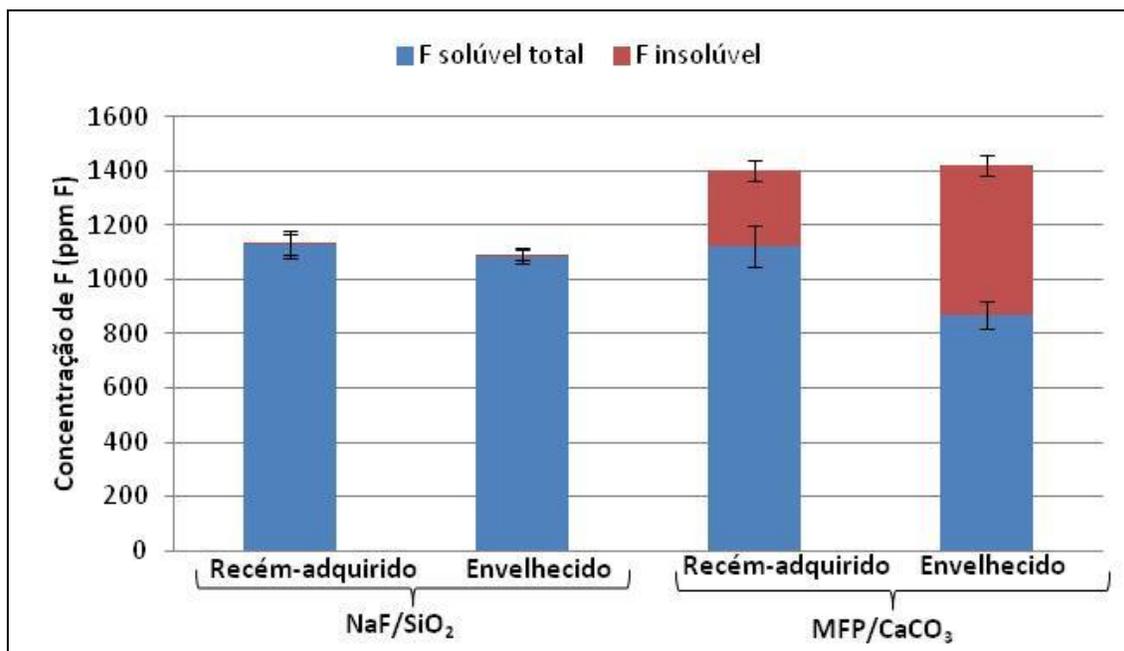


Figura 5. Médias e desvios padrão (n=6) da concentração de fluoreto total (soma das concentrações de fluoreto solúvel total e fluoreto insolúvel), fluoreto solúvel total e fluoreto insolúvel (ppm F) dos dentifrícios recém-adquiridos e após o envelhecimento precoce.

A Figura 6 apresenta as médias e desvios padrão da quantidade de FT e FST ingerida pelos voluntários considerando-se as concentrações de FT e FST encontradas nos dentifrícios avaliados. Como pode ser visualizado, todos os voluntários ingeriram a mesma quantidade de FT, em torno de $3,2 \pm 0,8$ mg F, correspondente a dose de ingestão padronizada estabelecida em $49,5 \mu\text{g FT/kg}$ de peso corporal.

Considerando o dentifrício a base de sílica, no qual todo o F encontra-se solúvel, a quantidade de FT e FST ingerida pelos voluntários foi a mesma. Em contrapartida, no dentifrício formulado com CaCO₃, a quantidade de F solúvel ingerido foi menor ($2,6 \pm 0,6$ e $1,9 \pm 0,5$ mg F, recém-adquirido e envelhecido, respectivamente).

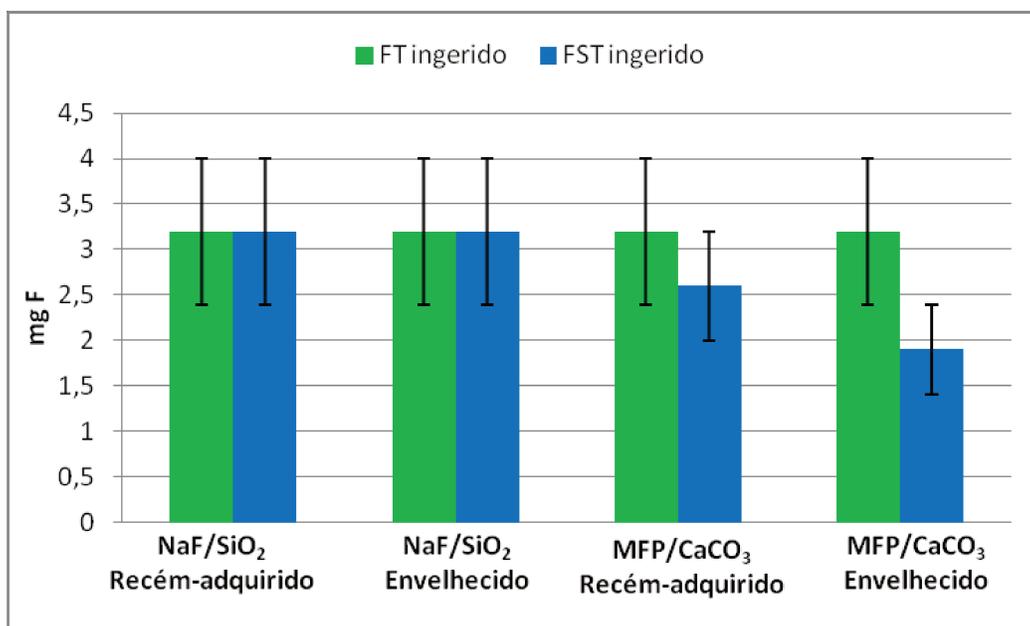


Figura 6. Médias e desvios padrão (n=20) da quantidade (mg F) de fluoreto total e fluoreto solúvel total ingerido por meio dos dentifrícios avaliados pelos voluntários.

Dados da curva de cinética de concentração salivar de F após os diferentes tratamentos, ilustrada na Figura 7, sugerem uma menor absorção de F a partir do dentifrício a base de MFP/CaCO₃, em ambas as condições, quando comparados com o os dentifrícios contendo sílica como abrasivo. Pode-se visualizar ainda que o processo de envelhecimento do dentifrício contendo cálcio no abrasivo reduziu consideravelmente a absorção de F quando comparado com o dentifrício recém-adquirido. Em acréscimo, o perfil verificado no grupo controle ilustra não haver variação na concentração de F na saliva em função do tempo, mantendo-se aproximadamente a mesma concentração inicial de F encontrada anteriormente a ingestão.

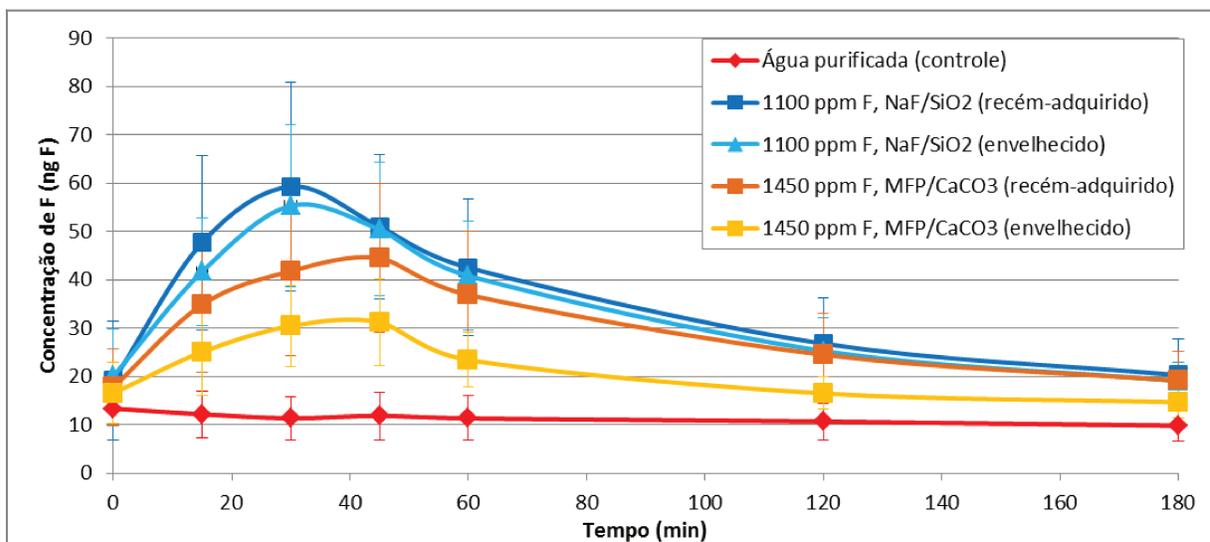


Figura 7. Médias e desvios padrão (n=20) da concentração salivar de F (ng F/mL) em função do tempo (min) após ingestão dos dentifrícios e água purificada (controle).

A respeito da variável de área sob a curva (ASC) da concentração salivar de F (Figura 8) considerando-se a análise estatística fatorial empregada, os resultados indicaram que houve interação significativa entre os fatores dentifrício (a base de NaF/SiO₂ ou MFP/CaCO₃) e condição do dentifrício (recém-adquirido ou envelhecido) ($p=0,0006$). Em ambas as condições, os dentifrícios diferiram entre si ($p<0,0001$). Para o dentifrício a base de MFP/CaCO₃, o processo de envelhecimento diminuiu significativamente a ASC ($5,4 \pm 1,7$ para $3,7 \pm 0,7$ $\mu\text{g F/mL}\cdot\text{min}$, recém-adquirido e envelhecido, respectivamente) enquanto que para o dentifrício formulado com sílica como abrasivo, a ASC não sofreu alterações ($p<0,0001$).

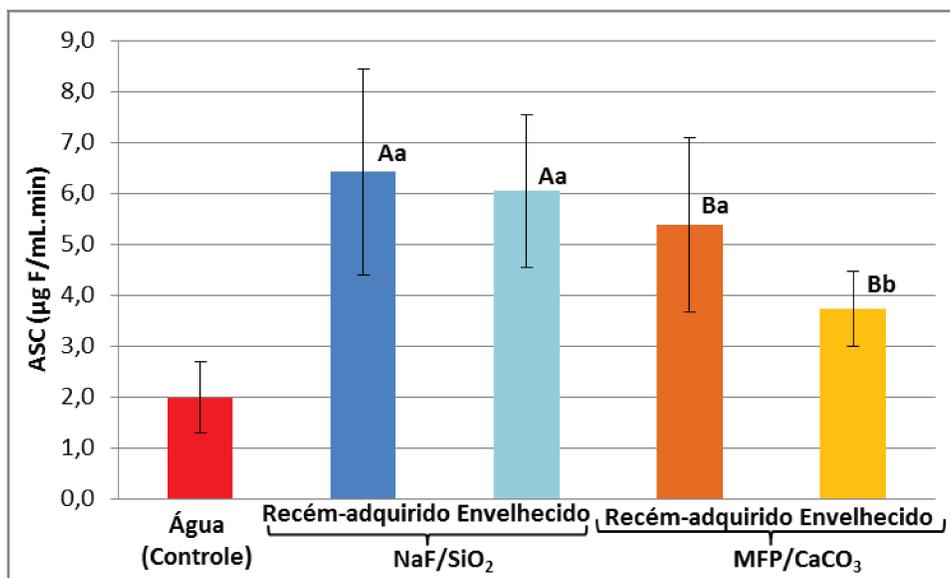


Figura 8. Médias e desvios padrão (n=20) da área sob a curva (ASC) da concentração salivar de F ($\mu\text{g F/mL}\cdot\text{min}$) do controle e dos dentifrícios. Letras maiúsculas indicam diferenças entre os dentifrícios e letras minúsculas, entre a condição dos dentifrícios.

A Figura 9 apresenta resultados a respeito do parâmetro farmacocinético de concentração máxima (C_{max}) salivar de F. Os dados apontam que houve interação significativa entre os fatores sob avaliação ($p=0,0143$). Assim como para ASC, para a variável C_{max} , os dentifrícios a base de NaF/SiO₂ e a base de MFP/CaCO₃ diferiram entre si em ambas as condições ($p<0,0001$).

Para o dentifrício contendo sílica na formulação, as concentrações máximas salivares de F atingidas foram semelhantes ($61,3 \pm 20,5$ e $57,8 \pm 14,9$ ng F/mL, recém-adquirido e envelhecido, respectivamente) enquanto que para o dentifrício a base de CaCO₃, o envelhecimento reduziu significativamente a C_{max} ($48,4 \pm 16,3$ para $35,3 \pm 11,2$ ng F, recém-adquirido e envelhecido, respectivamente).

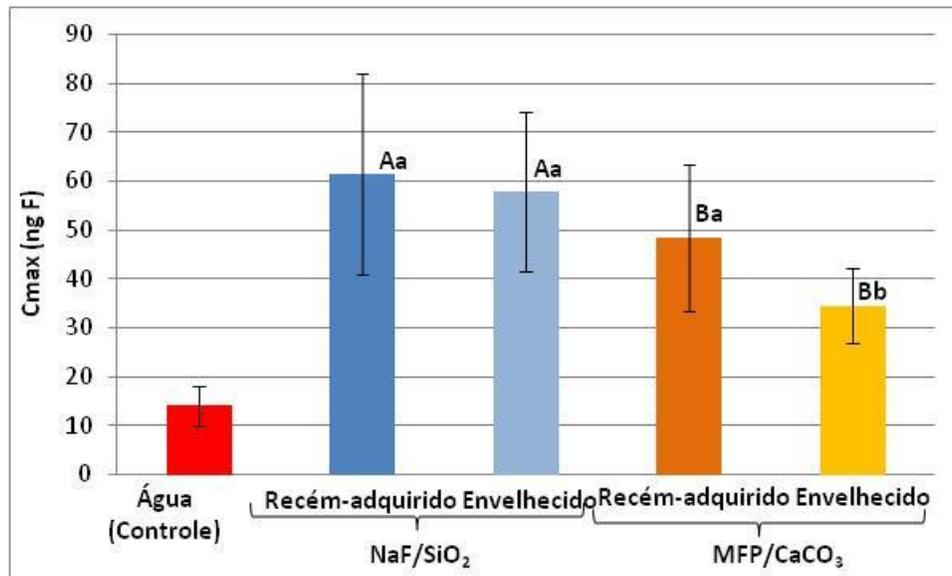


Figura 9. Médias e desvios padrão (n=20) da concentração máxima salivar de F (ng F) do controle e dos dentifrícios. Letras maiúsculas indicam diferenças entre os dentifrícios e letras minúsculas, entre a condição dos dentifrícios.

Quando da análise da variável Tmax (Figura 10), os dentifrícios a base de NaF/SiO₂ e MFP/CaCO₃ diferiram entre si apenas quando da condição de recém-adquiridos (p=0,0042). O dentifrício contendo cálcio no abrasivo levou um maior período de tempo para atingir a concentração máxima de F na saliva quando comparado com aquele a base de sílica (42,8 ± 19,6 e 29,3 ± 10,3 min, respectivamente). Em contrapartida, o processo de envelhecimento acelerou o Tmax para o dentifrício de MFP/CaCO₃ e retardou para o dentifrício contendo sílica na formulação.

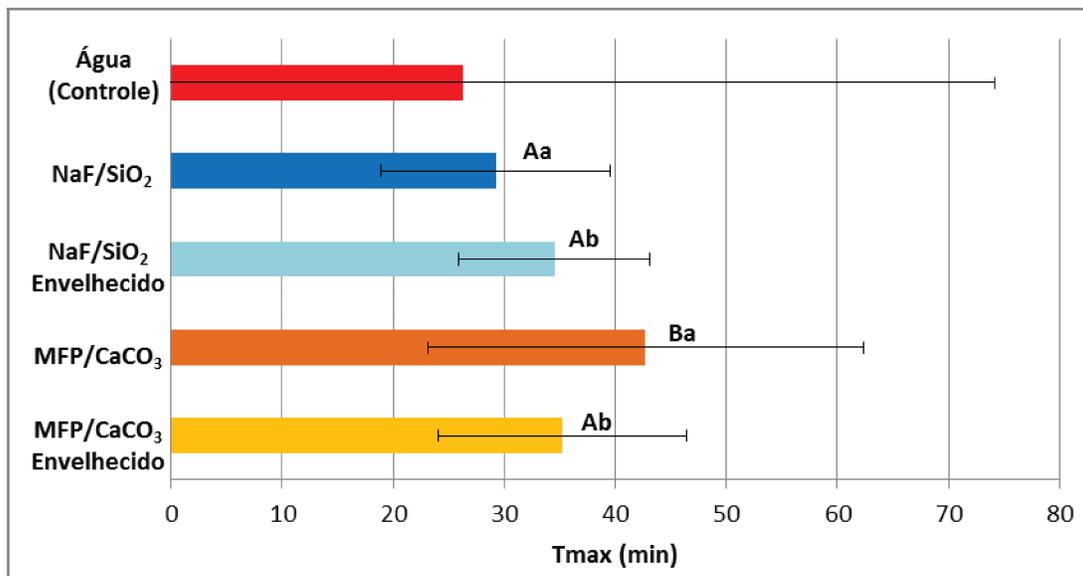


Figura 10. Médias e desvios padrão (n=20) do tempo (min) para se atingir a concentração máxima salivar de F (Tmax) do controle e dos dentifrícios. Letras maiúsculas indicam diferenças entre os dentifrícios e letras minúsculas, entre a condição dos dentifrícios.

A Tabela 1 apresenta a porcentagem de F insolúvel encontrada nos dentifrícios avaliados e a consequente redução percentual da área sobre a curva (ASC) da concentração salivar de F ($\mu\text{g F/ml.min}$), tendo como referência o dentifrício a base de NaF/SiO_2 , uma vez que o mesmo apresenta todo o F total na forma solúvel.

Quando o dentifrício a base de MFP/CaCO_3 é avaliado, pode se verificar que a porcentagem de redução da ASC ($13,2 \pm 24,8$ e $38,5 \pm 14,5\%$, recém adquirido e envelhecido, respectivamente) é comparável com a porcentagem de F insolúvel presente em ambas as condições avaliadas.

Tabela 1. Porcentagem (%) de redução da área sobre a curva (ASC) da concentração salivar de F ($\mu\text{g F/ml.min}$) em função da % F insolúvel encontrada nos dentifrícios avaliados (média \pm dp, n=20).

Dentifrícios	Condição dos dentifrícios	% F insolúvel	ASC ($\mu\text{g F/mL.min}$)	% redução da ASC
NaF/SiO₂*	Recém-adquirido	0	6.4 ± 2.0	—
	Envelhecido	0	6.0 ± 1.5	—
MFP/CaCO₃	Recém-adquirido	19.9 ± 2.8	5.4 ± 0.7	13.2 ± 24.8
	Envelhecido	38.8 ± 2.7	3.7 ± 0.7	38.5 ± 14.5

*Para o dentifrício a base de NaF/SiO_2 considerou-se 100% de absorção, sendo utilizado como referência para o cálculo.

Em acréscimo, como pode ser visualizado na Figura 11, houve uma correlação positiva moderada ($r=0,57$, $p<0,001$, Spearman) entre o F solúvel total ingerido e a ASC da concentração salivar de F. A correlação entre o F total ingerido e a ASC ($r=0,14$, Spearman) não foi significativa ($p=0,20$) (Figura 12).

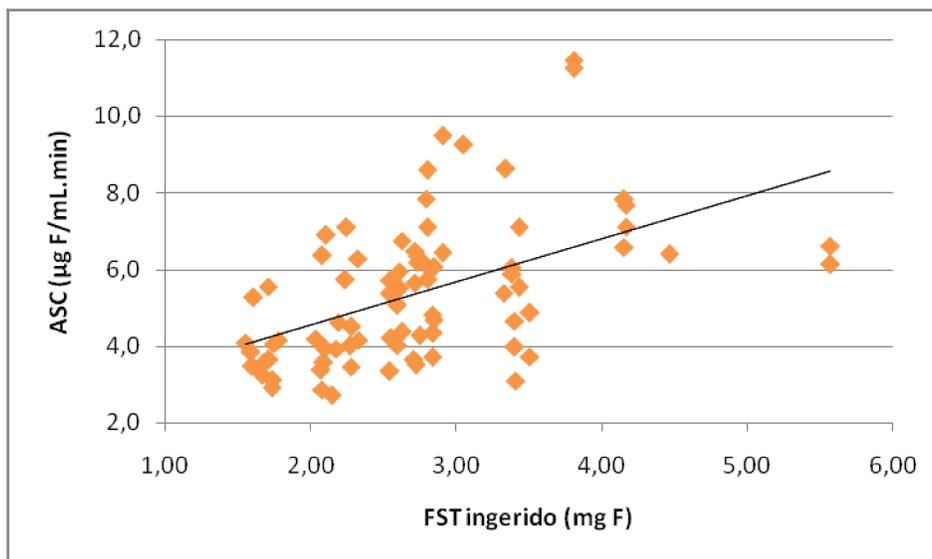


Figura 11. Correlação entre área sobre a curva (ASC) da concentração salivar de F ($\mu\text{g F/mL.min}$) e quantidade de FST ingerido (mg F).

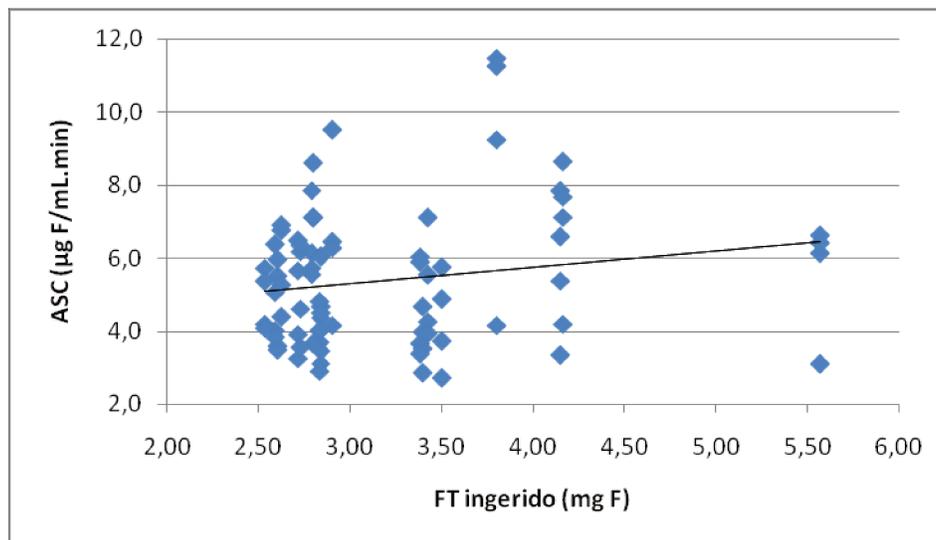


Figura 12. Correlação entre área sobre a curva (ASC) da concentração salivar de F ($\mu\text{g F/mL.min}$) e quantidade de FT ingerido (mg F).

A respeito da análise da variável F na urina (Figura 13), quando envelhecidos, os dentifrícios diferiram estatisticamente ($p=0,0340$). O envelhecimento do dentifrício a base de MFP/CaCO₃ reduziu significativamente, em torno de 38,5%, a excreção de F ($1,3 \pm 0,6$ para $0,8 \pm 0,4$ mg F/dia), enquanto que no dentifrício de NaF/SiO₂, o processo de envelhecimento precoce não alterou a excreção urinária de F.

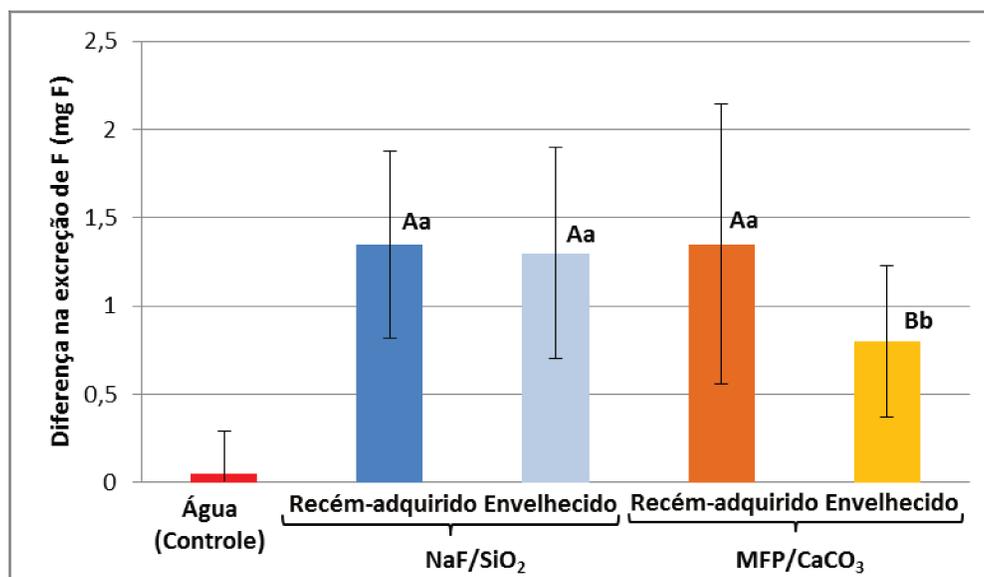


Figura 13. Médias e desvios padrão ($n=20$) da diferença na excreção urinária de F (mg F) do controle e dos dentifrícios, considerando a análise estatística. Letras maiúsculas indicam diferença entre os dentifrícios e letras minúsculas, entre a condição dos dentifrícios.

A Tabela 2 apresenta os resultados a respeito da média e desvio padrão da quantidade de FT e FST ingerido e quantidade de F excretada, para cada dentifrício sob estudo, em ambas as condições. Em acréscimo, calculou-se a porcentagem relativa de F excretado considerando-se o FT e FST ingerido.

Como pode ser visualizado na tabela apresentada, todos os voluntários ingeriram a mesma quantidade de FT de dentifrício ($3,2 \pm 0,8$ mg F, para atender 49,5 ug F/kg peso), independente do dentifrício ou condição do mesmo. Quando se considera o dentifrício a base de NaF/SiO₂, não houve variação na quantidade de FT e FST ingerido

nem na porcentagem relativa excretada ($42,2 \pm 15,1$ e $41,5 \pm 21,9$ % de FT e FST excretado, recém-adquirido e envelhecido, respectivamente) uma vez que as análises iniciais dos dentifrícios apontaram não haver diferença no F total e solúvel encontrado.

Entretanto, para o dentifrício a base de MFP/CaCO₃, a quantidade de FST ingerido variou dependente da condição do dentifrício. Dessa forma, a quantidade de FST ingerido foi menor quando da condição de envelhecimento ($2,6 \pm 0,6$ para $1,9 \pm 0,5$ mg F). Quando a % excretada é considerada em função do FT ou FST ingeridos, os resultados demonstram uma menor porcentagem de excreção em relação ao FT do que ao FST em ambas as condições, especialmente após o envelhecimento ($25,3 \pm 13,6$ e $41,3 \pm 21,7$ % de FT e FST excretado, respectivamente).

Tabela 2. Quantidade de FT e FST (mg) ingerido, F excretado e porcentagem relativa excretada considerando as concentrações de FT e FST encontradas nos dentifrícios a base de NaF/SiO₂ e MFP/CaCO₃ recém-adquirido e envelhecido (média ± dp).

Dentifrícios	Condição dos dentifrícios	FT ingerido (mg)	FST ingerido (mg)	F excretado (mg)	% excretada	
					FT	FST
NaF/SiO ₂	Recém-adquirido	3,2 ± 0,8	3,2 ± 0,8	1,3 ± 0,5	42,2 ± 15,1	42,2 ± 15,1
	Envelhecido	3,2 ± 0,8	3,2 ± 0,8	1,3 ± 0,8	41,5 ± 21,9	41,5 ± 21,9
MFP/CaCO ₃	Recém-adquirido	3,2 ± 0,8	2,6 ± 0,6	1,3 ± 0,6	40,2 ± 16,3	50,2 ± 20,4
	Envelhecido	3,2 ± 0,8	1,9 ± 0,5	0,8 ± 0,4	25,3 ± 13,6	41,3 ± 21,7

6. DISCUSSÃO

Em termos de controle de cárie dental, para que um dentifrício fluoretado possa exercer seu máximo potencial anticárie, é necessário que ele contenha pelo menos 1000 ppm F (Walsh *et al.*, 2010), o qual deve estar solúvel para ser capaz de exercer seu efeito contra a cárie dental (Ellwood *et al.*, 2008). No presente estudo, as análises iniciais dos dentifrícios recém-adquiridos apontaram que ambas as formulações comerciais avaliadas continham concentração de F total de acordo com o informado na embalagem e compatíveis com o efeito anticárie desejado. Apesar da diferença em relação ao FT entre as formulações, ambas as formulações apresentaram concentrações de F solúvel similares, em torno de 1100 ppm F, em concordância com estudos recentes (Cury *et al.*, 2010; Ricomini-Filho *et al.*, 2012).

Quando da análise das concentrações de F após o envelhecimento dos dentifrícios, os resultados apontaram que ambas as formulações apresentaram um comportamento esperado, como previamente descrito na literatura (Cury, 1986; Tabchoury & Cury, 1994; Conde *et al.*, 2001; Hashizume *et al.*, 2003). Para o dentifrício formulado com sílica no abrasivo, as concentrações de F total e solúvel total mantiveram-se estáveis (Figura 5), devido ao fato de que a sílica é um abrasivo inerte, não reagindo quimicamente com o F presente no dentifrício. Em oposição a estes resultados, em dentifrícios contendo cálcio na formulação do abrasivo, há alteração na estabilidade em função do tempo e condições de armazenamento, com conseqüente redução na concentração de F solúvel. No presente estudo, a porcentagem de FST do dentifrício a base de MFP/CaCO₃ reduziu em aproximadamente 23% após o processo de envelhecimento. Tal fato pode ser explicado pela hidrólise do MFP que ocorreu dentro do tubo de dentifrício, favorecendo a ligação com o Ca do abrasivo levando a formação de sais de cálcio e F de baixa solubilidade (Freitas, 1984; Hattab, 1989).

Ao considerar-se que apenas na forma solúvel o F apresenta efeito anticárie, o mesmo se aplica ao risco de absorção, e portanto à fluorose dental: espera-se que somente a fração solúvel ou seja, biodisponível, seja absorvida (Roldi & Cury, 1986, Cury *et al.*, 2005a). Este foi o objeto de estudo deste trabalho.

Ao analisar os perfis das curvas de cinética de concentração salivar F após a ingestão dos diferentes dentifrícios, verificou-se um rápido aumento da concentração de F, de ambas as formulações, com pico plasmático em torno de 30-45 min, seguidos de um período mais lento de consequente diminuição da concentração de F, frente a sua distribuição entre tecidos e órgãos e captação por tecidos duros, como ossos e dentes, acompanhados de eliminação por meio da excreção urinária, o que está de acordo com outros estudos de biodisponibilidade, considerando-se a situação de jejum previamente à ingestão de F (Brudevold *et al.*, 1973; Ekstrand, 1977b; Whitford, 1990). Os resultados encontrados no presente estudo para ASC e Cmax nos dentifrícios recém-adquiridos contendo sílica como abrasivo estão de acordo com outro estudo apontando a biodisponibilidade de F destas formulações (Cury *et al.*, 2005a) assim como estão de acordo com a menor absorção verificada nos dentifrícios formulados contendo cálcio no abrasivo (Roldi & Cury 1986; Drummond *et al.*, 1990). Tal fato pode ser explicado pela diferença na concentração de FST ingerido, proporcionalmente menor nos dentifrícios a base de CaCO_3 , já que parte do FT, utilizado para determinar a dose ingerida, encontrava-se insolúvel (Figura 6).

Em acréscimo, a hipótese de que apenas o F solúvel ingerido é absorvido, ou seja, é biodisponível, também foi confirmada ao considerar-se a porcentagem de redução da ASC em função da porcentagem de F insolúvel (Tabela 1). Para os dentifrícios em que todo o F total encontra-se na forma solúvel, que é o caso dos dentifrícios a base de NaF/SiO_2 , todo o F é absorvido. Enquanto que, para o dentifrício a base de MFP/CaCO_3 , no qual parte do F total encontra-se insolúvel, a porcentagem de F na forma insolúvel é acompanhada pela redução percentual na ASC ($13,2 \pm 24,8$ e $38,5 \pm 14,5\%$, para o dentifrício a base de MFP/CaCO_3 recém-adquirido e envelhecido, respectivamente), indicando que apenas o F solúvel foi absorvido. Da mesma forma, confirmando-se tais dados, houve uma correlação moderada significativa entre a quantidade de FST ingerido e a área sobre a curva da concentração de F (Figura 11), mas esta não foi significativa quando os dados de FT foram correlacionados com a ASC (Figura 12).

Vale ressaltar que o processo de envelhecimento dos dentifrícios apresentou papel chave no presente estudo da absorção do F em dentifrícios fluoretados. Uma vez que houve aumento significativo na concentração de F insolúvel no dentifrício a base de MFP/CaCO₃ após o processo de envelhecimento (19,9 ± 2,8% para 38,8 ± 2,7%, recém-adquirido e envelhecido, respectivamente), os resultados encontrados permitiram confirmar proporcionalmente uma menor biodisponibilidade, ou seja, houve uma menor absorção ocorrida frente ao consequente aumento do F insolúvel, o que foi verificado em todas as variáveis de biodisponibilidade analisadas.

Em relação ao parâmetro farmacocinético T_{max}, ainda há alguma controvérsia na literatura a respeito do comportamento farmacocinético de compostos fluoretados a base MFP e NaF. Ericsson (1983) e Whitford *et al.* (1988) demonstraram haver um pico de concentração plasmática de F mais lento quando da intubação gástrica de MFP comparado com NaF. Tal fato poderia explicar a menor toxicidade encontrada em ratos e camundongos em alguns estudos (Shourie *et al.*, 1950; Lin *et al.*, 1978). Entretanto, outros estudos encontraram os mesmos perfis plasmáticos após a ingestão de soluções ou dentifrícios a base de MFP e NaF (Ekstrand & Ehrnebo, 1980; Trautner & Einwag, 1989; Drummond *et al.*, 1990). Estas discrepâncias podem ser frente a diferenças a respeito das condições experimentais, utilização de animais de laboratório ou seres humanos, utilização de solução de MFP pura ou contendo outros componentes, como por exemplo, no caso do uso de dentifrícios. Os resultados do presente estudo não foram capazes de demonstrar claramente diferenças entre os dentifrícios a base de NaF/SiO₂ e MFP/CaCO₃, visto que diferenças não esperadas entre o T_{max} entre as diferentes condições no mesmo dentifrício foram encontradas, provavelmente frente a variabilidade individual.

Em relação à análise de F na urina, os resultados mostraram haver uma menor excreção de F a partir do dentifrício a base de CaCO₃ quando comparado com o contendo SiO₂ considerado-se o processo de envelhecimento. Quando recém-adquiridos, a urina mostrou não ser um parâmetro de biodisponibilidade suficientemente sensível para detectar uma menor diferença, em torno de 20%, na porcentagem de fluoreto insolúvel, visto que não foi detectada diferença na excreção de F entre as formulações. Sob tal

aspecto, diferenças inter-individuais em variáveis fisiológicas como volume e secreção de suco gástrico, motilidade gastrointestinal e pH urinário poderiam explicar a variabilidade encontrada (Whitford *et al.*,1996; Maguire *et al.*,2005).

Uma vez que a excreção urinária de F reflete um equilíbrio fisiológico determinado pela ingestão de F, absorção, captura e remoção do F pelos tecidos duros e pela eficiência na excreção renal (Ekstrand *et al.* 1990, 1994), sob condições de normalidade, espera-se que em torno de 40-50% do fluoreto absorvido por indivíduos adultos saudáveis seja excretado pela urina (Roldi & Cury, 1986; Whitford, 1996), dados de acordo com o presente estudo quando considerada a excreção em relação ao F solúvel ingerido.

Nesse sentido, ao considerar-se a porcentagem relativa de excreção de F em relação ao FT e FST ingeridos quando do emprego dos dentifrícios a base de MFP/CaCO₃ quando comparados com os de NaF/SiO₂, os resultados corroboram que apenas o FST estima adequadamente a concentração de F passível de absorção em dentifrícios (Tabela 2). Quando o cálculo é realizado utilizando-se o F total ingerido, os parâmetros farmacocinéticos não são mais válidos, visto que quando da ingestão do dentifrício formulado com CaCO₃ como abrasivo, parte do F total ingerido encontra-se na forma insolúvel, portanto, não será passível de absorção. Isso explicaria o fato de haver uma porcentagem relativa de excreção de FT de apenas 25,3 ± 13,6% pela ingestão do dentifrício a base de CaCO₃ submetido a envelhecimento. Logo, o mais adequado seria considerar-se sempre a quantidade de F solúvel ingerido para que se mantenha o esperado em relação a absorção/excreção.

Portanto, de acordo com os resultados apresentados, a presente pesquisa apresenta subsídios de que para que o risco de desenvolvimento de fluorose possa ser estimado adequadamente o fator F biodisponível, ou seja, solúvel, inevitavelmente também deve ser levado em consideração, juntamente com outros fatores associados como: quantidade de dentifrício, momento da escovação e hábitos de escovação (Lima & Cury, 2001; Paiva *et al.*, 2003; Cury *et al.*, 2005a; Martins *et al.*, 2011). É importante que seja divulgado e claramente informado aos profissionais de saúde que o risco que possa

ser gerado pela ingestão dos dentifrícios estudados, formulados com NaF/SiO₂ ou MFP/CaCO₃, é similar uma vez que, apesar da menor concentração de F descrita na embalagem (1100 ppm F) e o apelo para uso infantil do dentifrício a base de NaF/SiO₂ utilizado no estudo, aquele formulado com MFP/CaCO₃ e apresentando uma maior concentração de F informada na embalagem (1450 ppm F), e que normalmente não é indicado por profissionais para utilização por crianças de menor faixa etária, apresentam a mesma concentração de F na forma solúvel, que é aquele disponível para ser absorvido se ingerido e portanto passível de causar fluorose dental.

Vale ressaltar ainda que no presente estudo a concentração de F total ingerido durante o experimento foi padronizada, resultando em uma maior quantidade ingerida do dentifrício a base de NaF/SiO₂ do que do dentifrício a base de MFP/CaCO₃, e por isso a maior absorção encontrada quando do dentifrício formulado com SiO₂, em ambas as condições, recém-adquirido ou envelhecido. Entretanto, ao considerar-se hipoteticamente uma criança escovando seus dentes utilizando uma mesma quantidade de dentifrício Tandy® (NaF/SiO₂) ou Sorriso® (MFP/CaCO₃), e ingerindo parte do dentifrício dispensado na escova, a quantidade de F absorvido será similar para ambos e portanto, o risco seria o mesmo.

Dessa forma, do ponto de visto de riscos e benefícios da utilização de fluoretos, a instrução mais adequada frente às evidências disponíveis para crianças na faixa etária de risco de desenvolvimento da doença seria a realização da escovação supervisionada por pais ou responsáveis, evitando o risco de ingestão de F pelo dentifrício, com a utilização de pequena quantidade de dentifrício fluoretado (Pang & Vann, 1992), logo após as refeições, o que reduziria a absorção quando da ingestão acidental (Cury *et al.*, 2005a), com dentifrício na forma de NaF/SiO₂ ou MFP/CaCO₃ apresentando em torno de 1000 ppm F na forma solúvel, para que o máximo benefício anticárie seja alcançado (Walsh *et al.*, 2010).

7. CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram que apenas o F solúvel dos dentifrícios é absorvido, o que deve ser considerado na discussão atual da recomendação do uso de dentifrícios fluoretados para crianças e na estimacão do potencial risco de causarem fluorose.

REFERÊNCIAS¹

1. Aoba T, Fejerskov O. Dental fluorosis: chemical and biology. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2002; 13(2): 155-70.
2. Akapta ES, Fakiha Z, Khan N. Dental fluorosis in 12–15-year-old rural children exposed to fluorides from well drinking water in the Hail region of Saudi Arabia. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1997; 25(4):324-327.
3. Arnold FA, Likins RC, Russell AL, Scott DB. Fifteenth year of the Grand Rapids fluoridation study. In: *Fluoride drinking waters*. Bethesda, MA: National Institute of Dental Research. 1962; 253-256.
4. Bardsen A. “Risk periods” associated with the development of dental fluorosis in maxillary permanent central incisors: a meta-analysis. *Acta Odontol Scan*. 1999; 57(5): 247-56.
5. Box GEP, Hunter WG, Hunter JS. *Statistics for experimenters: an introduction to design, data analysis and model building*. 1978. In: New York: John Wiley & Sons Inc.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Projeto SB Brasil 2003: condições de saúde bucal da população brasileira 2002-2003: resultados principais. Departamento de Atenção Básica – Brasília: Ministério da Saúde, 2004. 68p.
7. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia de recomendações para o uso de fluoretos no Brasil / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2009. 56 p.
8. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Projeto SBBrasil 2010: Pesquisa Nacional de Saúde Bucal – Resultados Principais. Departamento de Atenção Básica – Brasília: Ministério da Saúde, 2011. 92p.

¹De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseadas na norma do International Committee of Medical Journal Editors – Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

9. Bratthall D, Hänsel-Petersonn G, Sundberg H. Reasons for the caries decline: what do experts believe? *Eur J Oral Sci.* 1996; 104: 416-22.
10. Bronckers ALJJ, Lyaruu DM, DenBesten PK. The impact of fluoride on ameloblasts and the mechanisms of enamel fluorosis. *J Dent Res.* 2009; 88(10):877-93.
11. Brudevold F, Bahkos Y, Gron P. Fluoride in human saliva after ingestion of aluminium chloride or sodium F or MFP. *Arch Oral Biol.* 1973; 18:699-701.
12. Burt BA. The changing patterns of systemic fluoride intake. *J Dent Res.* 1992; 71(Spec. Issue): 1228-37.
13. Burt BA. Fifty years of water fluoridation. *Br Dent J.* 1995; 178(2):49-50.
14. Butler WJ. Prevalence of Dental Mottling in School-aged Lifetime Residents of 16 Texas Communities. *Am J of Public Health.* 1985; 75:1408-12.
15. Cangussu MCT, Narvai PC, Fernandez RC, Dehejizian V. A fluorose dentária no Brasil: uma revisão crítica. *Rev Saúde Pub.* 2002; 18(1):7-15.
16. Casarin RCV, Fernandes DRM, Lima-Arsati YBO, Cury JA. Concentração de fluoreto em arroz, feijão e alimentos infantis industrializados. *Rev Saúde Pública.* 2007; 41(4): 549-56.
17. Catani DB, Hugo FH, Cypriano S, Sousa MLR, Cury JA. Relationship between fluoride levels in the public water supply and dental fluorosis. *Rev Saúde Pública.* 2007; 41(5): 732-39.
18. Chankanka O, Levy S, Warren JJ, Chalmers JM. A literature review of aesthetic perceptions of dental fluorosis and relationships with psychosocial aspects/oral health-related quality of life. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2010; 38(2):97-109
19. Clark DC. Trends in prevalence in dental fluorosis in North America. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1994; 22(3): 148-52.
20. Clark DC, Shulman JD, Mapoumé G, Levy SM. Changes in dental fluorosis following the cessation in water fluoridation. *Community Oral Dent Epidemiol.* 2006; 34: 197-204.
21. Conde NCO, Rebelo MAB, Cury JA. Evaluation of the fluoride stability of dentifrices sold in Manaus, AM, Brazil. *Pesqui Odontol Bras.* 2003; 17(3): 247-53.

22. Cury JA, Guimaraes LOC, Arbex ST, Moreira BH. Análise de dentifrícios fluoretados: concentração e formas químicas de fluoretos encontrados em produtos brasileiros. *Rev Ass Paul Cirurg Dent.* 1981; 35(2): 142-47.
23. Cury JA. Estabilidade do flúor nos dentifrícios brasileiros. *Rev Gaúcha Odontol.* 1986; 34(5): 430-432.
24. Cury JA. Avaliação de um dentifrício contendo xilitol e flúor. *Rev Bras Odont.* 1987; 46: 36-40.
25. Cury JA. Dentifrícios fluoretados no Brasil. *Rev Gaucha Odontol.* 1989; 37(2):139-42.
26. Cury JA, Francisco SB, Simões GSN, Del Bel Cury AA, Tabchoury CPM. Effect of a calcium carbonate-based dentifrice on enamel demineralization in situ. *Caries Res.* 2003; 37: 194-9.
27. Cury JA, Tenuta LM, Ribeiro CC, Paes Leme AF. The importance of fluoride dentifrices to the current dental caries prevalence in Brazil. *Braz Dent J.* 2004; 15: 167-74.
28. Cury JA, Del Fiol FS, Tenuta LMA, Rosalen PL. Low-fluoride and gastrointestinal fluoride absorption after meals. *J Dent Res.* 2005a; 84(12); 1133-1137.
29. Cury JA, Simões GS, Del Bel Cury AA, Gonçalves NC, Tabchoury CPM. Effect of a calcium carbonate-based dentifrice on in situ enamel remineralization. *Caries Res.* 2005b; 39:255-257.
30. Cury JA, Tenuta LMA. How to maintain a cariostatic fluoride concentration in the oral environment. *Adv Dent Res.* 2008; 20(1):13-16.
31. Cury JA, Oliveira MJL, Martins CC, Tenuta LMA, Paiva SM. Available fluoride in toothpastes used by Brazilian children. *Braz Dent J.* 2010; 21(5): 396-400.
32. Dean HT, Arnold FA, Elvolve E. Domestic water and dental caries. V. Additional studies of relation of fluoride domestic waters to caries experience in 4,425 children, aged 12 to 14 years, of 13 cities, in 4 states. *Public Health Reports.* 1942; 57: 1155-79.

33. de Almeida BS, Silva Cardoso VE, Buzalaf MAR. Fluoride ingestion from toothpaste and diet in 1 to 3 year-old Brazilian children. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2007; 35: 53-63.
34. DenBesten PK, Crenshaw MA, Wilson MH. Changes in the fluoride induced modulation of maturation stage in ameloblasts of rats. *J Dent Res.* 1985; 64:1365-70.
35. DenBesten PK, Crenshaw MA. Studies on the changes on the developing enamel caused by ingestion of high levels of fluoride in teeth. *Adv Dent Res.* 1987; 1(2): 176-80.
36. DenBesten PK. Biological mechanism of fluorosis and level and timing of systemic exposure to fluoride with respect to fluorosis. *J Dent Res.* 1992; 71:38-43.
37. DenBesten PK. Mechanism and timing of fluoride effects on developing enamel. *J Public Health.* 1999; 59:247-51.
38. DenBesten PK, Yan Y, Featherstone JDB, Hilton JF, CE Smith, Li W. Effects of fluoride on rat dental enamel matrix proteinases. *Arch Oral Biol.* 2002; 42: 763-70.
39. Do LG, Spencer AJ. Risk-benefit balance in the use of fluoride among young children. *Journal of Dental Research* 2007; 86(8): 723-8.
40. Dost FH. Die Blutspiegel Kinetic der Konzentrationsabläufe in der Kreislaufflüssigkeit. Georg Thieme, Leipzig. 1953.
41. Downer MC. Dental caries experience and defects of dental enamel among 12-year-old children in north London, Edinburgh, Glasgow and Dublin. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1994; 22:283-285.
42. Drummond BK, Curzon MEJ, Strong M. Estimation of fluoride absorption from swallowed fluoride toothpaste. *Caries Res.* 1990; 24(3): 211-5.
43. Duckworth RM, Stewart D. Effect of mouthwashes of variable NaF concentration but constant NaF content on oral fluoride retention. *Caries Res.* 1994; 28(1): 43-7.
44. Ekstrand J, Alvan G, Boréus LO, Norlin A. Pharmacokinetics of fluoride in man after single and multiple oral doses. *Eur J Clin Pharmacol.* 1977a; 12:311-317.

45. Ekstrand J. Fluoride concentrations in saliva after single oral doses and their relation to plasma fluoride. *Scan J Dent Res.* 1977b; 85: 16-7.
46. Ekstrand J, Ehrnebo M. Influence of milk products on fluoride bioavailability in man. *Eur J Clin Pharmacol.* 1979; 16: 211-5.
47. Ekstrand J, Ehrnebo M. Absorption of fluoride from fluoride dentifrices. *Caries Res.* 1980; 14(2): 96-102.
48. Ekstrand J, Spak CJ. Fluoride toothpaste-content, absorption and toxicological aspects. *Tandlakartidningen.* 1988. 79(22): 1249-52.
49. Ekstrand J, Spak CJ, Vogel G. Pharmacokinetic of fluoride in man and its clinical relevance. *J Dent Res.* 1990; 69(Spec Iss):550-555.
50. Ekstrand J, Ziegler EE, Nelson SE, Fomon SJ. Absorption and retention of dietary and supplemental fluoride by infants. *Adv Dent Res.* 1994; 8:175-180.
51. Ekstrand J. Fluoride metabolites. In: *Fluoride in dentistry.* Munksgaard textbook; 1996, p.55-65.
52. Ellwood RP, Fejerskov O, Cury JA, Clarkson B. Fluoride in caries control. In: *Dental caries: the disease and its clinical management.* Fejerskov O, Kidd E (Editors). 2nd ed. Oxford: Blackwell & Munksgaard. 2008; p: 287-323.
53. Ellwood RP, Cury JA. How much toothpaste should a child under the age of 6 years use? *European Arch Ped Dent.* 2009; 10(3): 181-7.
54. Ericsson Y. Monofluorophosphate physiology: general considerations. *Caries Res.* 1983; 17(Suppl. 1):46-55.
55. Evans RW, Stamm JW. An epidemiologic estimate of the critical period during which human maxillary central incisors are most susceptible to fluorosis. *J Public Health Dent.* 1991; 51(4):251-9.
56. Farkas CS, Farkas EJ. Potential effect of food processing on the fluoride content of infant foods. *Science Total Environment.* 1974; 2: 399-405.
57. Fejerskov O, Manji F, Richards A. The nature and mechanisms of dental fluorosis in man. *J Dent Res.* 1990; 69(Special Issue): 692-700.

58. Fejerskov O, Baelum V, Richards A. Dose response and dental fluorosis. In: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA, editors. Fluoride in Dentistry. 2 ed. Copenhagen: Munksgaard; 1996. p. 153-66.
59. Feldens CA, Rösing CK, dos Santos BZ, Cordeiro MM. Pattern of fluoride-containing dentifrice use and associated factors in preschool children from Ijuí, South Brazil. *Oral Health Prev Dent*. 2010; 8(3): 277-85.
60. Fernandes LMAG, Cury JA. Avaliação metabólica do flúor pré-natal. *Rev Bras Med*. 1993; 50(41): 1546-52.
61. Franco AM, Martignon S, Saldarriaga A, Gonzalez MC, Arbeláez MI, Ocampo A, *et al*. Total fluoride intake in children aged 22-35 months in four Colombian cities. *Community Dent Epidemiol*. 2005; 33: 1-8.
62. Franzman MR, Levy SM, Warren JJ, Broffit B. Fluoride dentifrice ingestion and fluorosis of the permanent incisors. *J Am Dent Assoc*. 2006; 137: 645-52.
63. Freitas JF. Fluoride stability in toothpastes. *Aust Dent J*. 1984; 29: 30-5.
64. Galagan DJ, Vermillion JR. Determining optimum fluoride concentration. *Public Health Rep*. 1957; 68: 497-508.
65. Guha-Chowdhury N, Drummond BK, Smillie AC. Total fluoride intake in children aged 3-4 years: a longitudinal study. *J Dent Res*. 1996; 75: 1451-7.
66. Hargreaves JA, Ingram GS, Wagg BJ. Excretion studies of a monofluorophosphate toothpaste by children. *Caries Res*. 1970; 4:256-268.
67. Hashizume LM, Lima YBO, Kawaguchi Y, Cury JA. Fluoride availability and stability of Japanese dentifrices. *Journal of Oral Scie*. 2003; 45(4):193-9.
68. Hattab FN. The state of fluorides in toothpastes. *J Dent*. 1989; 17: 47-54.
69. Hayacibara MF, Queiroz CS, Tabchoury CPM, Cury JA. Fluoride and aluminum in teas and tea-based beverages. *Rev Saúde Pública*. 2004; 38(1): 100-05.
70. Hong L, Levy SM, Broffit B, Warren JJ, Kanellis MJ, Wefel JS, Dawson DV. Timing of fluoride intake in relation to development of fluorosis on maxillary incisors. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2006; 34: 299-309.

71. 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.* 1991; 70 (6): 952-956.
72. Ismail AI, Bandekar RR. Fluoride supplements and fluorosis: a meta-analysis. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1999; 27: 48–56.
73. Kubota K, Lee DH, Tsuchiya M. Fluoride induces endoplasmatic reticulum stress in ameloblasts responsible for dental enamel formation. *J Biol Chem.* 2005;280:23194-23202.
74. Larsen MJ, Kirkegaard E, Poulsen S. Patterns of dental fluorosis in a European country in relation to fluoride concentrations of drinking water. *J Dent Res.* 1987; 66: 10-12.
75. Levine RR. *Pharmacology drug actions and reactions.* 3rd. ed. Little Brown. 1991.
76. Levy SM. Review of fluoride exposures and ingestion. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1994; 22: 173-80.
77. Levy SM. An update on fluorides and fluorosis. *J Can Dent Assoc.* 2003; 69: 286-91.
78. Lima YBO, Cury JA. Ingestão de flúor por crianças pela água e dentifrício. *Rev Saúde Pública.* 2001; 35(6): 576-81.
79. Lima YBO, Cury JA. Seasonal variation of fluoride intake by children in a subtropical region. *Caries Res.* 2003; 37(5): 335-8.
80. Lin JK, Renaldo GJ, Chapman P. LD₅₀ of SnF₂, NaF and Na₂FPO₃ in the mouse compared to the rat. *Caries Res.* 1978; 12:177-79.
81. Maguire A, Zohouri FV, Mathers JC, Steen IN, Hindmarch PN, Moynihan. Bioavailability of fluoride in drinking water. *J Dent Res.* 2005; 84(11): 989-993.
82. Maltz M, Farias C. Fluorose dentária em escolares de quatro cidades brasileiras com e sem água artificialmente fluoretada. *Rev Fac Odontol da UFRGS.* 1998; 39(2): 18-21.
83. Marinho VC, Higgins JP, Sheiham A, Logan S. Fluoride toothpastes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003; 1: CD002278.

84. Marinho VC, Higgins JP, Sheiham A, Logan S. One topical fluoride (toothpastes, or mouthrinses, or gels, or varnishes) versus another for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 2004; 1: CD002780.
85. Martins CC, Paiva SM, Lima YBO, Ramos-Jorge ML, Cury JA. Prospective study of the association between fluoride intake and dental fluorosis in permanent teeth. *Caries Res.* 2008; 42: 125-33.
86. Martins CC, Oliveira MJ, Pordeus IA, Cury JA, Paiva SM. Association between socioeconomic factors and the choice of dentifrice and fluoride intake by children. *Int J Environ Res Public Health.* 2011; 8: 4284-4299.
87. Mascarenhas AK, Burt BA. Fluorosis risk from early exposure to fluoride toothpaste. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1998; 26(4): 241-8.
88. Mascarenhas AK. Risk factors for dental fluorosis: a review of the recent literature. *Pediatr Dent.* 2000; 22: 269-77.
89. McClure. Ingestion of fluoride and dental caries. Quantitative relations based on food and water requirements of children 1 to 12 years old. *Am J Dis Child.* 1943; 66: 362-369.
90. McDonagh MS, Whithing PF, Wilson PM, Sutton AJ, Chestnut I, Copper J *et al.* Systematic review of water fluoridation. *BMJ.* 2000; 321(7): 855-859.
91. McKay FS, Black GV. An investigation of mottled teeth: an endemical developmental imperfection of the enamel of the teeth, heretofore unknown in the literature of dentistry. *Dent Cosmos.* 1916; 58(5): 477-84.
92. McKay FS. The relation of mottled teeth to caries. *J Am Dent Assoc.* 1928; 15: 1429-37.
93. Moraes SM, Pessan JP, Ramires I, Buzalaf MAR. Fluoride intake from regular and low fluoride dentifrices by 2-3-year-old children: influence of dentifrice flavor. *Braz Oral Res.* 2007; 21(3): 234-40.
94. Narvai PC. Cárie dentária e flúor: uma relação do século XX. *Ciência Saúde Col.* 2000; 5(2): 381-92.

95. Nelson DL, Cox MM. Biological membranes and transport. In: Principles of Biochemistry. 5 ed. Ed. Freeman. p.372-380.
96. Oliveby A, Lagerlof F, Ekstrand J, Dawes C. Studies on fluoride concentrations in human submandibular/sublingual saliva and their relation to flow rate and plasma fluoride levels. J Dent Res. 1989; 68(2): 146-9.
97. Oliveira MJL, Paiva SM, Martins LHPM, Ramos-Jorge ML, Lima YBO, Cury JA. Fluoride intake by children at risk for development of dental fluorosis: comparison of regular dentifrices and flavoured dentifrices for children. Caries Res. 2007; 41: 460-6.
98. Ophaug RH, Singer L, Harland BF. Estimated fluoride intake of average two-year-old children in four dietary regions of the United States. J Dent Res. 1980; 59; 777-781.
99. Orth MR, Assaf AV, Zanin L, Mialhe FL, Klein AL, Medina MRJ, *et al.* Concentração de flúor nos principais dentifrícios comercializados no Brasil e impacto da nova portaria de regulamentação. Revista Odonto Ciência. 2001; 16: 27-33.
100. Paiva SM, Lima YBO, Cury JA. Fluoride intake by brazilian children from two communities with fluoridated water. Community Dent Oral Epidemiol. 2003; 31:184-91.
101. Pang DT, Vann WF Jr. The use of fluoride-containing toothpastes in young children: the scientific evidence for recommending a small quantity. Pediatric Dent. 1992; 14:384-187.
102. Pearce EI. A laboratory evaluation of New Zealand fluoride toothpastes. N Z Dent J. 1974; 70:98-108.
103. Pendrys DG, Katz RV, Morse DE. Risk factors for enamel fluorosis in a fluoridated population. Am J Epidemiol. 1994; 140:461-71.
104. Richards A, Kragstrup J, Nielsen-Kudsk F. Pharmacokinetics of chronic fluoride ingestion in growing pigs. J Dent Res. 1985; 64: 425-430.
105. Richards A, Fejerskov O, Baelum V. Enamel fluoride in relation to severity of human dental fluorosis. Adv Dent Res. 1989; 3:147-53.

106. Richards A, Banting BW. Fluoride toothpaste. In: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA. Fluoride in Dentistry. 2 ed. 1996; p. 328-46.
107. Ricomini-Filho AP, Tenuta LMA, Fernandes FSF, Calvo ASB, Kusano SC, Cury JA. Fluoride concentration in the top-selling Brazilian toothpastes purchased at different regions. Braz Dent J. 2012.
108. Roldi CR, Cury JA. Metabolismo do flúor após a ingestão de dentifrícios. Rev Gaúcha Odontol. 1986; 34(5): 425-7.
109. Santos APP, Nadanovsky P, Oliveira BH. Survey of Brazilian governmental health agencies shows conflicting recommendations concerning oral hygiene practices for children. Cad Saúde Pública. 2010; 26(7): 1457-1463.
110. Santos APP, Nadanovsky P, Oliveira BH. Inconsistencies in recommendations on oral hygiene practices for children by professional dental and paediatric organisations in ten countries. Int Journal Pediatric Dent. 2011; 21: 223-231.
111. Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo. Condições de saúde bucal no estado de São Paulo em 2002: relatório final. Núcleo de Estudos e Pesquisas de Sistema de Saúde, 2002. 41p.
112. Silva P. Farmacocinética. In: Farmacologia. 8 ed. Editora Guanabara Koogan. 2010a. p.27-29.
113. Silva P. Absorção das drogas. In: Farmacologia. 8 ed. Editora Guanabara Koogan. 2010b. p.44-53.
114. Silva P. Excreção das drogas. In: Farmacologia. 8 ed. Editora Guanabara Koogan. 2010c. p.79-83.
115. Silva P. Biodisponibilidade das drogas. In: Farmacologia. 8 ed. Editora Guanabara Koogan. 2010d. p.54-57.
116. Shourie KL, Hein JW, Hodge HC. Preliminary studies of the caries inhibiting potential and acute toxicity of sodium monofluorophosphate. J Dent Res. 1950; 29: 529-533.
117. Smith FA, Hodge HC. Toxicology of monofluorophosphate. Caries Res. 1983; 17(Suppl 1): 36-45.

118. Smith FA, Ekstrand J. The occurrence and the chemistry of fluoride. In: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA, editors. Fluoride in Dentistry. 2 ed. Copenhagen: Muksgaard; 1996. p. 17-24.
119. Tabchoury CPM, Cury JA. Estudo de condições de envelhecimento precoce de dentifrícios para prever o comportamento do flúor em condições ambientais. Rev Bras Farm. 1994; 75(3):67-71.
120. Tenuta LMA, Cury JA. Fluoride: its role in dentistry. Braz Oral Res. 2010; 24(Spec Iss 1): 9-17.
121. Trautner K, Einwag J. Factors influencing the bioavailability of fluoride from calcium-rich health food products and CaF₂ in man. Arch Oral Biol. 1987; 32:401-406.
122. Trautner K, Einwag J. Influence of milk and food on fluoride bioavailability from NaF and Na₂FPO₃ in man. J Dent Res. 1989; 68(1):72-77.
123. Villa A, Anabalón M, Cabezas L. The fractional urinary fluoride excretion in young children under stable fluoride intake conditions. Community Dental Oral Epidemiol. 2000; 28:344-55.
124. Villa A, Anabalón M, Zohouri V, Maguire A, Franco AM, Rugg-Gunn A. Relationships between fluoride intake, urinary fluoride excretion and fluoride retention in children and adults: and analysis of available data. Caries Res. 2010; 44: 60-8.
125. Walsh T, Worthington HV, Glenny AM, Appelbe P, Marinho VC, Shi X. Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries in children and adolescents. Cochrane Database Syst Rev. 2010; 20(1):CD007868
126. Warren JJ, Levy SM. A review of fluoride dentifrice related to dental fluorosis. Pediatric Dentistry. 1999; 21: 265-71.
127. Warren J, Broffitt B, Levy S. Caries, fluorosis and amounts of dentifrice used in childhood. J Dent Res. 2010; 89(Special Issue A).
128. Whitford GM, Pashley DH, Reynolds KE. Fluoride absorption from the rat urinary bladder: a pH-depedent event. Am J Phisiol. 1977; 232:10-15.

129. Whitford GM, Pashley DH, Reynolds KE. Fluoride tissue distribution: short term kinetics. *Am J Physiol.* 1979; 236:141-148.
130. Whitford GM, Hood K, Fry BW. F bioavailability: comparison of MFP with NaF in neonatal rats. *Caries Res.* 1988; 22:106, Abst. nº55.
131. Whitford GM. The physiological and toxicological characteristics of fluoride. *J Dent Res.* 1990; 69(Spec Issue): 539-549.
132. Whitford, GM. Intake and metabolism of fluoride. *Adv Dent Res.* 1994; 8(1):5-14
133. Whitford GM. The metabolism and toxicity of fluoride. In: *Monographs in Oral Science*; 1996.
134. Wong MC, Glenny AM, Tsang BW, Lo EC, Worthington HV, Marinho VC. Topical fluoride as a cause of dental fluorosis in children. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010; 20(1):CD007693.
135. Yagiela JA. Pharmacokinetics: the absorption, distribution and fate of drugs. In: *Pharmacology and therapeutics for dentistry.* 6 ed. Ed. Mosby Elsevier. 2011. p 17-47.
136. Yan Q, Zhang Y, Li W. Micromolar fluoride alters ameloblasts lineage cells in vitro. *J Dent Res.* 2007;86:336-340.

PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "**Avaliação da absorção de fluoreto a partir de dentífricos contendo carbonato de cálcio ou sílica como abrasivos**", protocolo nº 184/2009, dos pesquisadores Lívia Maria Andaló Tenuta, Amanda Falcão da Silva e Jaime Aparecido Cury, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 10/02/2010.

The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project "**Fluoride absorption from dentifrices containing silica or calcium carbonate as abrasives**", register number 184/2009, of Lívia Maria Andaló Tenuta, Amanda Falcão da Silva and Jaime Aparecido Cury, comply with the recommendations of the National Health Council - Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 02/10/2010.



Prof. Dr. Pablo Agustín Vargas
Secretário
CEP/FOP/UNICAMP



Prof. Dr. Jackie Jorge Junior
Coordenador
CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.
Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.

APÊNDICE

APÊNDICE 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: Avaliação da absorção de fluoreto a partir de dentifrícios contendo carbonato de cálcio ou sílica como abrasivos

Esta pesquisa tem como responsáveis os Profs. Livia M. A Tenuta e Jaime A. Cury. A Profa. Livia M. A. Tenuta fará o convite para participação na pesquisa, a apresentação do TCLE e a obtenção do consentimento pelos voluntários.

Justificativa

No Brasil, a maioria dos dentifrícios possui carbonato de cálcio (CaCO_3) como abrasivo. Esses dentifrícios devem conter o fluoreto na forma de MFP (monofluorofosfato de sódio), para evitar a inativação do fluoreto devido à formação de complexo insolúvel com o cálcio dentro do tubo do dentifrício. Normalmente apresentam concentração de fluoreto total de 1450 $\mu\text{g F/g}$, entretanto em média 20% desse total está insolúvel. Logo, a presença do Ca no abrasivo pode diminuir a disponibilidade de F a ser absorvido no estômago quando esses dentifrícios são inadvertidamente ingeridos por crianças na idade de risco de fluorose. Por outro lado, também há no mercado dentifrícios cujo componente abrasivo é a sílica, que não forma complexo insolúvel com fluoreto, isto é todo o fluoreto está disponível para ser absorvido. Esses dentifrícios tem como fonte de íons flúor o NaF (fluoreto de sódio), normalmente na concentração de 1100 $\mu\text{g F/g}$, sendo que a maioria dos dentifrícios que fazem apelo comercial de uso por crianças apresenta o sistema NaF/sílica na sua composição. Assim, seria relevante avaliar em humanos a biodisponibilidade de fluoreto a partir de dentifrícios com diferentes tipos de abrasivos.

Objetivo da Pesquisa

Avaliar a absorção de fluoreto em humanos de dentifrício contendo carbonato de cálcio ou sílica como abrasivo.

Procedimentos

O estudo será conduzido em 5 fases experimentais distintas de acordo com os seguintes grupos de tratamento: água destilada (controle), dentifrícios Tandy e Sorriso, formulados respectivamente com NaF/SiO_2 e MFP/CaCO_3 , sob condições de não-envelhecimento e após envelhecimento precoce, que simularia a ingestão de dentifrício armazenado a temperatura ambiente após um ano. Os voluntários ingerirão quantidade de dentifrício correspondente a 49,5 μg de F/Kg de peso corporal, diluídos em 30 mL de água destilada de cada um dos dentifrícios. Um intervalo de pelo menos uma semana será aguardado entre o teste de cada dentifrício. Após a ingestão, os voluntários realizarão três bochechos com 30 mL de água destilada e deglutirão as soluções. Esse

procedimento visa eliminar resíduos do dentifrício que possam permanecer na cavidade bucal. A saliva não estimulada será coletada pelos voluntários nos tempos zero (baseline) e após 5, 15, 30, 45, 60, 120 e 180 minutos, para determinação da concentração de F. Vinte e quatro horas antes e após o experimento, os voluntários também deverão coletar sua urina, em frascos separados, para que seja estimado o aumento na eliminação de fluoreto devido à ingestão do dentifrício. Sete dias antes cada experimento e durante o teste, os voluntários utilizarão um dentifrício não fluoretado e serão instruídos a evitar a ingestão de alimentos ricos em F, como peixes e frutos do mar e chá preto e verde. Também será recomendado que não utilizem bochechos ou outros produtos contendo F.

Possibilidade de inclusão em grupo controle ou placebo

No grupo controle haverá a ingestão de água destilada e deionizada.

Métodos alternativos para obtenção da informação

Fizemos um estudo prévio para determinar a concentração de fluoreto total (solúvel e insolúvel) e solúvel (íon fluoreto e o íon monofluorofosfato) nos dentifrícios mais utilizados em crianças. Os dados sugeriram que os dentifrícios apresentaram eficácia no controle da cárie. Quanto ao risco de fluorose, é necessário avaliar o metabolismo, comparando em humanos a biodisponibilidade de fluoreto a partir de dentifrícios com diferentes abrasivos.

Descrição crítica dos Desconfortos e Riscos Previsíveis

Os voluntários irão ingerir uma suspensão contendo 49,5 µg de F/Kg de peso corporal diluídos em 30 mL de água destilada. Não será acarretado desconforto uma vez que após a ingestão, os voluntários realizarão três bochechos com 30 mL de água destilada e deglutirão as soluções, minimizando o desconforto da ingestão do dentifrício. Esse procedimento visará também eliminar resíduos do dentifrício que possam permanecer na cavidade bucal.

Descrição dos Benefícios e Vantagens diretas ao voluntário

Não há demais benefícios diretos ao voluntário previstos.

Forma de acompanhamento e assistência ao sujeito

Os pesquisadores responsáveis estarão à disposição dos voluntários para esclarecer quaisquer dúvidas durante todo o experimento e ajustes no dispositivo.

Garantia de esclarecimento e Forma de contato com os pesquisadores

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

Endereço: Av. Limeira, 901 – Laboratório de Bioquímica – FOP
Tel: 2106-5393 (Sala da Profª Livia); 2106-5303 (Laboratório de Bioquímica).

Garantia de ressarcimento

Não há previsão de gastos para participação na pesquisa e portanto não há previsão de ressarcimento.

Garantia de indenização e/ou reparação de danos

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

Garantia de sigilo

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

Garantia de recusa à participação ou de saída do estudo

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

SUA ASSINATURA INDICA QUE VOCÊ DECIDIU PARTICIPAR DA PESQUISA COMO VOLUNTÁRIO, QUE LEU E ENTENDEU TODAS AS INFORMAÇÕES ACIMA EXPLICADAS E QUE RECEBEU 1 CÓPIA DESTA DOCUMENTO.

Nome do voluntário
RG:

Assinatura do voluntário

Assinatura do pesquisador

Atenção: A sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Em caso de dúvida quanto aos seus direitos, escreva para o **Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-Unicamp**.
Endereço: Av Limeira, 901 CEP – FOP, CEP 13.414-903 Piracicaba, SP. Fone: 19-2106-5349. e-mail: cep@fop.unicamp.br ; website: www.fop.unicamp.br/cep

APÊNDICE 2 –INSTRUÇÕES AOS VOLUNTÁRIOS



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

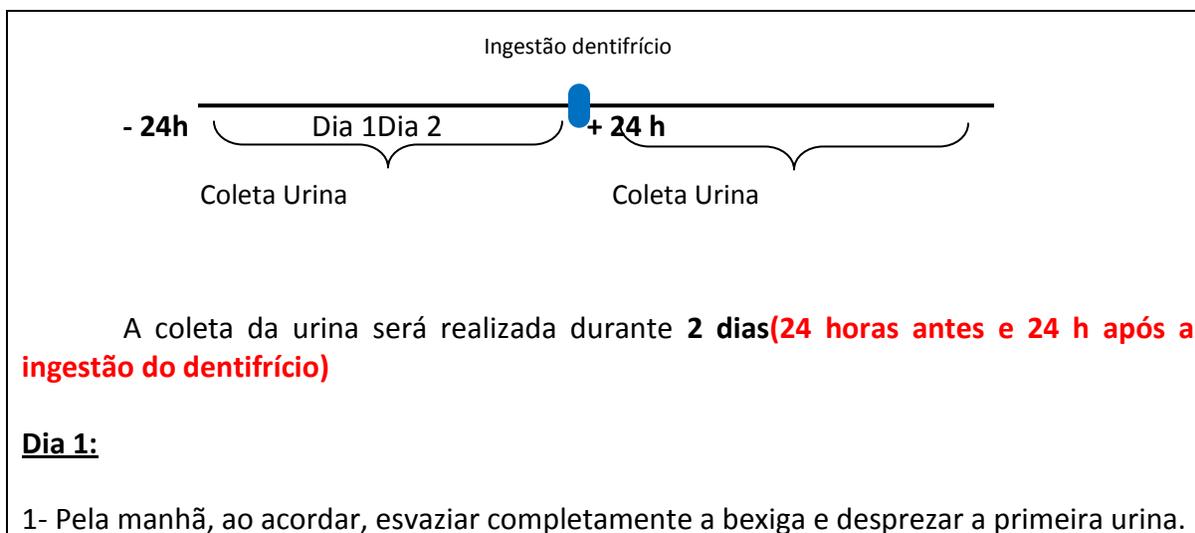


FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

Instruções aos voluntários

1. Utilize somente a pasta de dente fornecida pelo pesquisador. Realize a escovação dos seus dentes **3 vezes ao dia** (preferencialmente).
2. Durante o período experimental, **não** utilize produtos para bochecho ou outros agentes tópicos de qualquer natureza na cavidade bucal.
3. **Não** beba chá preto e chá verde durante o experimento, pois eles contêm grande quantidade de flúor.
4. Quando o dentifrício (creme dental) estiver acabando, entre em contato com o pesquisador responsável para que seja reposta.

Informações coleta de urina de 24 horas



2- A partir da segunda urina, **colher todo o volume** durante o dia, à noite, e **até a primeira urina do dia seguinte**, quando completar 24 horas, coletando-as nos frascos disponibilizados.

Dia 2:

1- Vir ao laboratório no horário marcado pela manhã, **em jejum (exclusivamente a ingestão de água é permitida)**, e entregar os frascos de urina

2- Ingestão do dentifrício a ser testado e coleta de saliva não-estimulada por 3 horas. **Durante esse período, permanecer em jejum absoluto, sem beber água.**

3- **Colher todo o volume de urina** durante o dia, à noite, e **até a primeira urina do dia seguinte**, quando completar 24 horas, coletando-a nos frascos disponibilizados.

- Os recipientes contendo a urina deverão ser armazenados em temperatura ambiente ou dentro da geladeira.

- Utilize quantos frascos forem necessários, lembre-se nenhuma urina deverá ser desprezada. Caso sejam necessários mais frascos para a coleta, estes estarão disponíveis no Laboratório de Bioquímica.

Atenção: Não se esqueça de coletar a urina durante a noite, se ocorrer.

Qualquer dúvida ou problema entre em contato:
Amanda Falcão - 2106-5303 (Laboratório de Bioquímica)