



UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Monografia de Final de Curso

Aluno(a): Fernanda Frasseto

Orientador(a): Profª Marines Nobres dos Santos Uchoa

Ano de Conclusão do Curso: 2007

TCC 395

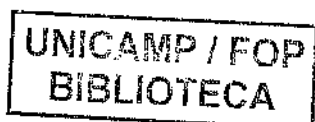
Profª Marines Nobres dos Santos Uchoa

Fernanda Frasseto

**Ação da enzima anidrase carbonica VI
salivar e sua relação com o sistema tampão
salivar e a Cárie Precoce da Infância**

Monografia apresentada ao
Curso de Odontologia da
Faculdade de Odontologia
de Piracicaba - UNICAMP,
para obtenção do Diploma
de Cirurgião-Dentista.

Orientador(a): Profa Marines Nobres dos Santos Uchoa



**Piracicaba
- 2007 -**

Unidade FOP/UNICAMP	
N. Chamada	
F864a	
Vol.	Ex.
Tombo BC/	

C.T. 786441

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**
Bibliotecário: Marilene Girello – CRB-8ª. / 6159

F864a

Frasseto, Fernanda.

Ação da enzima anidrase carbonica VI salivar e sua relação com o sistema tampão salivar e a cárie precoce da infância. / Fernanda Frasseto. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2007. 38f. : il.

Orientador: Marines Nobres dos Santos Uchoa.

Monografia (Graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Cárie dentária. 2. Saliva. 3. Desmineralização do dente. 4. Esmalte dentário. I. Uchoa, Marines Nobres dos Santos. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

(mg/fop)

DEDICATÓRIA

Dedico esta Monografia primeiramente a Deus que me deu a vida e
me mostrou sempre o caminho certo a seguir.
E à minha família que sempre me apoiou de todas as formas durante
este curso.
Também dedico às amigas que conquistei aqui na Fop-UNICAMP.
E à Profª Marines que me orientou.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ser meu porto seguro por renovar as minhas forças, me guiar por caminhos certos e me proteger.

Às amigas da faculdade que fizeram do curso de Odontologia uma trajetória mais prazerosa.

Agradeço ao meu pai e minha mãe que fizeram de tudo para me manter na faculdade e para formar uma filha Cirurgiã-dentista.

Às minhas irmãs, amigos que sempre me apoiaram.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas e Figuras.....	1
Lista de Abreviaturas.....	2
1. Resumo.....	3
2. Introdução.....	4
3. Desenvolvimento.....	8
3.1. Cárie Precoce da Infância.....	8
3.2. Composição Química dos Tecidos Duros Dentários.....	14
3.3. Composição da Saliva.....	14
3.3.1. Componentes inorgânicos.....	14
3.3.2. Componentes orgânicos.....	16
3.4. Físico-Química do Esmalte-Dentina-Saliva.....	17
3.5. Capacidade Tampão da Saliva.....	19
3.6. Enzima Anidrase Carbônica.....	20
4. Discussão.....	24
5. Conclusão.....	25
6. Referências bibliográficas.....	26

Lista de Tabelas e Figuras

Tabela 1. Composição da placa dental e cárie na dentição decídua.

Tabela 2. Distribuição de frequência absoluta e relativa das crianças examinadas, correlacionando defeitos de esmalte e cárie.

Tabela 3. Distribuição conjunta de frequência absoluta e relativa das crianças examinadas com relação aos fatores de risco da cárie.

Figura 1. Estrutura da enzima anidrase carbônica.

Figura 1. Modelo de ilustração que sugere a função da AC VI na superfície dental.

Lista de Abreviaturas

CPI = Cárie Precoce da Infância

AC VI = Anidrase Carbônica VI

et al = e outros

ATF = Aplicação Tópica de Flúor

PEC = Polissacarídeos extracelulares

HA = Hidroxiapatita

AF = Apatitafluoretada

FA = Fluorapatita

1. RESUMO

A cárie precoce da infância (CPI) é definida como a presença de uma ou mais superfícies dentárias cariadas (cavitadas ou não), perdidas ou obturadas em pré-escolares com idade inferior a 6 anos. A cárie em crianças pré-escolares é um assunto de grande importância, uma vez que apresenta alta prevalência nesta população e é considerada um problema de saúde pública. As crianças que apresentam CPI possuem maior risco ao desenvolvimento de cárie futura, sendo a experiência passada dessa doença considerada um dos preditores de risco mais significativos.

A saliva tem papel importante no controle do pH do biofilme dental, sua capacidade tampão é influenciada por uma proteína salivar, a anidrase carbônica VI, que penetra no biofilme dental e facilita a neutralização ácida pelo bicarbonato salivar. A anidrase carbônica VI catalisa a reação reversível do dióxido de carbono na reação $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$. Acredita-se que pela catalisação dessa reação, a anidrase carbônica VI seja capaz de prover uma maior neutralização dos ácidos no biofilme dental. Assim, um biofilme com maior capacidade tampão poderia ter um efeito protetor contra a cárie dental. Assim, este trabalho tem como objetivo fazer uma revisão de literatura sobre a cárie precoce na infância e sua relação com a isoenzima anidrase carbônica VI, que possivelmente atuaria na redução da doença cárie.

2. INTRODUÇÃO

A cárie precoce da infância (CPI) é definida como a presença de uma ou mais superfícies dentárias cariadas (cavitadas ou não), perdidas ou obturadas em pré-escolares com idade inferior a 6 anos (Drury *et al.*, 1999; Kaste *et al.*, 1999).

O termo define a idade do grupo afetado, caracterizando – se como uma doença de rápido desenvolvimento e que acomete superfícies dentárias normalmente livres de cárie (Horowitz, 1998). Caracteriza-se por atingir, inicialmente, a arcada superior dos dentes anteriores e progride até atingir a superfície oclusal dos primeiros molares decíduos, podendo resultar em destruição de toda dentição decídua (Milnes, 1996). A cárie em crianças pré-escolares é um assunto de grande importância, uma vez que afeta esta minoria da população, com desvantagens sócio-econômicas, em países desenvolvidos e em desenvolvimento (Khan *et al.*, 1998). Também é considerada um problema de saúde pública, uma vez que o último relatório de saúde bucal no Brasil, SB Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004), evidenciou que o país não atingiu a meta estabelecida pela Organização Mundial de Saúde (OMS), a qual preconiza que 50% das crianças com idade de zero a cinco anos devem estar livres de cárie. Neste contexto, verifica-se que a prevalência da CPI no Brasil é alta e varia de 24,2 a 43,4 % de acordo com Morita *et al.*, 1993, Mattos-Granner *et al.*, 1996, Bönecker *et al.*, 2002 e Rosenblatt & Zarzar, 2004. É importante ressaltar que crianças que apresentam CPI possuem maior risco ao desenvolvimento de cárie futura, sendo a experiência passada dessa doença considerada um dos preditores de risco mais significativos (Sclavos *et al.*, 1988; Hausen, 1997; Zhan *et al.*, 2006).

Até o momento, nenhum fator isoladamente foi identificado como o grande causador da cárie dentária. Ao contrário disso, uma grande quantidade de fatores tem sido proposta para explicar o processo. Essa é a razão pela qual é freqüentemente afirmado que a cárie dentária é uma doença multifatorial (Fejerskov & Kidd, 2005). Desse modo, pode-se destacar como os fatores primários relacionados à etiologia tanto da cárie dental como da cárie precoce da infância: a presença de bactérias cariogênicas, a ingestão de carboidratos fermentáveis (especialmente líquidos açucarados), e um hospedeiro /superfície dentária susceptível, que interagem em determinado período de tempo (Seow, 1998, Davies, 1998, Harris *et al.*, 2004 e Selwitz *et al.*, 2007). Dentre esses fatores, a freqüência de exposição à sacarose tem sido destacada como responsável pelas alterações orgânicas / inorgânicas (Cury *et al.*, 1997; Nobre dos Santos *et al.*, 2002; Tenuta *et al.*, 2006; Ccahuana-Vasquez *et al.*, 2007) e microbiológicas (Loesche, 1986; Nobre dos Santos *et al.*, 2002) no biofilme dentário.

Os açúcares, independentes de mono, di, ou polissacarídeos servem de substrato para os microorganismos do biofilme dental. Entretanto, a sacarose serve de substrato específico para a produção de polissacarídeos extracelulares insolúveis (PIs) (Loesche 1986, Bezerra e Toledo, 2003). Estes aumentam a viscosidade do biofilme e facilitam a aderência microbiana em grande quantidade, o que favorece a ocorrência do processo carioso. Dessa forma, as mudanças que ocorrem na composição orgânica e inorgânica do biofilme dental decorrentes da exposição à sacarose levam simultaneamente a reduções nas concentrações de flúor, cálcio e fósforo inorgânico e aumento na concentração de polissacarídeo solúvel em álcali o que foi demonstrado em estudos *in situ* (Cury *et al.*, 1997;

Tenuta *et al.*, 2006, Ccahuana-Vaquez *et al.*, 2007,) e em estudo *in vivo* realizado em pré-escolares com cárie precoce da infância (Nobre dos Santos *et al.*, 2002).

Os íons cálcio e fosfato inorgânico são importantes na manutenção do equilíbrio entre os fatores de desmineralização e remineralização do esmalte dental uma vez que atuam como tampões de saturação no meio bucal (Pearce, 1998). Adicionalmente, alguns autores têm sugerido que existe uma relação direta entre as concentrações destes íons no biofilme dental e a experiência ou o incremento de cárie (Ashley, 1975; Ashley & Wilson, 1977b; Schamschula *et al.*, 1978; Grobler *et al.*, 1982; Shaw *et al.*, 1993).

O flúor representa outro íon importante em relação à cárie dental e estudos *in situ* recentes demonstraram que sua concentração é baixa quando o biofilme é formado na presença de sacarose (Tenuta *et al.*, 2006, Ccahuana-Vasquez *et al.*, 2007). Da mesma forma, em estudo realizado em 2002, observou-se que pré-escolares com cárie precoce da infância tinham uma concentração de flúor no biofilme dental 10 vezes menor do que aqueles livres de cárie. Diante do exposto, fica clara a importância da composição do biofilme dental na manutenção do tamponamento dos fluidos bucais.

A capacidade tampão dos fluidos bucais é também influenciada por uma proteína salivar, a anidrase carbônica VI, que penetra no biofilme dental e facilita a neutralização ácida pelo bicarbonato salivar. A anidrase carbônica VI catalisa a reação reversível do dióxido de carbono na reação $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$. Acredita-se que pela catalisação dessa reação, a anidrase carbônica VI seja capaz de prover uma maior neutralização dos ácidos no biofilme dental (Kimoto *et al.*, 2006). Assim, um biofilme com maior capacidade tampão poderia ter um efeito

protetor contra a cárie dental. Com relação à saliva, foi demonstrado que em crianças livres de cárie, a expressão da anidrase carbônica VI foi maior do que naquelas com lesões de cárie ativas (Szabó, 1974).

Posteriormente, foi observada uma correlação negativa entre a concentração salivar de anidrase carbônica VI e o CPOD em adultos com higiene bucal deficiente, ou seja, baixas concentrações de AC VI parecem estar associada com o aumento da prevalência de cárie (Kivelä *et al.*, 1999). O mecanismo envolvido refere-se à aderência dessa enzima à película adquirida com a neutralização do excesso de acidez pela catalisação da reação $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ que constitui o sistema tampão mais importante do meio bucal (Leinonen, 1999). No entanto, não há relatos na literatura sobre a possível relação entre a Cárie Precoce da Infância e a anidrase carbônica VI.

Assim, este trabalho tem como objetivo fazer uma revisão de literatura sobre a cárie precoce na infância e sua relação com a isoenzima anidrase carbônica VI.

3. DESENVOLVIMENTO

3.1. Cárie Precoce da Infância

A Cárie Precoce de Infância (CPI) é a manifestação mais precoce da cárie dentária, e é determinada pela presença de lesões cariosas na idade pré-escolar com idade inferior a 6 anos de idade (Drury *et al.*, 1999; Kaste *et al.*, 1999).

Para Drury *et al.*, a identificação de lesão cariosa cavitada em crianças com idade inferior a 71 meses indica a presença de cárie precoce na infância ou susceptibilidade a ela. A presença de uma ou mais superfícies lisas, nos incisivos superiores, com cavitação, restauração ou, ainda, perda do elemento dentário é classificada como cárie precoce severa na infância, especialmente se o ceo-s for ≥ 4 dos 36 aos 47 meses de idade e ≥ 5 entre os 48 e 59 meses.

Essa doença já recebeu várias nomenclaturas, o termo “cárie de mamadeira” foi citado pela primeira vez por Fass em 1962. Por apresentar uma rápida progressão, Winter *et al* denominou-a de “cárie rampante”. Porém, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças, recomenda o uso do termo Cárie Precoce da Infância desde 1994.

Levando em consideração a etiologia multifatorial da doença, a importância dos fatores comportamentais, psicológicos e sócio-econômicos, faz-se necessário que os profissionais e o público em geral conheçam os reais fatores de risco associados à cárie em bebês e em crianças pré-escolares (Kaste *et al.*, 1995).

Segundo o estudo de Ribeiro *et al* de 2005 podem ser analisados os fatores comportamentais de risco à cárie, como dieta, higiene, uso de flúor, amamentação natural e artificial (Tabela 3), não foi verificada nenhuma significância estatística (p

> 0,05) quanto ao aparecimento da doença. No entanto, analisando-se a relação entre defeitos do esmalte e cárie, verifica-se que essa associação foi estatisticamente significativa ($p < 0,001$), conforme se observa na Tabela 2. Dentre as 179 (79,9%) crianças que apresentaram defeitos do esmalte, 88 (49,2%) desenvolveram cárie. Foi examinado um total de 224 crianças, e observou-se que 56,3% não apresentaram qualquer lesão cariosa, ao passo que 43,7% apresentaram cárie aos 48 meses. Das 98 crianças com cárie, 10,7% tinham cárie precoce na infância e 33 % cárie precoce severa, de acordo com os critérios de Drury *et al.* 4. A prevalência de cárie foi maior nos meninos (24,5%) do que nas meninas (18,5%), mas não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

As lesões de cárie se iniciam, principalmente, pela interação de 4 variáveis: (1) microorganismos cariogênicos (estreptococos mutans); (2) carboidratos fermentáveis (açúcares); e (3) dente (superfícies dentárias susceptíveis) que interagem durante um determinado período de (4) tempo (Loesche, 1993).

A CPI apresenta como conseqüências, um alto risco ao aparecimento de novas lesões de cárie tanto na dentição decídua quanto na permanente (Grindejord *et al.* 1995; Heller *et al.* 2000), necessidade de hospitalizações em casos emergenciais (Shuwartz, 1994; Sheller *et al.* 1997), tratamento de alto custo e longo período de tempo (Ramos-Gomez *et al.* 1996; Griffin *et al.* 2000), deficiência no desenvolvimento físico (especialmente em relação ao peso) (Acs *et al.* 1992; Ayhan *et al.* 1992), faltas escolares e restrição das atividades (Reisine, 1985; Hollister & Weintraub, 1993), diminuição da aprendizagem (Reisine, 1985; Peterson *et al.* 1999; National Center for Education in Maternal and Child

Health, 2001) e diminuição da qualidade de vida em relação à saúde bucal (Low *et al.*, 1999; Filstrup *et al.* 2001).

A prevenção da CPI deve ser iniciada no período pré-natal e durante a gravidez (Ismail,1998). A ingestão freqüente de líquidos que contém carboidratos fermentáveis (exemplos,sucos, leite, refrigerantes), e também, o uso freqüente de mamadeiras para a alimentação das crianças no período da noite, bem como seu uso por um longo período de tempo e repetidas vezes implicam no aparecimento da CPI (Loesche, 1993;Berkowitz, 1996). As mães devem ser avisadas sobre uma nutrição adequada durante o terceiro mês e o primeiro ano de vida, período no qual o esmalte está sofrendo maturação. Uma má nutrição pode estar associada a uma hipoplasia de esmalte (Seow, 1998) e clinicamente, há a associação entre a hipoplasia de esmalte e CPI (Seow *et al.* 1987; Horowitz, 1998). As bactérias cariogênicas (principalmente os estreptococos mutans) podem ser transmitidas para as crianças, principalmente através das mães ou cuidadores das crianças, e a presença dessas bactérias aumenta o risco ao desenvolvimento da CPI (Kohler *et al.* 1983; Acs *et al.* 1992; Caufield *et al.* 1993; Li *et al.*, 1995).

Devido à natureza agressiva da CPI, o tratamento deve ser realizado individualmente. Materiais restauradores convencionais não são suficientes para resolver a doença, sendo que materiais como ionomêros de vidro têm mostrado bons resultados em casos de prevenção ou tratamento, pois liberam flúor (Weinstein,1998). Em tratamentos mais agressivos é necessário utilizar coroas de aço inoxidável, dependendo de número de superfícies dentárias envolvidas (Randall *et al.*,2000; Eidelman *et al.*,2000). Além disso, os dentistas que diagnosticam a CPI devem intervir imediatamente, pois é necessário parar a

destruição dentária causada pela CPI, assim como ajudar nos demais problemas de saúde. Uma vez que crianças que apresentam CPI, apresentam maior risco de desenvolver cáries no futuro, por isso deve-se instituir um tratamento preventivo e uma terapia que inclua a Aplicação Tópica de Flúor (ATF) freqüente (AAPD, 2007).

Observando a Tabela 1 verifica-se que a maior atividade de cárie esta associada com a menor concentração inorgânica de íons no biofilme dental e a maior concentração de polissacarídeos extracelulares (PEC). E também mostra um desequilíbrio microbiológico do biofilme dental com um aumento de bactérias do grupo mutans. Assim, considerando a cárie como doença infecciosa , quando indicadas, medidas como controle químico e terapêutico do biofilme visando o restabelecimento do equilíbrio da microbiota deveria fazer parte de procedimentos clínicos (Cury, 2001).

Tabela 1. Composição da placa dental e cárie na dentição decídua

Análises	Padrão de Cárie*		
	Livre	Oclusal	"Mamadeira"
ceod	0	2,4a	5,6b
Flúor (µg/g)	58,2a	32,5b	6,2c
Fósforo (mg/g)	6,1a	4,0b	2,6b
Cálcio (mg/g)	10,6a	7,9a	3,3b
PEC (mg/g)	39,2a	47,4b	55,6b
Açúcar/dia	2,9a	3,9b	5,3c
S. mutans-log UFC/mg	8,6a	11,3b	14,3b

*Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente;

Fonte: Cury, 2001.

Tabela 2. Distribuição de frequência absoluta e relativa das crianças examinadas, correlacionando defeitos de esmalte e cárie.

Defeito em esmalte	Ausencia de Cárie		Cárie precoce na infância		Cárie precoce severa		Total		Valor de p
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Presente	91	72,2	19	79,2	69	93,2	179	79,9	0,001
Ausente	35	27,8	5	20,8	5	6,8	45	20,1	
Total	126	24	24	10,7	74	33,0	224	100,0	

Fonte: Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 21(6):1695-1700, nov-dez, 2005

Hipótese Ecológica do Biofilme

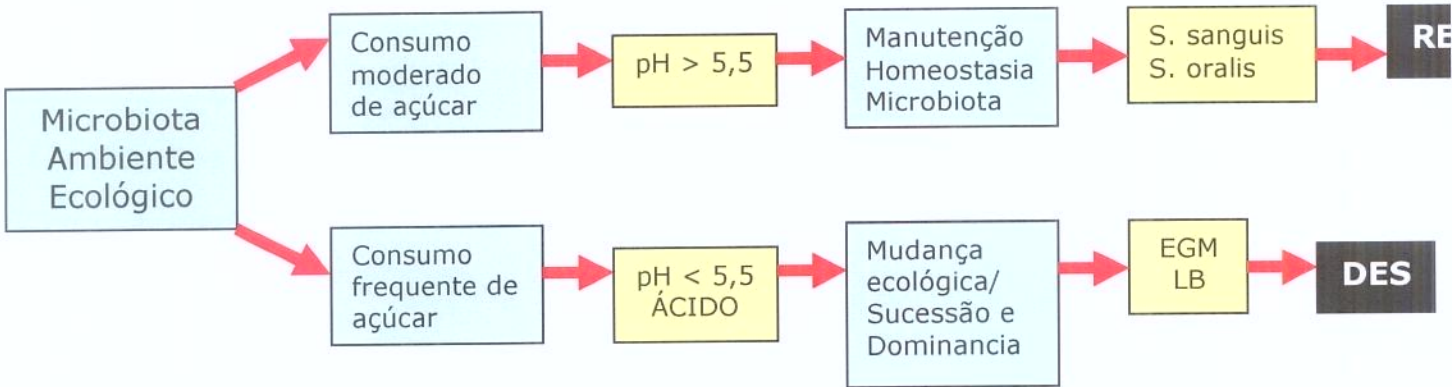


Tabela 3. Distribuição conjunta de frequência absoluta e relativa das crianças examinadas com relação aos fatores de risco da cárie

Fatores de risco	Ausência de cárie		Cárie precoce na infância		Cárie precoce severa		Total		Valor de p
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Amamentação natural									0,20*
Ausente	4	3,2	1	4,2	-	-	5	2,2	
≤ 12 meses	81	64,3	14	58,3	44	59,5	139	62,1	
13 ≤ 47	38	30,2	9	37,5	28	37,8	75	33,5	
Ainda mama	3	2,4			2	2,7	5	2,2	
Total	126	56,3	24	10,7	74	33,0	224	100,0	
Amamentação artificial									0,29*
Ausente	9	7,1	4	16,7	10	13,5	23	10,3	
≤ 12 meses	7	5,6	-	-	1	1,4	8	3,6	
13 ≤ 47	51	40,5	11	45,8	32	43,2	94	42,0	
Ainda usa	59	46,7	9	37,5	31	41,9	99	44,2	
Total	126	56,3	24	10,7	74	33,0	224	100,0	
Sacarose									0,48*
Presente	89	70,6	16	66,7	56	75,7	161	71,9	
Ausente	37	29,4	8	33,3	18	24,3	63	28,1	
Total	126	56,3	24	10,7	74	33,0	224	100,0	
Dieta									0,75*
Cariogênica	89	70,6	15	62,5	51	68,9	155	69,2	
Não cariogênica	37	39,4	9	37,5	23	31,1	69	30,8	
Total	126	56,3	24	10,7	74	33,0	224	100,0	
Escovação									0,06*
Presente	99	78,6	18	75,0	49	66,2	166	74,1	
Ausente	27	21,4	6	25,0	25	33,8	58	25,9	
Total	126	56,3	24	10,7	74	33,0	224	100,0	
Flúor									0,40*
Presnte	105	83,3	20	83,3	58	78,4	183	81,7	
Ausente	21	16,7	4	16,7	16	21,6	41	18,3	
Total	126	56,3	24	10,7	74	33,0	224	100,0	

*Não significativo

Fonte: Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 21(6):1695-1700, nov-dez, 2005

3.2. Composição Química dos Tecidos Duros Dentários

Tanto o esmalte quanto a dentina são compostos à base de apatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$, os quais são extremamente dinâmicos, quer seja quando do desenvolvimento dental como após a erupção. Assim, durante muito tempo o conceito que persistiu foi à estratégia de tentar melhorar a estrutura cristalina dos dentes para torná-los mais resistentes aos desafios do meio ambiente e, por conseguinte, à cárie dental. Durante a mineralização dos dentes, duas substâncias, flúor e carbonato, entram naturalmente na estrutura dental. O carbonato tem propriedades antagônicas ao do flúor, e participa da composição química dos dentes formando a apatita carbonatada. Esta, sendo mais solúvel que a hidroxiapatita (HA) ou AF explicaria por que a cárie se desenvolve mais rapidamente na dentina do que no esmalte, devido à dissolução desses minerais mais solúveis. Deste modo, menor concentração de carbonato deveria ser desejável, e isto tem sido observado quando da mineralização do esmalte na presença de flúor. Ainda em relação à composição química dos dentes e particularmente do esmalte, deve ser enfatizado que este, embora sendo extremamente duro, é um sólido poroso. Essa porosidade é devida à água e proteínas do esmalte, permitindo que essa estrutura calcificada seja permeável e troque matéria com o meio ambiente (Cury, 2001).

3.3. Composição da Saliva

3.3.1. Componentes inorgânicos

- Íon hidrogênio: a concentração de íon hidrogênio influencia na maioria das reações químicas que ocorrem na cavidade oral ,

notadamente o equilíbrio entre o cálcio e o fosfato dos tecidos duros dentários e a fase líquida que os cerca. A solubilidade e atividade das macromoléculas salivares, tais como importantes enzimas, são também fortemente influenciadas pela concentração hidrogeniônica, que é mais frequentemente expressada em unidades de pH.

- Cálcio: é um íon bivalente secretado por transporte ativo e, junto com as proteínas, secretado no lúmen do ácino. Sua concentração é influenciada pelo fluxo salivar. O cálcio salivar é distribuído como cálcio iônico e cálcio ligado, dependendo do pH da saliva. O cálcio livre ionizado é especialmente importante para os eventos que ocorrem no desafio cariogênico, pois essa é a fração do cálcio que participa do equilíbrio entre os fosfatos de cálcio do tecido dentário duro e seu líquido adjacente. O cálcio não-ionizado é mais ou menos firmemente ligado a íons inorgânicos, tais como o fosfato e o bicarbonato (10-20% da concentração de cálcio total dependem do pH e do fluxo salivar), e a poucos íons orgânicos (< 10%) e ainda a muitas macromoléculas (10-30%). Algumas dessas macromoléculas como a estaterina, histidina e proteínas ricas em prolina, se ligam ao cálcio em alto grau e inibem a precipitação de fosfato de cálcio.
- Fosfato inorgânico: o ortofosfato inorgânico que é encontrado na saliva consiste de ácido fosfórico ($H_3 PO_4$) e íons fosfato

inorgânicos primário (H_2PO_4^-), secundário (HPO_4^{2-}), e terciário (PO_4^{3-}). As concentrações desses íons dependem do pH da saliva. Quanto menor o pH, menor a concentração do íon terciário, implicando que o produto iônico com relação a hidroxiapatita diminui consideravelmente com a diminuição do pH, um fenômeno que é a principal causa da desmineralização do dente.

- Flúor: este está presente na saliva em concentrações que dependem do flúor ambiental, especialmente na água potável, além dos dentífricos fluoretados, enxaguatórios e outros produtos utilizados na prevenção da cárie dentária. Na saliva e mais especialmente, nos revestimentos ocorrerá formação de fluoreto de cálcio, que funcionará como um lento liberador de flúor.

3.3.2. Componentes orgânicos

- Mucinas e outras glicoproteínas: as mucinas são efetivas na lubrificação e manutenção da superfície da mucosa úmida, e também, apreendem algumas bactérias, protegem a mucosa de infecções e podem mediar a adesão de bactérias específicas a superfície dos dentes.
- Estaterina e proteínas ácidas ricas em prolina: elas inibem a precipitação espontânea de sais de fosfato de cálcio nas glândulas salivares e suas secreções.
- Amilase: a mais abundante enzima salivar é responsável pela

divisão do amido em maltose, maltotriose e dextrinas. A amilase da saliva elimina da boca resíduos alimentares que contenham amido, entretanto são formados ácidos neste processo. Dessa forma, o amido tem algum potencial cariogênico.

- Outras proteínas antimicrobianas: elas podem inibir o metabolismo, a aderência ou até mesmo a viabilidade de microrganismos cariogênicos, como a lisozima, lactoferrina, peroxidase salivar, cistatinas entre outras.

(Ferjerskov & Kidd, 2005)

3.4. Físico-Química do Esmalte-Dentina-Saliva

Quando um dente erupciona, ou quando há exposição radicular, as estruturas minerais do esmalte e/ou dentina ficam sujeitas às variações do meio ambiente bucal. A saliva por apresentar cálcio e fosfato - os principais minerais componentes da estrutura cristalina dos dentes, protegem naturalmente tanto o esmalte quanto a dentina. Por outro lado, essa propriedade biológica da saliva é dependente do pH. Assim, variações de pH devido a produtos da dieta ou da conversão de açúcar em ácido pela placa dental determinarão o limite da capacidade da saliva de proteger os dentes. Neste aspecto, a dentina é muito mais sensível às variações de pH que o esmalte, considerando sua composição e pelo fato de que ela naturalmente deveria estar em contato com o fluido tecidual e não com a saliva.

Assim, o conceito de pH crítico tem sido estabelecido em Odontologia para definir quando a saliva não tem capacidade de proteger a estrutura mineral dos

dentes. Por outro lado, considerando-se que nos dias atuais as pessoas estão expostas ao flúor, seja pela ingestão de água e/ou pelo uso de dentífricos fluoretados, a presença constante de flúor na saliva muda suas propriedades físico-químicas com relação ao chamado pH crítico do dente. Assim, enquanto a saliva consegue proteger o esmalte até que o pH não seja inferior a 5,5, a dentina é mais sensível e não resiste a um pH inferior a 6,5.

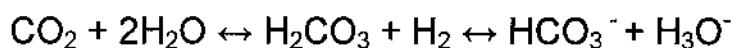
Porém, o pH crítico não é o mesmo quando da presença de flúor. Assim, quando água fluoretada é ingerida continuamente ou dentífrico fluoretado é usado regularmente, só será crítico para o esmalte em pH inferior a 4,5. Deste modo, há uma "faixa de segurança" entre pH 4,5 e 5,5, na qual o flúor exerce um dos seus efeitos de controlar o desenvolvimento de cárie dental. Na sua ausência, e quando de um pH menor que 5,5, porém maior que 4,5, haverá dissolução de minerais do esmalte. Embora na presença de flúor a dissolução de minerais tipo HA ou AF não seja evitada, uma certa quantidade de cálcio e fosfato é simultaneamente repostada para o esmalte na forma de FA. Assim, o resultado da simples presença de flúor no meio ambiente bucal será uma redução de perda de minerais, interferindo diretamente com a desmineralização do esmalte.

Quando o pH está acima de 5,5 ou 6,5, respectivamente com relação ao esmalte ou à dentina, a saliva tenta repor minerais perdidos pelos dentes. Essa capacidade remineralizante da saliva é melhorada pelo aumento do fluxo salivar e é ativada pela presença de flúor (Cury, 2001).

3.5. Capacidade Tampão da Saliva

Toda saliva é a mistura de secreções vindas das glândulas parótidas, submandibular, sublingual e glândulas salivares menores. A saliva é constituída de componentes inorgânicos e várias proteínas que interferem nas condições da cavidade oral e as superfícies dentárias. Ela apresenta vários mecanismos de defesa, incluindo leucócitos, imunoglobulinas, como IgA, proteínas aglutinantes e um grande número de enzimas. A secreção de saliva é regulada pelo sistema nervoso autônomo (Asking & Gjörstrup, 1980; Helm *et al.*, 1982; Olsen *et al.*, 1988; Calvert *et al.*, 1998) e pelo ritmo circadiano (Dawes, 1972, 1975; Parkkila *et al.*, 1995; Kivelä *et al.*, 1997b).

A capacidade tampão da saliva é um fator muito importante para a manutenção da homeostasia oral. O mais importante sistema tampão na saliva é o sistema ácido carbônico / bicarbonato (Leung, 1951, 1961; Lilienthal, 1955; Izutsu & Madden, 1978; Helm *et al.*, 1982). A concentração de íon bicarbonato depende fortemente do fluxo salivar. A termodinâmica do sistema é complicada pelo fato de envolver o gás carbônico dissolvido na saliva. O valor da pressão parcial de dióxido de carbono (PCO_2) quase independe do fluxo salivar e, assim, dióxido de carbono estará presente na forma de bicarbonato na saliva estimulada. O dióxido de carbono está presente como um gás dissolvido, e apenas uma fração muito pequena dele está combinada com proteínas. O equilíbrio completo simplificado (onde a enzima anidrase carbônica, que está presente na saliva, catalisa a reação, formando dióxido de carbono do ácido carbônico e vice-versa) pode ser escrito da seguinte forma:



(Ferjerskov & Kidd, 2005).

3.6. Enzima Anidrase Carbonica

A existência da atividade da enzima anidrase carbônica (AC) em saliva humana é conhecida já faz 60 anos (Becks & Wainwright, 1939). A isoenzima anidrase carbônica foi descrita pela primeira vez em saliva de ovelha em 1979 por Fernley *et al.* A enzima foi purificada do rato (Feldtein & Silverman, 1984) e da saliva humana (Murakami & Sly em 1987). Em 1991, Aldred *et al* caracterizou a seqüência de cDNA da AC VI. A próxima pesquisa que foi realizada sobre a AC foi feita por Parkkila *et al* em 1993 e um pouco mais tarde por Fernley *et al* em 1995, sobre uma apurada quantificação das matrizes biológicas da AC na saliva, através de imunofluorescência e radioimunofluorescência, sua estrutura pode ser vista na Figura 1. Em humanos, estudos imunohistoquímicos demonstraram que a AC VI é secretada exclusivamente pelas células acinares das glândulas parótida e submandibular (Parkkila *et al.*, 1990, 1994). Porém, a AC VI também é secretada pelas glândulas lacrimais, mamárias, nasais e bronconasais (Ogawa *et al.*, 1995,2002; Kimoto *et al.*, 2004; Karhuhmaa *et al.*, 2001; Leinonen *et al.*, 2004)

A enzima anidrase carbônica participa da manutenção do equilíbrio do pH em vários tecidos e fluidos biológicos do corpo humano através da catalisação da reação reversível $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ (Davenport & Fisher, 1938; Davenport, 1939; Maren, 1967). Atualmente, 12 isoenzimas foram identificadas em mamíferos, das quais duas, AC II e AC VI, são muito expressivas nas glândulas salivares (Parkkila *et al*, 1990). A AC II é uma enzima citoplasmática com alta

atividade isoenzimática que está presente em vários epitélios de todo trato alimentar , e provavelmente catalisa a produção do bicarbonato salivar (Lonnerholm *et al.*, 1985; Parkkila *et al.*, 1994).

No período circadiano, durante o sono, a concentração das enzimas AC VI cai pra um valor muito baixo, e retorna rapidamente ao normal somente depois do café da manhã ou da primeira refeição (Parkkila *et al.*, 1995; Kivelä *et al.*,1997 b). Então, para obter um estudo com resultados comparativos, as amostras devem ser estritamente padronizadas (Kivelä *et al.*, 1997). Este período circadiano é muito semelhante ao da amilase salivar e mostra uma significativa relação entre os níveis de atividade salivar e a concentração de AC VI (Parkkila *et al.*, 1995; Kivelä *et al.*, 1997 b). Essas descobertas sugerem que as duas enzimas (amilase salivar e anidrase carbônica AC VI) são secretadas pela mesma via e, possivelmente, seriam secretadas pelos mesmos grânulos.

A AC VI foi encontrada se transferindo para a circulação sanguínea em humanos (Kivelä *et al* 1997 b). Isso significa que as concentrações de AC VI pode ser mensurada pela imunofluorescência. Nesse teste, a AC VI mostrou grande variação em soro, porém no período circadiano, houve uma grande diminuição de sua concentração na saliva. O Western blotting da AC VI indicou uma associação com a IgG em soro, a qual faria a proteção da enzima AC VI da degradação proteolítica.

De acordo com pesquisas recentes, a AC VI parece ser uma das enzimas – chave na fisiologia oral. Além de participar da manutenção do equilíbrio do pH na cavidade oral ou capacidade tampão da saliva, ela colabora na identificação do gosto dos alimentos, função que foi comprovada por Thatcher *et al.* (1998).

Além disso, indicam que a AC VI se adere à película de esmalte e mantém sua atividade enzimática na superfície dental Fig.2(Leinonen *et al.*, 1999). Na película do esmalte, a AC VI está localizada no sítio que catalisa a conversão do bicarbonato salivar e íons de hidrogênio em dióxido de carbono e água Figura 1.

Já Kivelä *et al.* em 1998 descobriu que não há relação entre a concentração da AC VI salivar e contagem de Lactobacilos ou Estreptococos mutans. Porém, os resultados indicaram que baixas concentrações de AC VI está associada com a alta prevalência de cárie, principalmente em indivíduos com pobre higiene oral. E, também neste estudo de Kivelä, descobriu-se que não houve relação entre os níveis de atividade da amilase salivar e índice CPOD, sugerindo que a AC VI tem um papel específico no sistema de defesa natural contra a cárie.

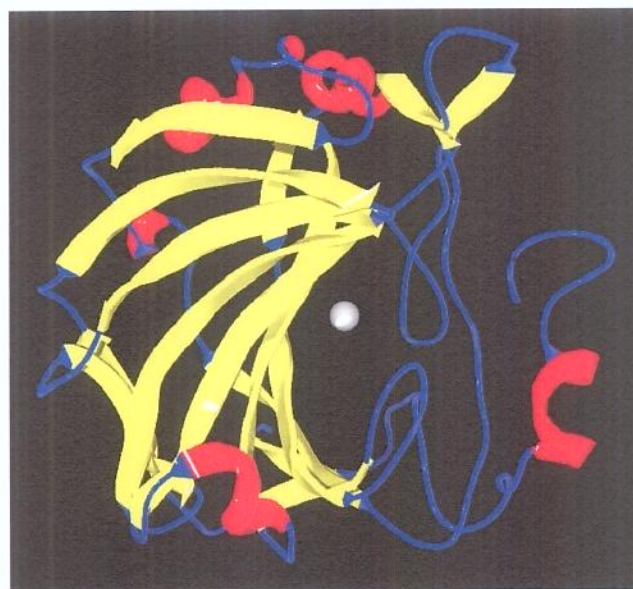


Figura 1. Estrutura da enzima anidrase carbônica

Fonte: Wikipédia

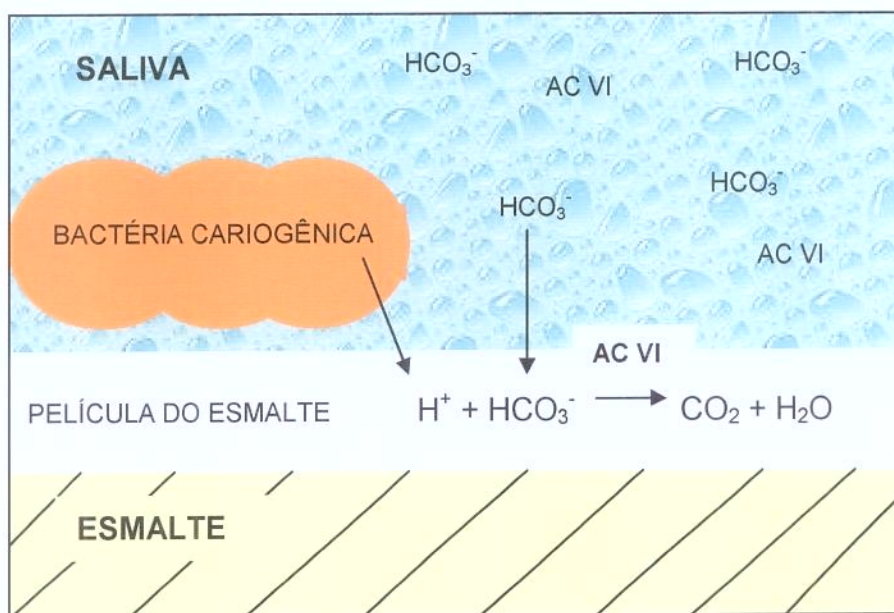


Figura 2. Modelo de ilustração que sugere a função da AC VI na superfície dental.
(Modificado de Leinonen *et al.*, 1999).

4. Discussão

Esta revisão ressalta a importância de se saber sobre a cárie precoce na infância, sua etiologia, tratamento, bem como sua relação com o papel da saliva, em especial da anidrase carbônica presente na mesma. Além disso, salientar também que crianças que apresentam CPI possuem maior risco ao desenvolvimento de cárie futura, sendo a experiência passada dessa doença considerada um dos preditores de risco mais significativos (Sclavos *et al.*, 1988; Hausen, 1997; Zhan *et al.*, 2006). Diante disso, e do que diz Morita *et al.*, 1993, Mattos-Granner *et al.*, 1996, Bönecker *et al.*, 2002 e Rosenblatt & Zarzar, 2004 sobre a prevalência da CPI no Brasil ser alta e varia de 24,2 a 43,4 %, os estudos sobre a saliva, sua composição, mecanismos de ação, capacidade tampão são importantes já que, a saliva controla o pH da placa dental após a exposição a carboidratos fermentáveis.

Especialmente a enzima anidrase carbônica que está presente na saliva, por ser responsável por catalisar a reação ácido carbônico / bicarbonato (Ferjerskov & Kidd, 2005), promove a neutralização dos ácidos (Kimoto *et al.*, 2006). Neste sentido, a relação entre a AC VI e a cárie tem mostrado uma relação negativa, altas concentrações de AC VI está relacionada com uma baixa prevalência de cárie (Kivelä *et al.*, 1999). Assim, a anidrase carbônica salivar seria um fator a mais na saliva que ajudaria na prevenção da cárie.

Além disso, algumas pesquisas estão demonstrando sua colaboração na identificação do gosto de alguns alimentos (Thatcher *et al.*, 1998), além de ser adsorvida na superfície dental e manter a atividade enzimática (Leinonen *et al.*, 1999).

5. Conclusão

Enfim, através dessa revisão sobre a cárie precoce da infância e anidrase carbônica salivar é possível verificar a importante relação entre ambas já que, a anidrase carbônica participa do mecanismo de tamponamento da saliva, aumentando-o, e assim, ter um efeito protetor contra a cárie dental.

Os estudos citados e pesquisas recentes sobre a anidrase carbônica sugerem que a AC VI salivar é uma das enzimas chave para manter a homeostasia nas superfícies da cavidade oral, podendo ainda até ser considerada uma proteína anti-cárie presente na saliva.

6. Referências Bibliográficas

- ACS G., LODOLINI G., KAMINSKY S., CISNEROS G.J. *Effect of nursing caries on body weight in a pediatric population.* **Pediatr dent** 1992; 14: 302-305.
- AYHAN H., SUSKAN E., YILDRIM S. *The effecty of nursing or rampant caries on height, body weight, and head circumference.* **J Clin Pediatr Dent** 1996; 20: 209-212.
- ALDRED P., FU P., BARRETT G., PENSCHOW J.D., WRIGHT R.D., COLGHLAN J.P.D. & FERNLEY R.T. *Human secreted carbonic anhydrase: cDNA cloning, nucleotide sequence, and hybridization histochemistry.* **Biochemistry** 1991; 30: 569-575.
- American Academy of Pediatric Dentistry (AAPD). *Policy on Early Childhood Caries (ECC): Unique Challenges and Treatment Options.* **Pediatr Dent** 2007; 28 (suppl):38.
- ASHLEY , F.P. *Calcium and phosphorus concentration of dental plaque related to denta caries in 11-to 14-years-old male subjects.* **Caries Res** 1975; 9: 351-362.
- ASHLEY, F.P. & WILSON, R.F. *Dental plaque and caries: A 3-year longitudinal study in children.* **Br Dent J** 1977b; 142:85-91.
- ASKING B. & GJÖRSTRUP P. *Amylase secretion in response to activation of different autonomic receptors in the rabbit parotid gland.* **Acta Physiologica Scandinavica** 1980; 109: 407-413.
- BECKS H. & WAINWRIGHT W.W. *Human saliva.* **Journal of Dental Research** 1939; 18: 447-456.
- BERKOWITZ R.J. *Etiology of nursing caries: A microbiologic perspective.* **J Public Health Dent** 1996;56:51-54.
- BEZERRA, A.C.B. & TOLEDO, O.A. **Nutrição dieta e cárie.** In: Krieger,L; editores. *Promoção de Saúde Bucal-ABOPREV*, 3. ed, Artes Medicas: São Paulo; 2003. p. 43-69.
- BÖNECKER M., MARCENES W., SHEIHAM. *Caries reductions between 1995, 1997 and 1999 in preschool children in Diadema, Brazil.* **Int J Paediatr Dent**, v. 12, n. 3, p. 183- 188, 2002.
- CALVERT P.A., HECK P.M. & EDWARDS A.V. *Autonomic control of mandibular protein secretion in the anaesthetized calf.* **Experimental Physiology** 1998; 83:545-556.

CAUFIELD P.W., CUTTER G.R., DASANAYAKE A.P. *Initial acquisition of mutans streptococci by infants: Evidence for a discrete window of infectivity.* **J Dent Res** 1993; 72:37-45.

CCAHUANA-VASQUEZ R.A., TABCHOURY C.P.; TENUTA L.M., et al. *Effect of frequency of sucrose exposure on dental biofilm composition and enamel demineralization in the presence of fluoride.* **Caries Res.** 2007; 41(1):9-15.

CURY, J.A. **Uso de Flúor e Controle da Cárie como Doença.** In: Baratieri, L. N. et al *Odontologia Restauradora - Fundamentos e Possibilidades.* 1ª ed.São Paulo: Santos, 2001.p.33-39.

DAVENPORT H.W. *Gastric carbonic anhydrase.* **The Journal of Physiology** 1939; 97: 32-43.

DAVENPORT H.W. & FISHER R.B. *Carbonic anhydrase in the gastrointestinal mucosa.* **The Journal of Physiology** 1938; 94: 16-17P.

DAVIES, G.N. *Early childhood caries-a synopsis.* **Community Dent Oral Epidemiol** 1998; p. 106-116.

DAWES C. *Circadian rhythms in human salivary flow rate and composition.* **The Journal of Physiology** 1972; 220:529-545.

DAWES C. *Circadian rhythms in the flow rate and composition of unstimulated and stimulated human submandibular saliva.* **The Journal of Physiology** 1975; 244:535-548.

DRURY T.F., HOROWITZ A.M., ISMAIL A.I., MSERTENS M.P., ROZIER R.G., SELWITZ R.H. *Diagnosing and reporting early childhood caries for research purposes.* **J Public Health Dent** 1999; 59:192-7.

EIDELMAN E., FAIBIS S., PERETZ B. *A comparison of restorations for children with early childhood caries treated under general anesthesia or conscious sedation.* **Pediatr Dent** 2000; 22: 33-37.

FASS E. *Is bottle feeding of milk a factor in dental caries?* **J Dent Child** 1962; 29:245-251.

FELDSTEIN J.B. & SILVERMAN D.N. *Purification and characterization of carbonic anhydrase from the saliva of the rat.* **J Biol Chem** 1984; 259: 5447-5453. Bibliographic Links.

FERJERSKOV & KIDD. **Cárie Dentária – A doença e seu Tratamento Clínico.** São Paulo: Santos; Cap.3,6 ;2005.

FERNLEY R.T., WRIGHT R.D. & COGHLAN J.P. *A novel carbonic anhydrase from the ovine parotid gland.* **FEBS Lett** 1979; 105: 299-302. **Bibliographic Links.**

FERNLEY R.T., FARTHING J. & COOPER E.J. *Radioimmunoassay for salivary carbonic anhydrase in human parotid saliva.* **Archives of Oral Biology** 1995; 40: 567-569.

FILSTRUP S.L., INGLEHART M.R., BRISKIE D., DA FONSECA M., LAWRENCE L., WANDERA A. *The effects on early childhood caries (ECC) and restorative treatment of children's oral health-related quality of life (OHRQOL)-The parents' / guardians' and the child's perspective [master's thesis].* Ann Arbor, Mich: The University of Michigan; 2001.

GRIFFIN S.O., GOOCH B.F., BELTRAN E., SUTHERLAND J.N., BARSLEY R. *Dental services, costs, and factors associated with hospitalization for Medicaid-eligible children, Louisiana 1996-97.* **J Pub Health Dent** 2000;60:21-27.

GROBLER S.R., REDDY J., VAN WIK C.W. *Calcium, phosphorus, fluoride and pH levels of human dental plaque from areas of varying fluoride levels.* **J Dent Res** 1982; 61: 986-988.

HARRIS R., NICOLL A.D., ADAIR P.M., PINE C.M. *Risk factors for dental caries in young children: a systematic review of the literature.* **Community Dental Health** 2004; 21: 71-85.

HAUSEN, H. *Caries prediction: state of the art.* **Community Dental Oral Epidemiol**, v.21, p.71-85,2004.

HELLER K.E., EKLUND S.A., PITTMAN J., ISMAIL A.I. *Associations between dental treatment in the primary and permanent dentitions using insurance claims data.* **Pediatr Dent** 2000;22:469-474.

HELM J.F., DODDS W.J., HOGAN W.J., SOERGEL K.H., EGIDED M.S. & WOOD C.M. *Acid neutraling capacity of human saliva.* **Gastroenterology** 1982; 83:69-74.

HOLLISTER M.C., WEINTRAUB J.A. *The association of oral status with systemic health, quality of life, and economic productivity.* **J Dent Educ** 1993;57:901-912.

HOROWITZ, HS. *Research issues in early childhood caries.* **Community Dental Oral Epidemiol** 1998; 26 (1 Suppl):67-81.

ISMAIL, A.I. *Prevention of early childhood caries.* **Comm Dent Oral Epidemiol** 1998; 26 (suppl) :49-61.

IZUTSU K.T. & MADDEN P.R. *Evidence for the presence of carbamino compounds in human saliva.* **Journal of Dental Research** 1978;57:319-325.

KARHUMAA P., LEINONEN J., PARKKILA S., KAUNISTO K., TAPANAINEN J., RAJANIEMI H. *The identification of secreted carbonic anhydrase VI as a constitutive glycoprotein of human and rat milk.* **Proc Natl Acad Sci USA** 2001; 98: 11604-11608.

KASTE L.M., DRURY T.F., HOROWITZ A.M., BELTRAN E. *An evaluation of NAHNES III estimates of early childhood caries.* **L Public Health Dent**, v.59, p.198-200, 1999.

KASTE L.M., GIFT H.C. *Inappropriate infant bottle feeding. Status of the healthy people 2000 objective.* **Arch Pediatr Adolesc Med** 1995; 149:786-91.

KHAN M.N., CLEATON-JONES P.E. *Dental caries in African preschool children: social factors as disease markers.* **J Public Health Dent** 1998; 58:7-11.

KIMOTO M., KISHINO M., YURA Y., OGAWA Y. (2006). *A role of salivary carbonic anhydrase VI in dental plaque.* **Arch Oral Biol** 51: 117-122.

KIMOTO M., IWAI S., MAEDA T., YURA Y., FERNLEY R.T., OGAWA Y. *Carbonic anhydrase isoenzyme VI in the mouse nasal gland.* **J Histochem Cytochem** 2004; 52:1057-1062.

KIVELÄ J., PARKKILA S., WAHEED A., PARKKILA A.K., SLY W.S. & RAJANIEMI H. *Secretory carbonic anhydrase isoenzyme (CA VI) in human serum.* **Clinical Chemistry** 1997b; 43:2318-2322.

KIVELÄ J., PARKKILA S., METTERI J., PARKKILA A.K., TOIVANEN A., RAJANIEMI H. *Salivary carbonic anhydrase VI concentration and its relation to basic characteristics of saliva in young men.* **Acta Physiologica Scandinavica** 1997a; 161: 221-225.

KOHLER B., BRATTHAL D., KRASSE B. *Preventive measures in mothers influence the establishment of the bacterium of Streptococcus mutans in their infants.* **Arch Oral Biol** 1983; 28:225-231.

LEINONEN J., KIVELÄ J., PARKKILA S., PARKKILA A.K., RAJANIEMI H. *Salivary carbonic anhydrase isoenzyme VI is located in the human enamel pellicle.* **Caries Res** 1999; 33: 185-190.

LEINONEN J.S., SAARI K.A., MYLLYLÄ H.M., RAJANIEMI H. *Immunohistochemical demonstration of carbonic anhydrase VI (CA VI)*

expression in rat lower airways and lung. J Histochem Cytochem 2004; 52: 1107-1112.

LEUNG S.W. *A demonstration of the importance of bicarbonate as a salivary buffer. Journal of Dental Research* 1951; 30:403-414.

LEUNG S.W. *The apparent first dissociation constant (pK1) of carbonic acid in saliva. Archives of Oral Biology* 1961; 5: 236-240.

LI Y., CAUFIELD P.W. *The fidelity of initial acquisitions of mutans streptococci by infants from their mothers. J Dent Res* 1995 74: 681-685.

LILIENTHAL B. *An analysis of the buffer systems in saliva. Journal of Dental Research* 1955; 34:516-530.

LOESCHE W.J. *Role of Streptococcus mutans in human dental decay. Microbiol Rev.* v.50,p. 353-380.

LOESCHE W.J. *Dental caries: A treatable infection.* Grand Haven, Mich: Automated Diagnostic Documentation, Inc; 1993.

LONNERHOLM G., SELKING O. & WISTRAND P.J. *Amount and distribution of carbonic anhydrases CA I and CA II in the gastrointestinal tract. Gastroenterology* 1985; 88: 1151-1161.

LOW W., TAN S., SCHWARTZ S. *The effect of sever caries on the quality of life in young children. Pediatr Dent* 1999;21:325-326.

MAREN T.H. *Carbonic anhydrase: chemistry, physiology and inhibition. Physiological Reviews* 1967; 47:595-781.

MATTOS-GRANNER R.O., RONTANI RMP., GAVIÃO M.B.D., BOCATTO H.C.A.R. *Caries prevalence in 6-36-month-old Brazilian children. Community Dent Health*, v. 13, p. 96- 98, 1996.

MILNES A.R. *Description and epidemiology of nursing caries. J Public Health Dent* 1996; 56:38-50.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Projeto SB Brasil 2003-Condições de Saúde bucal da população brasileira 2002-2003. Disponível em:http://www.cfo.org.br/download/relatório_SB_brasil_2003.pdf.

MORITA M.C., WALTER L.R.F., GUILLAIN M. *Prevalence de la carie dentaire chez des enfants bresiliens de 0 a 36 mois. Journal d' Odonto-Stomatologie Pediatrique*, v. 3, p. 19- 28, 1993.

MURAKAMI H. & SLY W.S. *Purification and characterization of human salivary carbonic anhydrase*. **J Biol Chem** 1987; 262: 1382-1388 National Center for Education in Maternal and Child Health. Oral health and learning. Bethesda, Md. National Center for Education in Maternal and Child Health and Georgetown University; 2001.

NOBRE DOS SANTOS M., SANTOS L.M., FRANCISCO S.B., CURY JA. *Relationship among dental plaque composition, daily sugar exposure and caries in the primary dentition*. **Caries Res**, v.36,p. 347-352, 2002.

OGAWA Y., MATSUMOTO K., MAEDA T., TAMAI R., SUZUKI T., SASANO H., et al. *Characterization of lacrimal gland carbonic anhydrase VI*. **J Histochem Cytochem** 2002; 510: 821-827.

OGAWA Y., TOYOSAWA S., INAGAKI T., HONG S.S., IJUHIN N. *Carbonic anhydrase isoenzyme VI in rat lacrimal gland*. **Histochem Cell Biol** 1995; 103: 387-394.

OLSEN P.S., KIRKEGAARD P., RASMUSSEN T., MAGID E., POULSEN S.S. & NEXO E. *Adrenergic effects on secretion of amylase from the rat salivary glands*. **Digestion** 1988; 41: 34-38.

PARKKILA S., KAUNISTO K., RAJANIEMI L., KUMPULAINEN T., JOKINEN K. & RAJANIEMI H. *Immunohistochemical localization of carbonic anhydrase isoenzymes VI, II and I in human parotid and submandibular glands*. **J Histochem Cytochem** 1990; 38: 941-947. Bibliographic links.

PARKKILA S., PARKKILA A.K. & RAJANIEMI H. *Circadian periodicity in salivary carbonic anhydrase VI concentration*. **Acta Physiologica Scandinavica** 1995; 154:205-211.

PARKKILA S., PARKKILA A.K., VIERJOKI T., STÄHLBERG T. & RAJANIEMI H. *Competitive time-resolved immunofluorometric assay for quantifying carbonic anhydrase VI in saliva*. **Clinical Chemistry** 1993; 39:2154-2157.

PARKKILA S., PARKKILA A.K., JUVONEN T. & RAJANIEMI H. *Distribution of the carbonic anhydrase isoenzymes VI, II and I in human alimentary tract*. **Gut** 1994; 35: 646-650.

PEARCE E.I.F. *Plaque minerals and dental caries*. **N Z Dent J** 1998; 94: 12-15.

PETERSON J., NIESSEN L., NANA LOPEZ G. *Texas public school nurses' assessment of children's oral health status*. **J Sch Health** 1999; 69:69-72.

RAMOS-GOMEZ F.J., HUANG G.F., MASOUREDIS C.M., BRAHAM R.L. *Prevalence and treatment costs of infant caries in Northern California*. **J Dent Child** 1996; 63:108-112.

RANDALL R.C., VRIJHOEF M.M.A., WILSON N.H.F. *Efficacy of preformed metal crowns vs amalgam restorations in primary molars: A systematic review.* **J Am Dent Assoc** 2000; 131: 337-343.

REISINE S.T. *Dental health and public policy: The social impact of disease.* **Am J Public Health** 1985;75:27-30.

RIBEIRO A.G., OLIVEIRA A.F., ROSENBLATT A. *Cárie precoce na infância: prevalência e fatores de risco em pré escolares, aos 48 meses, na cidade de João Pessoa, Paraíba, Brasil.* **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 21 (6): 1695-1700, nov-dez, 2005.

ROSENBLATT A., ZARZAR P. *Breast-feeding and early childhood caries: an assessment among Brazilian infants.* **Int J Paediatric Dent**, v. 14, p. 439-445, 2004.

SCHAMSCHULA R.G., BUNZEL M., AGUS H.M., ADRINKS B.L., BARMES D.E., CHARLTON G. *Plaque minerals and caries experience: Associations and interrelationships.* **J Dent Res** 1978; 57: 427-432.

SCLAVOS S., PORTER S., SEOW W.K. *Future caries development in children with nursing bottle caries.* **J Pedod**, v.13,n.1, p.1-10, 1988.

SELWITZ R.H., ISMAIL A.I., PITTS N.B. *Dental Caries.* **Lancet**, v. 6, n.369(9555), p.51-59, 2007.

SEOW W.K. *Biological mechanisms of early childhood caries.* **Comm Dent Oral Epidemiol** 1998; 26 (suppl) :8-27.

SEOW W.K, HUMPHRYS D., TUDEHOPE D.I. *Increased prevalence of developmental dental defects in low-birthweight children: A controlled study.* **Pediatr Dent** 1987; 9: 227-225.

SHAW L., MURRAY J.J., BURCHELL C.K., BEST J.S. *Calcium and phosphorus content of plaque and saliva in relation to dental caries.* **Caries Res** 1993; 17: 543-548.

SHELLER B., WILLIAMS B.J., LOMBARDI S.M. *Diagnosis and treatment of dental caries-related emergencies in a children's hospital.* **Pediatr Dent** 1997;19:470-475.

SZABÓ I: *Carbonic anhydrase activity in the saliva of children and its relation to caries activity.* **Caries Res** 1974; 8: 187-191.

TENUTA L.M., RICOMINI FILHO A.P., DEL BEL CURY A.A., et al. *Effect of sucrose on the selection of mutans streptococci and lactobacilli in dental biofilm formed in situ.* **Caries Res.** 2006; 40(6): 546-549.

THATCHER B.J., DOHERTY A.E., ORVISKY E., MARTIN B.M. & HENKIN R.I. *Gustin from human parotid saliva is carbonic anhydrase VI.* **Biochemical and Biophysical Research Communications** 1998; 250: 635-641.

WINTER G.C., HAMILTON M.C., JAMES P.M.C. *Role of the comforter as an aetiological factor in rampant caries of the deciduous dentition.* **Arch Dis Child** 1966;417:207-212.

Zhan L.F., Gansky S.A., et al. (2006) *Antibacterial treatment needed for severe early childhood caries.* **J Public Health Dent.** 66 (3): 174-179.

