



**Universidade Estadual de Campinas  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**



**“EFEITO DO TAMPONAMENTO DA HISTIDINA NA REATIVIDADE DE  
DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FLUORETO COM O ESMALTE DENTAL.”**

Gustavo Breda Gordo

Piracicaba – SP

2013

Gustavo Breda Gordo

**“EFEITO DO TAMPONAMENTO DA HISTIDINA NA REATIVIDADE DE  
DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FLUORETO COM O ESMALTE DENTAL.”**

Orientadora: Profa. Dra. Cíntia Pereira Machado Tabchoury

Piracicaba – SP

2013

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

G652e Gordo, Gustavo Breda, 1990-  
Efeito do tamponamento da histidina na reatividade  
de diferentes concentrações de fluoreto com o esmalte  
dental / Gustavo Breda Gordo. -- Piracicaba, SP: [s.n.],  
2013.

Orientador: Cíntia Pereira Machado  
Tabchoury.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) –  
Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba.

1. Cariologia. 2. Remineralização dentária. 3.  
Concentração de íons de hidrogênio. I. Tabchoury,  
Cíntia Pereira Machado, 1969- II. Universidade  
Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de  
Piracicaba. III. Título.

## **Agradecimentos**

A minha mãe Maria Silvia, por cuidar de mim em todos os momentos, até mesmo naqueles em que eu estava completamente errado, por me mostrar o caminho certo a vida, a respeitar os outros e me incentivar na busca dos meus sonhos.

Ao meu pai José Paulo, que sempre me apoiou nos momentos de dificuldade, por me abraçar no período mais crítico da minha vida, que foi o ingresso na vida universitária e por me mostrar como é ter caráter e responsabilidade.

A Bruna Angeleli, por ser minha grande companheira nessa longa caminhada de 4 anos, me ajudando nos momentos de dificuldade, me salvando nos momentos de desespero, limpando minhas lágrimas nos momentos de depressão, e sorrindo todos os dias pela manhã ao me encontrar nos corredores da faculdade.

A república Trapo, que hoje e para sempre será minha segunda família, sempre sorrindo juntos, levantando a moral uns dos outros e se abraçando nos momentos em que tudo parecia estar dando errado.

A Professora Cinthia Pereira Machado Tabchoury, por orientar esse projeto, ter paciência comigo nos erros e nas falhas, até mesmo nos momentos de irresponsabilidade, pelos conselhos dados e pelo cuidado maternal que sempre teve comigo.

## Resumo

A cárie dentária é uma doença multifatorial. Ela ocorre devido à desmineralização dos tecidos dentários causada pelo ácido produzido por bactérias presentes no biofilme acumulado na superfície dentária. O fluoreto é um importante agente no controle e prevenção da cárie dentária, logo, vários estudos buscam formas de aumentar sua biodisponibilidade no meio bucal e assim aumentar seu potencial anti-cárie. Um estudo recente avaliou a reatividade do fluoreto em soluções tamponadas com diferentes pHs (Vieira Jr. et al., 2010) e, com os resultados obtidos, sugeriu-se que soluções fluoretadas tamponadas em pH 5,0 apresentavam maior reatividade do fluoreto em esmalte dentário com lesão cariada. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar a reatividade do fluoreto, presente em diferentes concentrações, com o esmalte dental quando na presença do tampão histidina. Foram confeccionados blocos de esmalte dental (4x4x2 mm), obtidos de incisivos bovinos, nos quais foram induzidas lesões cariosas artificiais. Os blocos dentais foram aleatorizados e submetidos aos seguintes tratamentos: 0 ppm F, 226 ppm F, 452 ppm F, 904 ppm F e 2260 ppm F, contendo ou não histidina 0,1 M. Todos os grupos tiveram o pH ajustados para 5,0, exceto o grupo com 0 ppm F sem histidina. A reação dos blocos dentais com as soluções de tratamento foi realizada por 10 minutos a 100 rpm em uma proporção de 2 mL de solução/mm<sup>2</sup> de esmalte exposto. Foi feita análise de fluoreto fracamente ligado ("CaF<sub>2</sub>") e fluoreto fortemente ligado (flúorapatita; FA) nos blocos dentais, assim como determinação do pH das soluções antes e após a reação com os blocos dentais. O estudo foi cego em relação ao operador e os dados submetidos à Análise de Variância e teste de Tukey para comparações entre os grupos de tratamento. Os resultados encontrados para CaF<sub>2</sub> mostram que a histidina aumentou a reatividade do fluoreto principalmente nas concentrações acima de 452 ppm F. Para os valores de fluorapatita, não houve aumento relevante nos grupos com histidina em relação aos grupos sem histidina. Analisando todos os resultados, sugere-se que a presença da histidina em soluções fluoretadas aumenta a reatividade do fluoreto, na forma de CaF<sub>2</sub>, no esmalte dentário com lesão cariada.

**Palavras-chave:** Fluoreto, Tamponamento, Reatividade, Histidina.

## **Abstract**

Dental caries is a multifactorial disease. It occurs due to demineralization of dental tissues caused by acid produced by bacteria present in the biofilm accumulated on the tooth surface. Fluoride is an important agent in the control and prevention of dental caries, therefore, several studies have sought ways to increase their bioavailability in the oral environment and thus increase their anti-caries potential. A recent study evaluated the reactivity of fluoride in buffered solutions with different pHs (Vieira Jr. et al ., 2010) and with the results obtained, it was suggested that fluoride solutions buffered at pH 5.0 showed higher reactivity of fluoride in enamel with dental caries lesions. Thus, the present study aimed to evaluate the reactivity of fluoride present in different concentrations, with the enamel in the presence of histidine buffer . Were made enamel blocks ( 4x4x2 mm ), obtained from bovine incisors, which were induced in artificial carious lesions. The dental blocks were randomized to the following treatments: 0 ppm F , 226 ppm F , 452 ppm F , 904 ppm F and 2260 ppm F, with or without histidine 0.1M. All groups had agreed to pH 5.0, except the group with 0 ppm F without histidine . The reaction of dental blocks with the treatment solutions was performed for 10 minutes at 100 rpm in a ratio of 2 mL solution / mm <sup>2</sup> of exposed enamel. Fluoride analysis was made on weakly bound ("CaF<sub>2</sub>") and tightly bound fluoride (fluorapatite, FA) in the dental blocks, and determining the pH of the solutions before and after the reaction with the dental blocks. The study was blinded for the operator and the data submitted to ANOVA and Tukey's test for comparisons between treatment groups. The results show that for CaF<sub>2</sub> histidine increased fluoride reactivity mainly in concentrations above 452 ppm F. For values of fluorapatite, there was no relevant increase in histidine groups compared to groups without histidine. Upon analyzing the results, it is suggested that the presence of histidine rinses increases the reactivity of the fluoride as CaF<sub>2</sub>, in the dental enamel with caries.

**Keywords:** Fluoride, buffering, Reactivity, Histidine.

## **Sumário**

Agradecimentos .....	5
Resumo .....	6
Abstract .....	7
Introdução .....	9
Revisão de literatura .....	10
Proposição .....	12
Materiais e métodos .....	12
Resultados .....	16
Discussão .....	21
Conclusão .....	23
Referências bibliográficas .....	24

## 1. Introdução

A cárie dentária é uma doença multifatorial, cujo desenvolvimento e progressão estão associados à presença de microrganismos cariogênicos (van Houte, 1994) organizados em um biofilme dental e consumo freqüente de carboidratos fermentáveis (Marsh, 1994; Cury *et al.*, 1997). A fermentação destes carboidratos a ácidos por bactérias cariogênicas presentes no biofilme dental resulta na subsaturação do fluido em relação ao produto de solubilidade do esmalte, promovendo a desmineralização do substrato dental e levando ao aparecimento de lesões cariosas (Dawes, 2003).

O papel do fluoreto (F) na prevenção e controle da cárie dentária está bem descrito na literatura, além de ser o método mais relevante, inibindo o processo de desmineralização e ativando a remineralização (Fejerskov, 2004), sendo o seu efeito físico-químico predominantemente tópico (Cury & Tenuta, 2008). Em relação à reatividade do F com o substrato dental, estudos mostram que existem fatores e substâncias que podem interferir neste processo, aumentando ou diminuindo esta reatividade (Friberger, 1975; Barkvoll *et al.*, 1988; Barkvoll, 1991; Franco & Cury, 1993, 1994). Um dos principais fatores é o pH, cuja diminuição leva a um aumento da reatividade do F (Friberger, 1975; Delbem & Cury, 2002). Comparando-se soluções fluoretadas com pH variando de 4,5 a 7,1, verificou-se um aumento de 5 vezes na formação de flúorapatita no esmalte hígido que reagiu com a solução de menor pH (Friberger, 1975).

Apesar deste efeito do pH do meio na reatividade do F, durante a reação da solução fluoretada com o esmalte poderia haver uma alteração no pH da mesma. Os íons fosfato e hidroxilas podem reagir com os prótons da solução, que levaria a um aumento do pH da solução, o qual é dependente da quantidade de prótons livres, como observado no estudo de Arthur *et al.* (2007), o que poderia influenciar a reatividade do F com o esmalte dental, diminuindo-a. Assim, levantou-se a hipótese de que se o F estiver presente em uma solução tampão, este aumento do pH será menor ou praticamente não ocorrerá, mantendo o pH da solução mais baixo durante todo o tempo da reação, o que poderia aumentar a reatividade do F com o esmalte dental.

Em um estudo prévio (Vieira Jr et al, 2010), foi observado que o tamponamento da solução fluoretada aumentou a reatividade do F com o esmalte com lesão cariiosa, em um modelo in vitro. Foram testadas soluções de NaF 0,05% com pH 5,0; 5,5; 6,0 e 6,5 tamponadas com histidina ou apenas com seus pHs ajustados para estes valores. A maior concentração de “CaF<sub>2</sub>” foi observada para o grupo de tratamento de solução fluoretada com pH 5,0 tamponada com histidina, o qual diferiu significativamente de todas as outras soluções tamponadas e também daquela com o mesmo pH e não tamponada.

Desta forma, o objetivo da presente pesquisa é avaliar a reatividade do F, em diferentes e crescentes concentrações, presente em uma solução tamponada com o esmalte dental com lesão cariiosa artificial em um estudo in vitro.

## **2. Revisão de literatura**

Sabe-se que o fluoreto tem um papel essencial no processo de desmineralização e remineralização do tecido dentário, e que o mesmo é o principal agente no controle e prevenção da cárie dentária (Fejerskov et al., 2004). Sabe-se também que o seu efeito físico-químico é predominantemente tópico (Cury et al., 2008). Estudos mostram que a reatividade do fluoreto pode ser influenciada por fatores como pH, presença de agentes tampão e a presença ou não de lesão cariiosa (Friberger et al., 1975; Barkvoll et al., 1988; Barkvoll et al., 1991; Franco & Cury, 1993, 1994)

O efeito de agentes de superfície em relação às interações esmalte-fluoreto foi avaliado (Caslavaska et al., 1983; Gron et al., 1983), e observou-se que agentes de superfície como o cloreto de cetilpiridínio reduzem a penetração imediata do fluoreto em soluções ácidas, porém sem interferir na formação de fluorapatita após as aplicações e, em meio neutro, aumentou a formação de fluorapatita. Neste estudo (Gron et al., 1983) também foi verificado que a presença desses agentes de superfície em soluções fluoretadas aumenta a deposição de fluorapatita, afetando a cinética das interações esmalte-fluoreto em um período entre 14-96 horas após sua aplicação tópica.

Sabe-se que o fluoreto no meio bucal fica depositado principalmente sobre a superfície de esmalte (>70%), e não intrínseco à ele (Saxegaard et al., 1988). Utilizando esses conhecimentos e lembrando que o pH do meio bucal e das soluções fluoretadas afetam diretamente a reatividade do fluoreto com o tecido dentário, a efetividade do gel acidulado fluoretado e do gel neutro fluoretado aplicados sobre o esmalte dentário foi avaliada (Delbem et al., 2002). Verificou-se que o gel acidulado aplicado sobre o dente de 1 à 4 minutos é mais eficiente que o gel neutro em relação à proteção do esmalte dentário contra desmineralização.

É comum o uso de enxaguatórios bucais como solução química auxiliar no combate as cáries, e portanto, é essencial que estas soluções apresentem boa qualidade, com concentração e biodisponibilidade de fluoreto suficientes para um efeito anticárie. Muitas farmácias disponibilizam essas soluções fluoretadas manipuladas. Essas soluções apresentam uma concentração e biodisponibilidade de fluoreto adequados para a função proposta (Tabchoury et al., 2005). Focando na fácil disponibilização e fácil acesso destes enxaguatórios para a população, é de suma importância que os estudos encontrem novas fórmulas e novos compostos que melhorem o controle de cáries e outras doenças bucais.

Um estudo avaliou o efeito de conservantes presentes em soluções fluoretadas em relação à reatividade do fluoreto com o esmalte dentário (Arthur et al., 2007). Sugeriu-se que um destes conservantes, o metilparabeno, poderia aumentar a reatividade do fluoreto com o esmalte dentário cariado. Outros estudos buscaram avaliar o efeito do metilparabeno e do propilparabeno, que apresentam uma estrutura química similar, em relação à reatividade do fluoreto com o esmalte (Tramontino et al., 2010). Este estudo encontrou resultados diferentes do anterior (Arthur et al., 2007), sugerindo que o metilparabeno e o propilparabeno não aumentaram a incorporação de flúor no esmalte dentário cariado. Tramontino et al. (2010) sugerem que o aumento de reatividade do fluoreto com o esmalte dentário pode ter ocorrido devido ao pH da solução contendo metilparabeno (pH 5,6), e não devido à presença do conservante.

Sabe-se também que o fluoreto disponível no meio bucal interfere no processo de cárie, e que, portanto, métodos de liberação lenta de fluoreto no meio bucal são os mais recomendados (Cury et al., 2008). Sabendo que o pH é um fator

importante na reatividade do fluoreto com o esmalte dentário, testou-se o efeito do uso de tampões em soluções fluoretadas (Vieira Jr. et al, 2010) e descobriu-se que o tamponamento em soluções fluoretadas pode aumentar a reatividade do fluoreto com o esmalte com lesão cariiosa. O tampão utilizado neste trabalho foi histidina e os grupos contendo histidina apresentaram menores variações de pH após o tratamento, e a maior concentração de  $\text{CaF}_2$  foi encontrada no grupo com menor pH (5,0) tamponado com histidina. Porém, a diferença do pH em si não alterou significativamente a quantidade de fluorapatita formada nas camadas de esmalte removidas, e sim, a presença ou não do tampão nos grupos de tratamento, onde os grupos com histidina apresentaram maior quantidade de fluorapatita.

### **3. Proposição**

O objetivo desse estudo é avaliar a reatividade do fluoreto, em concentrações crescentes, com o esmalte dentário com lesão cariiosa artificial, quando aplicado em forma de solução fluoretada tamponada.

### **4. Material e Métodos**

#### **4.1. Delineamento experimental**

O presente estudo in vitro utilizou blocos de esmalte bovino (4 x 4 x 2 mm) planificados, lixados, polidos e com lesão cariiosa artificial. Esta lesão cariiosa foi induzida por solução desmineralizante composta por tampão acetato 0,1 M pH 5,0, contendo 1,28 mM de Ca, 0,74 mM de Pi e 0,03  $\mu\text{g}$  F/ml (Queiroz et al., 2008; Moi et al., 2008). Os blocos dentais, selecionados a partir da dureza de superfície, foram aleatoriamente divididos nos seguintes grupos de tratamento (n=12): 0 ppm F, 226 ppm F, 452 ppm F, 904 ppm F e 2260 ppm F, contendo ou não histidina 0,1 M. Todos os grupos tiveram o pH ajustado para 5,0, exceto o grupo com 0 ppm F sem histidina. A dureza de superfície, para seleção inicial dos blocos dentais, foi determinada utilizando-se o microdurômetro Future Tech modelo FM-7 acoplado a um software FM-ARS e penetrador tipo Knoop, com carga de 50 g por 5 s (Fushida & Cury, 1999; Aires et al., 2006). Os blocos de esmalte foram imersos individualmente nas soluções de tratamento na proporção de 2 mL de solução/ $\text{mm}^2$

de superfície de esmalte exposto em uma mesa agitadora à 100 rpm, em temperatura ambiente. O pH de todas as soluções foram analisados após a reação com os blocos de esmalte, utilizando eletrodo de vidro acoplado a um peagômetro calibrado com soluções padrões de pH 4,0 e 7,0. Após a reação, nos blocos dentais o fluoreto solúvel em álcali (fracamente ligado;  $\text{CaF}_2$ ) foi determinado após extração com KOH 1,0 M e analisado em eletrodo específico para íon F. Então, duas camadas consecutivas de esmalte foram removidas de todos os blocos dentais por ataque ácido e o fluoreto firmemente ligado (FA) presente nesse extrato ácido foi determinado por eletrodo específico para íon F. Este experimento foi executado de forma cega pelo operador.

#### **4.2. Confeção dos blocos de esmalte dental**

Foram utilizados incisivos bovinos hígidos armazenados em solução de formaldeído 2% (pH 7,0) por um período mínimo de 30 dias (White, 1987; Cury *et al.*, 1997). Cento e cinquenta blocos de esmalte dental com dimensões de 4 x 4 x 2 mm foram obtidos a partir da região central da coroa dos incisivos bovinos (Fushida & Cury, 1999). Para a obtenção dos blocos de esmalte foi utilizada cortadeira elétrica (Buehler-Isomet) e discos diamantados de dupla face (Buehler® Diamond Wafering Blade nº 11-4243 da série 15 HC). A dentina pulpar foi planificada e a superfície do esmalte foi planificada e lixada com lixas nº 400, nº 600 e nº 1200 e polida em disco de feltro com a utilização de politriz elétrica. Durante esses procedimentos, os blocos dentais foram umedecidos em água purificada, evitando trincas e fraturas em sua superfície. Após inspeção, foram excluídos blocos que apresentavam trincas, fraturas, hipoplasias ou pigmentações. As medidas exatas de cada bloco dental foram mensuradas com o auxílio de um paquímetro digital, determinando-se a área exposta ( $\text{mm}^2$ ) de esmalte de cada bloco. Os blocos obtidos foram armazenados em geladeira dentro de recipientes devidamente vedados, cobertos com guardanapos de papel absorvente umedecidos em água purificada, para evitar a desidratação do bloco e possíveis rachaduras e trincas.

#### **4.3. Seleção dos blocos dentais pela dureza de superfície**

A dureza de superfície de esmalte dos blocos dentais foi determinada utilizando-se o microdurômetro Future Tech modelo FM-7 acoplado a um software

FM-ARS e penetrador tipo Knoop, com carga de 50 g por 5 s (Fushida & Cury, 1999; Aires et al., 2006). Foram realizadas 3 endentações na região central da área plana e polida dos blocos dentais e o critério de seleção foi baseado na média e desvio padrão da dureza de cada bloco dental. Foram excluídos do experimento blocos dentais que apresentaram desvio padrão maior que 10% de sua média de dureza individual (variabilidade intra-blocos) e aqueles que apresentaram sua média individual de dureza maior ou menor do que 15% da média de dureza calculada para todos os blocos inicialmente obtidos (variabilidade entre blocos). A média e o desvio padrão de todos os blocos antes da seleção foram de 335,9 kg/mm<sup>2</sup> x μm e 9,1 respectivamente.

#### **4.4. Indução das lesões de cárie artificial nos blocos de esmalte.**

Para que somente a superfície de esmalte reagisse com a solução desmineralizante, os blocos foram inseridos em uma placa de cera do tipo utilidade, até que somente a superfície superior do bloco com esmalte dentário estivesse exposta, protegendo assim as outras superfícies do bloco dental.

Os blocos dentais foram imersos em solução desmineralizante, na proporção de 2 mL de solução por mm<sup>2</sup> de esmalte, durante 16 h a 37°C. Tal solução é composta por tampão acetato 0,1 M pH 5,0, contendo 1,28 mM de cálcio, 0,74 mM de fósforo inorgânico e 0,03 μg F/ml (Queiroz *et al.*, 2008; Moi *et al.*, 2008). Esta solução desmineralizante é 50% saturada em relação ao esmalte dental e será utilizada, pois uma solução 50% saturada em relação ao esmalte dental induz uma típica desmineralização subsuperficial sem características de erosão (Moreno & Zahradnik, 1974). Após a indução das lesões cariosas, uma nova mensuração da dureza de superfície dos blocos foi feita. Novamente foram excluídos os blocos dentais que apresentaram desvio padrão maior que 10% de sua média de dureza individual (variabilidade intra-blocos) e aqueles que apresentaram sua média individual de dureza maior ou menor do que 15% da média de dureza calculada para todos os blocos inicialmente obtidos (variabilidade entre blocos). A média e o desvio padrão de todos os blocos antes da seleção foram de 91,5 kg/mm<sup>2</sup> e 12,3 respectivamente.

#### **4.5. Preparo das soluções de tratamento**

Todas as soluções foram preparadas com água purificada, contendo ou não F presente nas concentrações de 0, 226, 452, 904 e 2260 ppm F, com ou sem histidina a 0,1 M. O pH das soluções foi ajustado para pH 5,0 usando eletrodo de pH e peagômetro calibrado com soluções de pH 4,0 e 7,0, exceto no grupo com 0 ppm F sem histidina. Após o preparo das soluções, amostras das mesmas foram diluídas e misturadas com TISAB II (tampão acetato 1 M, pH 5,0, contendo NaCl 1 M e CTDA 0,4%). A determinação de fluoreto foi realizada em triplicata utilizando eletrodo íon-específico ORION 96-06 e analisador de íons EA 940, previamente calibrado.

#### **4.6. Reatividade das soluções de tratamento com esmalte dental**

Os blocos de esmalte com lesão cariosa artificial foram imersos individualmente nas soluções de tratamentos na proporção de 2 mL/mm<sup>2</sup> de superfície de esmalte dental exposto, com agitação em mesa agitadora à 100 rpm, em temperatura ambiente por 10 minutos (Tabchoury *et al.*, 2005). Então, os blocos foram retirados da solução, lavados com água purificada e armazenados a 4°C em ambiente úmido.

#### **4.7. Determinação do pH das soluções de tratamento após reação com os blocos dentais**

Após a reação com os blocos dentais com lesão de cárie artificial, o pH das soluções de tratamento foi determinado usando eletrodo de pH e peagômetro calibrado com soluções padrões de pH 4,0 e 7,0.

#### **4.8. Determinação do fluoreto fracamente ligado**

Logo após a reação com as soluções de tratamento, os blocos de esmalte tratados foram imersos individualmente em 1,0 mL de solução de KOH 1 M a temperatura ambiente e levemente agitados à 100 rpm em mesa agitadora por 24 horas (Caslavská *et al.*, 1975). Após este período, o extrato foi neutralizado com 1 mL de TISAB II contendo HCl 1 M e analisado com eletrodo específico para íon flúor

acoplado a analisador de íons, previamente calibrado com padrões de 0 ppm a 32 ppm de F. O fluoreto fracamente ligado formado e extraído dos blocos de esmalte foi calculado e expresso em  $\mu\text{g F/cm}^2$ .

#### **4.9. Determinação de fluoreto firmemente ligado**

Após extração do fluoreto fracamente ligado, uma camada de esmalte foi removida dos blocos dentais, a partir da imersão em 0,5 mL de HCl 0,5 M por 15 s sob agitação, seguido por tamponamento usando o mesmo volume de TISAB II pH 5,0 modificado com adição de 20 g de NaOH/L (Koo & Cury, 1998) para neutralizar o HCl usado na biópsia. Uma outra camada foi removida da mesma forma. A concentração de fluoreto foi determinada usando analisador de íon ORION EA 940 e eletrodo íon-específico 96-09 (Tabchoury *et al.*, 2005) previamente calibrados com padrões de 0,125 a 16,0  $\mu\text{g F/mL}$ . O fluoreto fortemente ligado formado e extraído dos blocos de esmalte foi calculado e expresso em  $\mu\text{g F/cm}^2$  para primeira e segunda camadas removidas e o total somando as duas camadas.

#### **4.10. Análise estatística**

Após análise exploratória, os dados de pH das soluções foram elevados a -2 e os dados de flúor fracamente ligados foram transformados em logaritmo na base 10. Estas transformações foram necessárias para atender às pressuposições de uma análise paramétrica. A seguir foi realizada análise de variância 2 “way” e teste de Tukey, considerando o nível de significância de 5%. A análise exploratória dos dados do flúor fortemente ligado indicou 2 “outliers” nos grupos de tratamento 226 ppm F sem histidina pH 5 ( $4,82 \mu\text{g F/cm}^2$ ) e 452 ppm F com histidina pH 5 ( $5,17 \mu\text{g F/cm}^2$ ). Os “outliers” foram excluídos, os dados transformados em logaritmo na base 10 e aplicada análise de variância “2 way”. As comparações múltiplas foram realizadas pelo teste de Tukey considerando o nível de significância de 5%.

## 5. Resultados

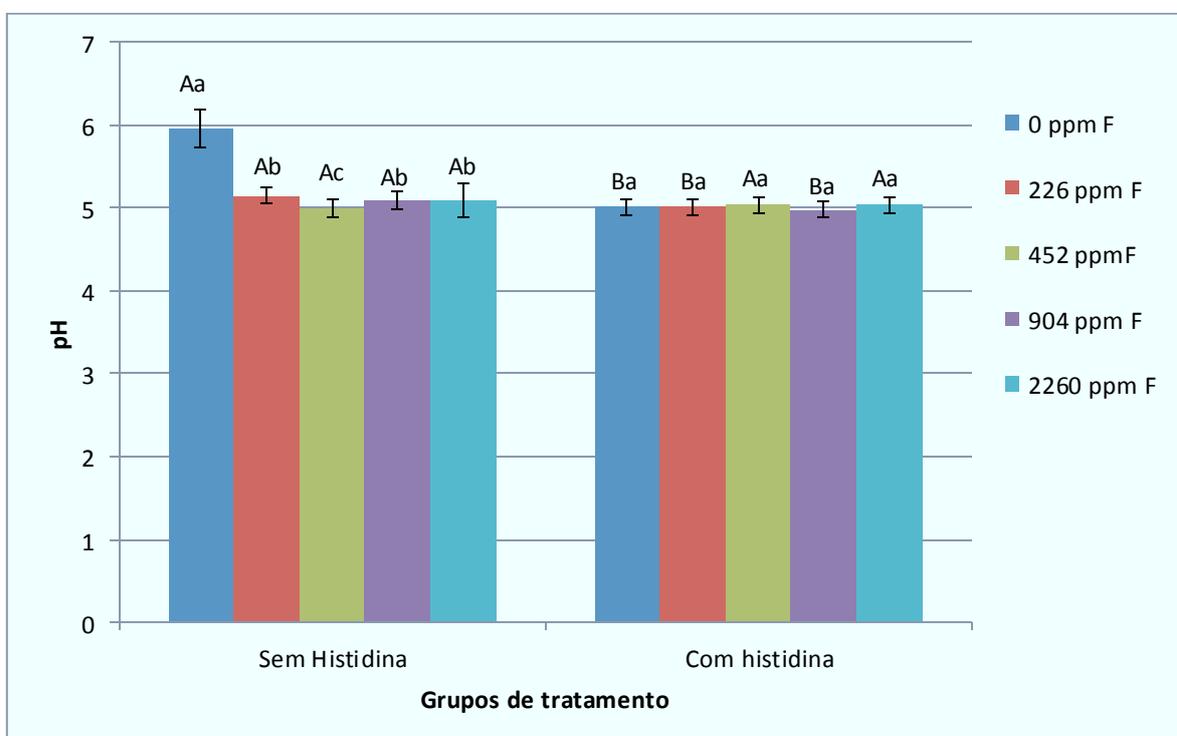
### 5.1 pH da Solução

**Tabela 1.** Média (desvio padrão) do pH da solução de tratamento após reação com os blocos dentais em função da presença ou não de histidina 0,1 M e da concentração de F das soluções de tratamento (n=12).

Concentração de F ( $\mu\text{g/mL}$ )	Histidina	
	Sem	Com
0	5,96 (0,23)* Aa	5,01 (0,01) Ba
226	5,15 (0,01) Ab	5,01 (0,01) Ba
452	5,00 (0,01) Ac	5,04 (0,01) Aa
904	5,09 (0,01) Ab	4,98 (0,01) Ba
2260	5,09 (0,02) Ab	5,04 (0,01) Aa

Médias seguidas de letras distintas (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) diferem entre si ( $p \leq 0,05$ ).

\*Todas as soluções de tratamento tiveram seu pH ajustado para 5,0, exceto a solução sem flúor e sem histidina.



**Figura 1.** Média do pH da solução de tratamento após reação com os blocos dentais em função da presença ou não de histidina 0,1 M e da concentração de F (n=12).

Médias seguidas de letras distintas (maiúsculas para comparação entre os grupos com a mesma concentração de F e minúsculas para comparação entre os grupos sem ou com histidina) diferem entre si ( $p \leq 0,05$ ). Linhas verticais representam o desvio padrão.

Na tabela 1 e figura 1, nos grupos sem histidina, os resultados dos grupos com 226, 904 e 2260 ppm F não diferem significativamente entre si, mas foram estatisticamente diferentes dos grupos com 0 e 452 ppm F. Os grupos com 0 e 452 ppm F diferem significativamente entre si. Nos grupos com histidina, não há diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto ao pH da solução após reação dos blocos dentais.

Nas concentrações de 0, 226 e 904 ppm F, os grupos com e sem histidina apresentaram resultados estatisticamente diferentes entre si. Já nas concentrações 452 e 2260 ppm F, não houve diferença estatística entre os grupos com e sem histidina.

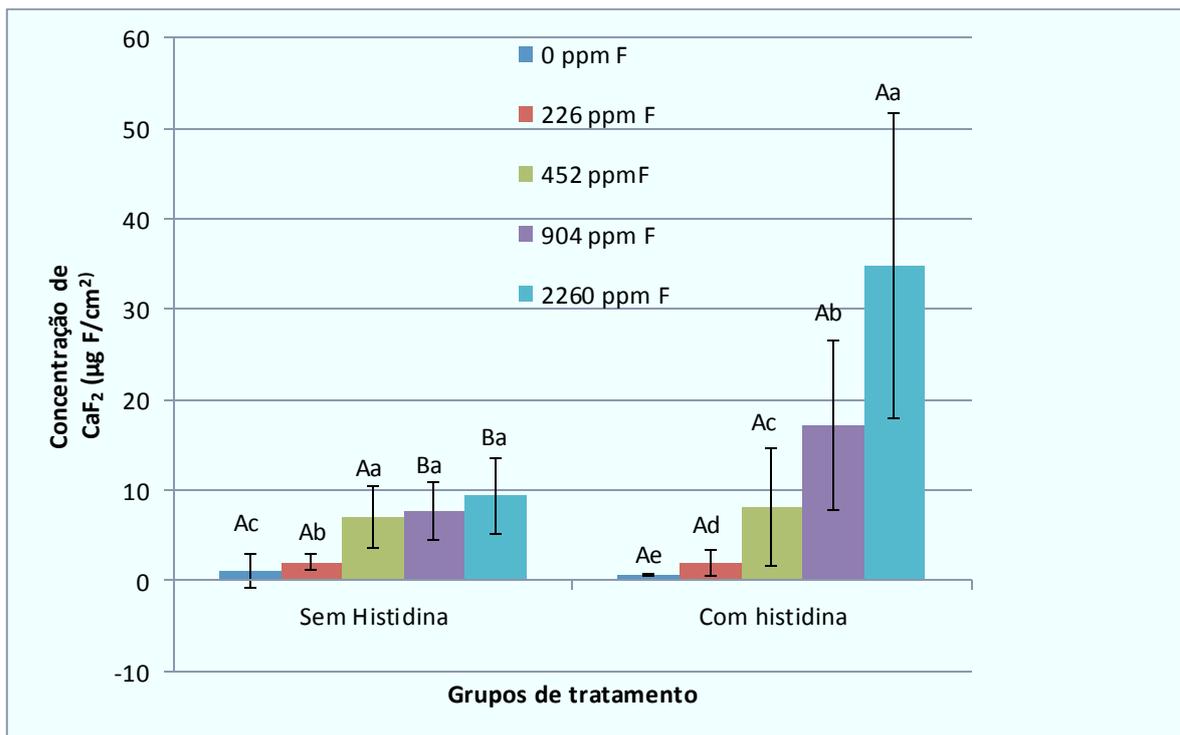
## 5.2 Flúor fracamente ligado

**Tabela 2.** Média (desvio padrão) da concentração de  $\text{CaF}_2$  nos blocos dentais após reação com as soluções de tratamento em função da presença ou não de histidina e concentração de F das soluções de tratamento ( $n=12$ ).

Concentração de $\text{CaF}_2$ ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	Histidina	
	Sem	Com
0	1,05 (1,84) Ac	0,66 (0,16) Ae
226	2,07 (0,81) Ab	1,95 (1,40) Ad
452	7,00 (3,41) Aa	8,15 (6,57) Ac
904	7,63 (3,22) Ba	17,22 (9,38) Ab
2260	9,37 (4,10) Ba	34,79 (16,88) Aa

Médias seguidas de letras distintas (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) diferem entre si ( $p \leq 0,05$ ).

Todas as soluções de tratamento tiveram seu pH ajustado para 5,0, exceto a solução sem flúor e sem histidina.



**Figura 2.** Média da concentração de  $\text{CaF}_2$  ( $\mu\text{g F}/\text{cm}^2$ ) nos blocos dentais após reação com as soluções de tratamento em função da presença ou não de histidina M e concentração de F das soluções de tratamento ( $n=12$ ). Médias com letras distintas (maiúsculas para comparação entre os grupos com a mesma concentração de F e minúsculas para comparação entre os grupos sem ou com histidina) diferem entre si ( $p \leq 0,05$ ). Linhas verticais representam o desvio padrão.

Na ausência de histidina, o resultado dos grupos com 452, 904 e 2260 ppm F não diferem significativamente entre si, mas diferem estatisticamente dos grupos com 0 e 226 ppm F. Os grupos com 0 e 226 ppm F também diferem significativamente entre si. Nos grupos com histidina, todos os grupos apresenta diferença estatisticamente significantes em relação à concentração de  $\text{CaF}_2$ , mostrando uma concentração crescente de  $\text{CaF}_2$  à medida que a concentração de F aumenta nas soluções de tratamento. Nas concentrações de 0, 226 e 452 ppm F, os resultados com e sem presença de histidina não diferem estatisticamente entre si, e nas concentrações 904 e 2260 ppm F os resultados com e sem presença de histidina apresentam diferenças estatisticamente significantes entre si.

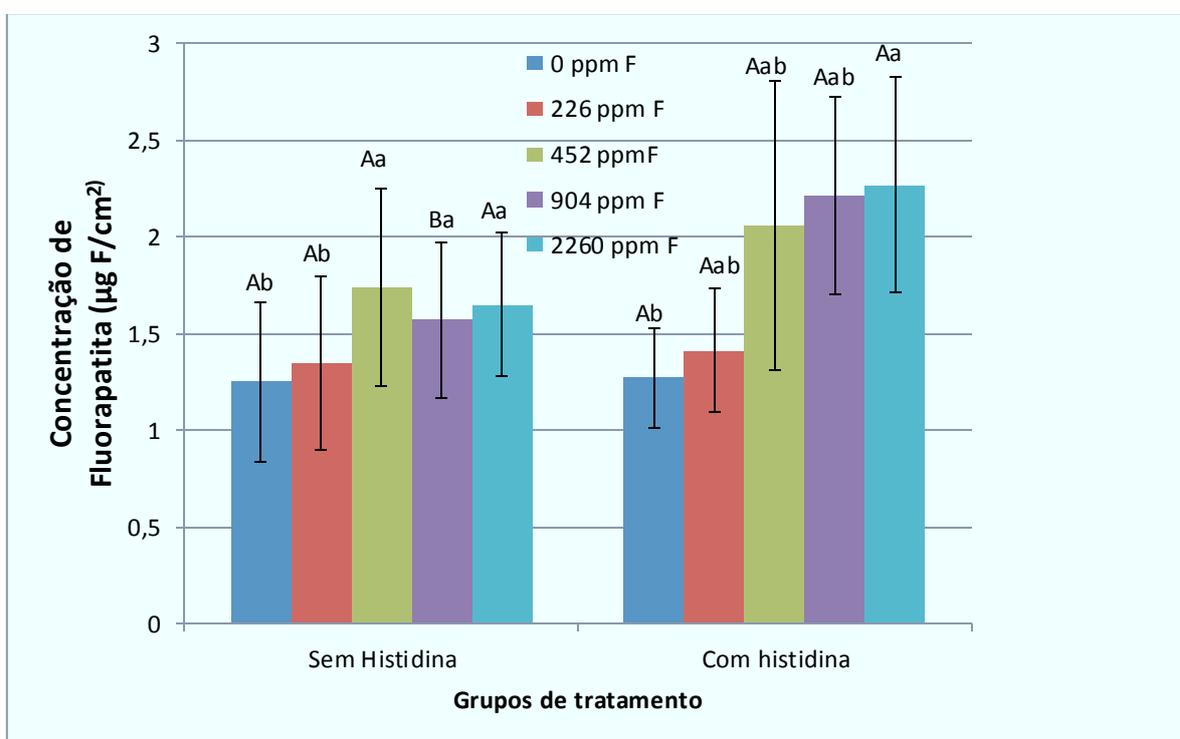
### 5.3 Flúor fortemente ligado

**Tabela 3.** Média (desvio padrão) da concentração de fluorapatita nos blocos dentais após reação com as soluções de tratamento em função da presença ou não de histidina e concentração de F das soluções de tratamento (n=12).

Concentração de F ( $\mu\text{g F/cm}^2$ )	Sem Histidina	Com Histidina
0	1,25 (0,41) Ab	1,27 (0,26) Ab
226	1,35 (0,45) Ab	1,41 (0,32) Aab
452	1,74 (0,51) Aa	2,27 (0,75) Aab
904	1,57 (0,40) Ba	2,21 (0,51) Aab
2260	1,65 (0,37) Aa	2,27 (0,56) Aa

Médias seguidas de letras distintas (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) diferem entre si  $p \leq 0,05$ .

Todas as soluções de tratamento tiveram seu pH ajustado para 5,0, exceto a solução sem flúor e sem histidina.



**Figura 3.** Média da concentração de fluorapatita ( $\mu\text{g F/cm}^2$ ) nos blocos dentais após reação com as soluções de tratamento em função da presença ou não de histidina e concentração de F. Letras distintas (maiúsculas para comparação entre os grupos com a mesma concentração de F e minúsculas para comparação entre os grupos

sem ou com histidina) diferem entre si  $p \leq 0,05$ . Linhas verticais representam o desvio padrão.

Nos grupos sem histidina, os grupos com 0 e 226 ppm F não apresentaram diferença estatística significativa entre si, porém, foram estatisticamente diferentes dos grupos com 452, 904 e 2260 ppm F. Nos grupos com histidina, os grupos com 0 e 2260 ppm F foram estatisticamente diferentes de todos os outros grupos, já os grupos com 226, 452 e 904 ppm F foram estatisticamente semelhantes entre si.

Comparando resultados de grupos com a mesma concentração com e sem histidina, apenas nos grupos com 904 ppm F apresentaram diferença estatística significativa entre si. Nas concentrações 0, 226, 452 e 2260 ppm F os resultados comparativos com e sem histidina não apresentaram diferença estatística significativa.

## 6. Discussão

Analisando os resultados apresentados, é possível notar que não houve grandes alterações de pH nos soluções de tratamento que tiveram seu pH ajustados para pH 5,0 após a reação com os blocos dentais. Porém, os grupos sem histidina tiveram uma diferença pré e pós tratamento maior do que os grupos com histidina, exceto o grupo com 452 ppm F sem histidina, que não apresentou alteração de pH pré e pós tratamento (Tabela 1 e Figura 1). Podemos sugerir que a histidina foi eficaz como agente tampão impedindo grandes variações no pH das soluções após tratamento.

Em relação ao  $\text{CaF}_2$ , os resultados encontrados estão de acordo com a hipótese inicial e com a literatura (Vieira Jr et al., 2010). Os grupos com histidina apresentaram valores de  $\text{CaF}_2$  maiores que os grupos sem histidina, com exceção dos grupos com 0 e 226 ppm F. Notou-se um considerável e significativo aumento na reatividade do fluoreto no grupos com histidina com concentrações a partir de 452 ppm F (Tabela 2 e Figura 2). Nos grupos com 0 e 226 ppm, a concentração de F foi menor nos grupos com histidina, logo, sugere-se que a histidina começa a aumentar significativamente a reatividade do fluoreto em uma concentração entre 226 e 452 ppm F. Assim, novos estudos devem ser realizadas para testar esta hipótese. Analisando o resultados do  $\text{CaF}_2$  nos grupos com histidina, podemos sugerir que o aumento da reatividade do fluoreto em presença de histidina é proporcional à concentração inicial de F na solução de tratamento, porém, novos estudos também são necessários para analisar essa hipótese.

Em relação à fluorapatita, os resultados encontrados mostraram que a histidina aumentou levemente a concentração de fluorapatita nos blocos, porém, não apresentou o mesmo aumento aparentemente proporcional que foi encontrado nos resultados do  $\text{CaF}_2$  (Tabela 3 e Figura 3). Portanto, sugere-se que a histidina aumenta significativamente a reatividade do fluoreto e a formação de  $\text{CaF}_2$ , mas não apresenta uma grande influência na formação de fluorapatita nas concentrações de F analisadas neste estudo.

Para estudos posteriores, sugere-se um maior foco na reatividade da fluorapatita em soluções fluoretadas contendo histidina, talvez um número de amostras maior para cada grupo, análise de concentrações maiores ou menores de

F nas soluções de tratamento e análise da microdureza de superfície antes do ataque cariogênico, após o ataque cariogênico e após o tratamento com as soluções para avaliar melhor o comportamento da perda e recuperação de dureza de superfície durante todo o estudo.

A partir dos resultados obtidos neste estudo e considerando as suas limitações, sugere-se que a presença de um tampão em soluções fluoretadas aumenta a formação de  $\text{CaF}_2$  na superfície do esmalte dental, conforme já sugerido na literatura (Vieira Jr. Et al., 2010), portanto, aumenta a presença de uma reserva de flúor no meio bucal, que é extremamente importante no processo de desmineralização/remineralização do tecido dentário.

## **7. Conclusão**

Os resultados do presente estudo sugerem que a presença de histidina pode aumentar a reatividade do fluoreto com o esmalte dental com lesão cariiosa.

## Referências bibliográficas

1. Aires CP, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Koo H, Cury JA. Effect of sucrose concentration on dental biofilm formed in situ and on enamel demineralization. *Caries Res*. 2006;40(1):28-32.
2. Arthur RA, Tabchoury CPM, Giancristófaró M, Del Bel Cury AA, Cury JA. Effect of preservatives on reactivity of fluoride with dental enamel. *RGO* 2007; 55(4): 375-80.
3. Barkvoll P, Rölla G, Lagerlof F. Effect of sodium lauryl sulfate on the deposition of alkali-soluble fluoride on enamel in vitro. *Caries Res* 1988; 22(3): 139-44.
4. Barkvoll P. Effect of sodium lauryl sulfate on the uptake of fluoride NaF and MFP by etched enamel in vitro. *J Biol Buccale* 1991; 19(3): 235-9.
5. Caslavská V, Gron P. Effect of surface-active agents on fluoride enamel interactions. *Caries Res* 1983; 17:221-8.
6. Caslavská V, Moreno EC, Brudevold F. Determination of calcium fluoride formed in vitro exposure of human enamel to fluoride solutions. *Arch Oral Biol* 1975; 20: 333-9.
7. Cury JA, Rebello MAB, Del Bel Cury AA. In situ relationship between sucrose exposure and the composition of dental plaque. *Caries Res* 1997; 31: 356-60.
8. Cury JA, Tenuta LMA. How to maintain a cariostatic fluoride concentration in the oral environment. *Adv Dent Res*. 2008 Jul 1;20(1):13-6.
9. Dawes C. What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? *J Can Dent Assoc* 2003; 69: 722-4.
10. Delbem AC, Cury JA. Effect of application time of APF and NaF gels on microhardness and fluoride uptake of in vitro enamel caries. *Am J Dent* 2002; 15(3): 169-72.
11. Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res* 2004; 38(3): 182-91.
12. Franco EM, Cury JA. Bochecho com Plax e reatividade do flúor. *RGO* 1993; 41: 283-6.
13. Franco EM, Cury JA. Effect of plax prebrushing rinse on enamel fluoride deposition. *Am J Dent* 1994; 7:119-21.
14. Fushida CE, Cury JA. Estudo in situ do efeito da freqüência de ingestão de coca-cola na erosão do esmalte-dentina e reversão pela saliva. *Rev Odontol Univ São Paulo* 1999; 13: 127-34.

15. Gron P, Caslavská V. Effect of surface-active agents on fluoride enamel interactions. *Caries Res* 1983;17:304-9.
16. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res* 1994; 8: 263-71.
17. Moi GP, Tenuta LMA, Cury JA. Anticaries potential of a fluoride mouthrinse evaluated in vitro by validated protocols. *Braz Dent J* 2008; 19(2): 91-6.
18. Moreno EC, Zahradnik RT. Chemistry of enamel subsurface demineralization in vitro. *J Dent Res*. 1974 Mar-Apr;53(2):226-35.
19. Queiroz CS, Hara AT, Paes Leme AF, Cury JA. pH-cycling models to evaluate the effect of low fluoride dentifrice on enamel de- and remineralization. *Braz Dent J* 2008; 19(1): 21-7.
20. Saxegaard E, Rølla G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. *Scand J Dent Res*. 1988; 96(6): 523-35.
21. Tabchoury CPM, Pierobon CN, Cury JA. Concentration and bioavailability of fluoride in mouthrinses prepared in dispensing pharmacies. *J Appl Oral Sci*. 2005 Mar;13(1):41-6.
22. Tramontino VS, Labbate D, Tabchoury CPM, Cury JA. Parabens do not increase fluoride uptake by demineralized dental enamel. *RGO* 2010; 58(1): 11-14.
23. van Houte J. Role of micro-organisms in caries etiology. *J Dent Res* 1994; 73: 672-81.
24. Vieira Jr WF. Efeito do tamponamento na reatividade do fluoreto com o esmalte. 2010. 20f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Odontologia) – Faculdade de odontologia de Piracicaba, Universidade de Campinas, Piracicaba, 2010.
25. White DJ. Reactivity of fluoride dentifrices with artificial caries I. Effect on early lesions: F uptake, surface hardening and remineralization. *Caries Res* 1987; 21: 126-40.