

CARLA OLIVEIRA FAVRETTO

**Determinação da concentração ótima
de TMP em enxagatários bucais para
a inibição da desmineralização do
esmalte dentário: estudo in vitro.**

ARAÇATUBA – SP

2010

CARLA OLIVEIRA FAVRETTO

Determinação da concentração ótima
de TMP em enxaguatórios bucais para
a inibição da desmineralização do
esmalte dentário: estudo in vitro.

Trabalho de Conclusão de Curso como
parte dos requisitos para a obtenção do
título de Bacharel em Odontologia da
Faculdade de Odontologia de Araçatuba,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”.

Orientador: Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem

ARAÇATUBA – SP

2010

DEDICATÓRIA

DEDICATÓRIA

À DEUS,

Que em todos os momentos de minha vida está presente, guiando-me com Sua luz divina, pelos benefícios que me tem concedido, indigna seria se os atribuísse ao acaso dos acontecimentos ou apenas aos meus próprios esforços. Mais importante que o lugar que ocupa em nós é a intensidade de Sua presença em tudo o que fazemos. Sou eternamente grata.

À MEUS PAIS, VALDECIR E LÚCIA,

A vocês devo tudo que sou hoje. Nos ensinamentos da vida, foram mestres. Na minha caminhada, ensinaram-me a agir com dignidade, honestidade e respeito. Como lição, aprendi ainda a ser responsável e humana. Com seus exemplos, aprendi a ser perseverante e justa. Com carinho, dedicação e amor, cresci. Sempre apoiada, aprendo a lutar e enfrentar os obstáculos. Amadureci. Dificuldades foram ultrapassadas, vitórias foram conquistadas e alegrias divididas. Acreditaram em mim e hoje sou fruto dessa confiança. Muito obrigada por serem os melhores pais.

À MEUS IRMÃOS, RAFAEL E DANIEL,

Vocês são mais que amigos e companheiros; são anjos que Deus colocou em minha vida para me alegrar, compartilhar, me fazer sorrir e chorar, sempre por perto vocês chegam sem bater e ficam sem pedir. Obrigada pela força, pelos conselhos e pelas brigas.. Obrigada meus irmãos por existirem.

À MINHA FAMÍLIA,

Que em muitos momentos pensei e em mim pensaram... que estiveram ao meu lado apoiando e incentivando...que pela amizade e carinho ao longo destes anos, contribuíram para todas as minhas conquistas.. Minha gratidão.

À MEUS AMIGOS,

Obrigada por acreditar em mim quando eu achei difícil acreditar em mim mesmo. Obrigada por dizer, algumas vezes, o que eu realmente precisava ouvir, em vez do que eu queria que você dissesse, e por ter me mostrado um outro lado a considerar. Obrigada por se abrir comigo, por confiar-me seus pensamentos, suas decepções e seus sonhos, por saber que você pode contar comigo e por ter pedido minha ajuda quando precisou dela. Obrigada por ter posto tanta sabedoria, cuidado e imaginação na nossa amizade, por compartilhar tantas coisas boas e por marcar tantas lembranças sobre mim. Meu sincero agradecimento.

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

AO MEU ORIENTADOR,

O professor e doutor Carlos Alberto Delbem, por ter me dado a oportunidade de aprender e desenvolver trabalhos que me possibilitaram a concretização do meu fascínio pela pesquisa. E por ser um exemplo para todos de competência e experiência.

A PÓS DOUTORANDA,

A doutora Ana Elisa De Mello Vieira pela orientação, paciência e carinho. Por toda a dedicação que durante o desenvolvimento de todo o trabalho nunca mediu esforços para me ajudar e entender-me nas minhas maiores dificuldades. Aprendi muito ao seu lado e agradeço pela compreensão, conversas e amizade.

AOS AMIGOS DE LABORATÓRIO,

A todos que sempre incentivaram, ajudaram e compreenderam o esforço na realização desse trabalho, Marcelle, Jackeline, Danielle, Eliana, Michelle e Caroline. E aos meus amigos, que por muitas vezes me fizeram companhia no laboratório Nathália, Marcela e José Antônio.

À MINHA AMIGA

Graduanda Amanda Aquino Matheus pela amizade incondicional e apoio nas horas mais difíceis. Por ter sido minha companheira durante todo o desenvolvimento de meu trabalho. Meu eterno reconhecimento e gratidão.

À FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARAÇATUBA,

Por oferecer e possibilitar o desenvolvimento dos maiores trabalhos em prol a melhoria da saúde da humanidade.

AOS FUNCIONARIOS DA DISCIPLINA DE ODONTOPEDIATRIA,

A Maria dos Santos Ferreira Fernandes e Mario Luis da Silva pelo auxílio indispensável na realização do trabalho e pelos momentos de descontração.

AOS DOCENTES DA DISCIPLINA DE ODONTOPEDIATRIA,

O Prof. Dr. Robson Frederico Cunha, Dra. Sandra M. H. C. Ávila de Aguiar, Prof. Dr. Célio Percinoto e a Prof^a Dra. Rosângela dos Santos Nery por serem exemplos de dedicação, pela agradável convivência e conhecimentos transmitidos.

À todos aqueles que, de certa forma, contribuíram para a elaboração e conclusão deste trabalho,

Minha eterna gratidão...

EPÍGRAFE

EPÍGRAFE

"Há um momento especial que acontece na vida de toda pessoa, o momento para o qual ela nasceu. Quando aproveitada, essa oportunidade extraordinária faz com que a pessoa cumpra sua missão - uma missão para a qual somente ela tem as qualificações necessárias. Nesse momento, a pessoa encontra a grandeza. Esse é seu mais maravilhoso instante."

Winston Churchill

RESUMO

RESUMO

FAVRETTO, C. O. **Determinação da concentração ótima de TMP em enxaguatórios bucais para a inibição da desmineralização do esmalte dentário: Estudo *in vitro*.** Trabalho de Conclusão de Curso- Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2010.

A proposta do presente trabalho foi verificar o efeito de partículas de trimetafosfato de sódio adicionadas a enxaguatórios bucais em inibir a desmineralização do esmalte bovino utilizando modelo de ciclagens de pH. Blocos de esmalte (4x4mm) foram obtidos de dentes incisivos bovinos. As superfícies de esmalte dos blocos foram seqüencialmente polidas e aqueles com dureza inicial de 320-380 KHN (SH) foram selecionados e divididos em grupos experimentais de 10 espécimes cada. Os blocos de esmalte bovino foram submetidos num período de sete dias, a cinco ciclagens de pH e ao tratamento duas vezes ao dia com enxaguatórios. As formulações de enxaguatórios tiveram concentrações de flúor de 0, 100 e 225µg F/g; enxaguatórios com 100µg F/g apresentaram concentrações trimetafosfato de sódio de 0 a 0,4%. Após as ciclagens de pH, a dureza de superfície do esmalte (SH f) foi novamente medida para cálculo da percentagem de perda de dureza da superfície (%SH). Concluiu-se que a adição de TMP na concentração de 0,4% em enxaguatório com concentração reduzida de F (100 µg/g) pode inibir a desmineralização do esmalte, sendo a sua ação superior a de um enxaguatório com 225 µg F/g.

Palavras-chave: Enxaguatórios. Esmalte dentário. Flúor. Trimetafosfato de sódio. Desmineralização.

ABSTRACT

ABSTRACT

FAVRETTO, C.O. **Determination of the optimal concentration of TMP in mouthwashes to inhibit the demineralization of tooth enamel: An *in vitro* study.** Trabalho de Conclusão de Curso- Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2010.

The purpose of this study was to assess the effect of adding sodium trimetaphosphate (TMP) particles to mouthwashes on the inhibition of bovine tooth enamel demineralization using a pH-cycling model. Enamel blocks (4x4mm) were obtained from bovine incisors. The enamel surfaces were sequentially polished, and those with initial surface hardness (SH) of 320-380 KHN were selected and divided into experimental groups of 10 specimens each. During a period of seven days, the bovine enamel blocks were subjected to five pH-cycles and treatment twice a day with mouthwashes. The mouthwashes presented fluoride concentrations of 0, 100 and 225 µg F/g; mouthwashes with 100 µg F/g contained TMP concentrations ranging from 0 to 0.4%. After the pH-cycling, the enamel surface hardness (SH1) was measured again to calculate the percentage loss of surface microhardness (%SH). It was concluded that mouthwashes with low F concentration (100 µg/g) and 0.4% of TMP may inhibit demineralization of enamel and their effectiveness is higher than a 225 µg F/g mouthwash.

Key-words: Mouthwah. Enamel. Fluoride. Sodium trimetaphosphate. Demineralization.

SUMÁRIO

SUMÁRIO

1- Introdução	12
2- Materiais e Métodos	13
3- Resultados	16
4- Discussão	17
5- Conclusão	18
6- Referências Bibliográficas	19

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, tem-se observado um declínio na prevalência de cárie dental, não só nos países industrializados como também em alguns em desenvolvimento. Esse fenômeno tem sido atribuído, em grande parte, à utilização de produtos fluoretados.

Os bochechos fluoretados foram introduzidos em 1946 por Bibby et al. Apesar dos primeiros trabalhos realizados não apresentarem sucesso, possivelmente pela baixa concentração de flúor na solução, o conceito de um bochecho terapêutico com flúor foi criado. A partir de 1960, estudos na Escandinávia relataram benefícios significativos através do uso de bochechos fluoretados em áreas não fluoretadas.

Trabalhos in vitro e in situ realizados recentemente mostraram que a adição de trimetafosfato de sódio (TMP) a formulações dentifrícias com concentração reduzida de flúor pode inibir a desmineralização do esmalte. Estudos sugerem que o TMP atua reduzindo o processo de desmineralização (Navia e Harris, 1969; Gonzalez, 1971; O'Mullane et al., 1997), entretanto, seu mecanismo de ação ainda não está completamente definido.

Assim, a proposta do presente trabalho foi avaliar a capacidade de formulações de enxaguatórios bucais com concentração reduzida de flúor (100 µg/g) associada ao trimetafosfato de sódio para inibir a desmineralização in vitro de esmalte dentário.

MATERIAL E MÉTODO

MATERIAL E MÉTODO

Delineamento Experimental

Para a realização deste estudo, blocos de esmalte (4x4mm) foram obtidos de dentes incisivos de bovinos mantidos em formol 2%, pH 7,0, durante 30 dias antes de qualquer procedimento experimental (Delbem e Cury, 2002). Esses blocos tiveram sua superfície de esmalte polida seqüencialmente, o que permitiu a seleção através da determinação da dureza de superfície inicial (SH_i). O delineamento experimental foi casualizado e os blocos divididos em 7 grupos experimentais de 10 espécimes cada. Os blocos foram submetidos durante 7 dias, a 5 ciclagens de pH. Os tratamentos foram realizados duas vezes ao dia com enxaguatório placebo (placebo); 100 µg F/g (100); 225 µg F/g (225); 100 + 0,05% TMP (100+0,05); 100 µg F/g + 0,10% TMP (100+0,1); 100 µg F/g + 0,2% TMP (100+0,2); 100 µg F/g + 0,4% TMP (100+0,4). Após as ciclagens de pH, a dureza de superfície do esmalte (SH_f) foi novamente medida para cálculo da percentagem de perda de dureza da superfície (%SH). Para análise estatística, foram considerados como variáveis os valores de SH_i, SH_f e %SH e como fator de variação, os enxaguatórios.

Formulação e Dosagem de F dos Enxaguatórios

Os enxaguatórios experimentais foram manipulados em laboratório com os seguintes componentes: glicerina, metil-p-hidroxibenzoato de sódio, sacarinato de sódio e água deionizada. Fluoreto de sódio (Merck®, Alemanha) foi acrescido às formulações, exceto ao grupo placebo, até uma concentração final de 100 ou 250 µg F/g. As formulações de enxaguatórios com 100 µg F/g tiveram concentrações de trimetafosfato de sódio (TMP, Sigma® - Aldrich Co., USA) de 0,00 (100); 0,05 (100+0,05); 0,10 (100+0,1); 0,2 (100+0,2) e 0,4% (100+0,4). Para fins de comparação e validação dos resultados, foram utilizados um enxaguatório experimental sem F (placebo).

Para a dosagem de F utilizou-se um eletrodo específico para íon F (9409 BN – Orion) e microeletrodo de referência (Analyser) acoplado ao analisador de

íons (Orion 720 A⁺), previamente calibrado com 5 padrões (0,25; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 µg F/mL). Foi colocado 1 mL de cada enxaguatório em balão volumétrico e o volume completado com água até 100 mL. De cada frasco foram pipetados 3 amostras. Após homogeneização, alíquotas de 0,5 mL foram pipetados em frascos J-10 em duplicata, e 0,5 mL de TISAB II foram adicionados.

Ciclagem de pH

Os blocos foram submetidos em frascos individuais durante 7 dias a cinco ciclagens de pH, à temperatura de 37°C, permanecendo os últimos dois dias em solução remineralizante (Vieira et al., 2005). Os blocos foram imersos sob agitação constante, duas vezes ao dia durante um minuto, em enxaguatório (2 mL/bloco) quando removidos das soluções desmineralizante (6 horas – Ca e P 2,0 mmol L⁻¹ em tampão acetato 0,075 mol L⁻¹, 0,04 µg F/mL em pH 4,7 – 2,2 mL/mm²) e remineralizante (18 horas – Ca 1,5 mmol L⁻¹, P 0,9 mmol L⁻¹, KCl 0,15 mol L⁻¹ em tampão cacodilato 0,02 mol L⁻¹, 0,05 µg F/mL em pH 7,0 – 1,1 mL/mm²). Os blocos foram lavados com jatos de água deionizada por 30 segundos, após serem removidos das soluções Des-Re e dentifrício/água.

Análise da dureza do esmalte

A dureza de superfície foi determinada utilizando-se o microdurômetro Micromet 5114 hardness tester (Buehler, Lake Bluff, USA e Mitutoyo Corporation, Kanagawa, Japan) com penetrador tipo Knoop, carga estática de 25 gramas e tempo de 10 segundos, e o software Buehler OmniMet (Buehler, Lake Bluff, USA). Cinco impressões, separadas entre si por uma distância de 100 µm, foram realizadas na região central de cada bloco (SH_i). Após a ciclagem de pH, realizaram-se outras cinco indentações (SH_f) distantes a 100 µm das impressões de SH_i e a percentagem de variação de dureza de superfície (%SH) calculada [%SH = ((SH_f - SH_i) / SH_i) x 100].

Análise estatística

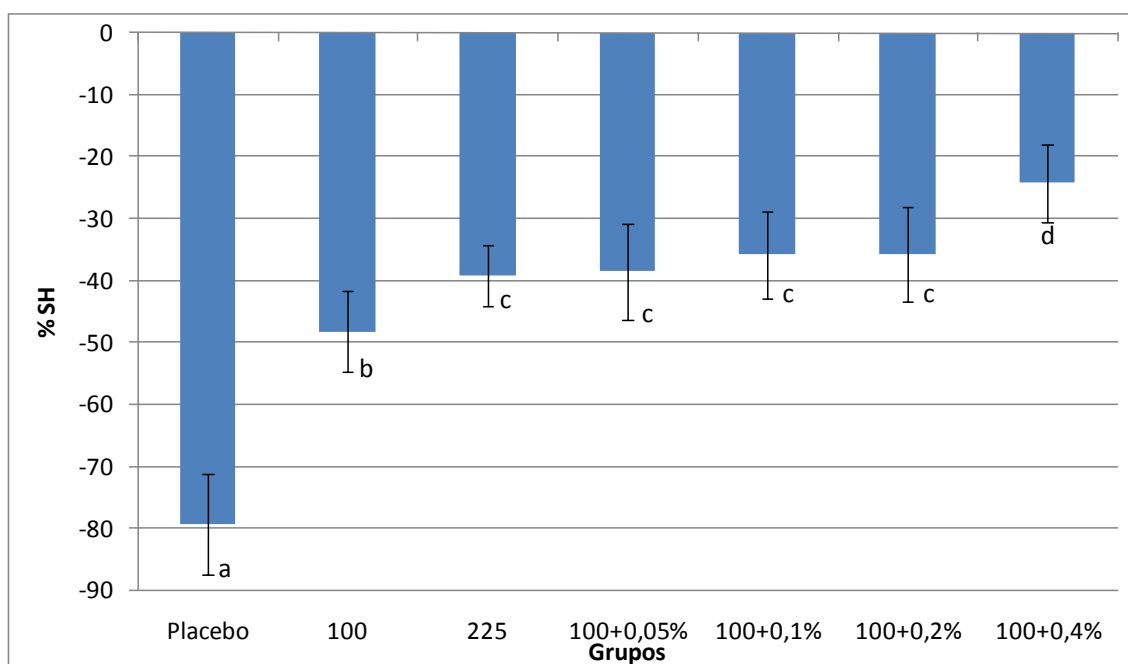
As análises foram feitas utilizando o programa BioEstat 5.0, estabelecendo o nível de significância em 5%. Os resultados de dureza de superfície (SH_i , SH_f e %SH) apresentaram distribuição normal e homogênea. Os resultados foram submetidos à análise de variância seguido pelo teste de comparação múltipla de Bonferroni.

RESULTADOS

RESULTADOS

Os valores (média \pm dp, n=3) da concentração ($\mu\text{g/g}$) de fluoreto nos enxaguatórios (placebo, 100, 225, 100+0,05, 100+0,10, 100+0,2 e 100+0,4) foram respectivamente: 1,08 \pm 0,4; 102,35 \pm 0,7; 224,81 \pm 0,5; 102,75 \pm 0,7; 103,8 \pm 0,4; 102,61 \pm 0,3; 104,34 \pm 0,7.

Com relação aos dados da %SH (Figura 1), todos os grupos mostraram uma redução significativa quando comparados ao grupo placebo ($p < 0,001$). Não houve diferença significativa entre os grupos 225, 100+0,05, 100+0,1 e 100+0,2. Os resultados mostraram que o grupo 100+0,4 apresentou menor valor quando comparado aos demais grupos ($p < 0,001$).



DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a capacidade de formulações de enxaguatórios bucais com concentração reduzida de flúor (100 µg/g) para inibir a desmineralização in vitro de esmalte dentário. Para isto, TMP foi adicionado aos enxaguatórios, já que este composto, de acordo com a literatura, melhora a ação anticárie quando associado a dentifrícios com 500 µg F/g (Takeshista et al., 2009) e 250 µg F/g (Missel, 2010).

Baseado em resultados publicados (Takeshista et al., 2009; Missel, 2010) as concentrações de TMP foram adequadas a concentração de 100 µg F/g com objetivo de inibir a desmineralização do esmalte dentário. A proporção (µg/g) de P:F em dentifrícios com 500 µg F/g apresenta uma faixa de eficácia entre 6:1 a 18:1 e com a redução da concentração de fluoreto para 250 µg/g a faixa fica entre 3:1 a 12:1, considerando a ação anticárie. De acordo com Gonzalez (1971), o TMP e o F não competem pelo mesmo sítio de ligação na superfície do esmalte, atuando de forma distinta. Entretanto, o TMP pode interferir negativamente na ação do F quando utilizado em maiores concentrações.

A adição de 0,4% de TMP foi suficiente para aumentar a capacidade do F (100 µg/g) em inibir a desmineralização do esmalte quando comparado aos grupos 100 e 225 (Figura 1). De acordo com a literatura, o TMP pode interferir com a dissolução do esmalte reduzindo a perda mineral (Gonzalez et al, 1973; McGaughey e Stowell, 1977), bem como facilitar a difusão de cátions para o interior do esmalte (van Dijk et al., 1980).

CONCLUSÃO

CONCLUSÃO

Baseado na metodologia utilizada e nos resultados, concluiu-se que a adição de TMP na concentração de 0,4% em enxaguatório com concentração reduzida de F (100 µg/g) pode inibir a desmineralização do esmalte, sendo a sua ação superior a de um enxaguatório com 225 µg F/g.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ✓ 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;15:169-172.
- ✓ Gonzalez M. Effect of trimetaphosphate ions on the process of mineralization. *J Dent Res* 1971;50:1056-1064.
- ✓ Gonzalez M, Jeansonne BG, Feagin FF. Trimetaphosphate and fluoride actions on mineralization at the enamel-solution interface. *J Dent Res* 1973; 52:261-266.
- ✓ McGaughey C, Stowell E. Effects of Polyphosphates on the solubility and mineral of HA: relevance of a rationale for anticarie activity. *J. Dent. Res* 1977; 56:579-587.
- ✓ Missel EMC. Avaliação de formulações dentifrícias com concentração reduzida de fluoreto associada ao trimetafosfato de sódio na desmineralização *in vitro* do esmalte dentário [dissertação]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista; 2010.
- ✓ Navia JM, Harris RS. Longitudinal study of cariostatic effects of sodium trimetaphosphate and sodium fluoride when fed separately and together in diets of rats. *J Dent Res* 1969; 48:183-191.
- ✓ O'Mullane DM, Kavanagh D, Ellwood RP, Chesters RK, Schafer F, Huntington E, Jones PR: A three-year clinical trial of a combination of trimetaphosphate and sodium fluoride in silica toothpastes. *J Des Res* 1997; 76:1776-1781.
- ✓ Takeshita EM, Castro LP, Sasaki KT, Delbem ACB: *In vitro* Evaluation of Dentifrice with Low Fluoride Content Supplemented with Trimetaphosphate. *Caries Res* 2009; 43:50-56.
- ✓ Van Dijk JW, Borggreven JM, Driessens FC. The effect of some phosphates and a phosphonate on the electrochemical properties of bovine enamel. *Arch Oral Biol*1980; 25:591-595.
- ✓ Vieira AE, Delbem AC, Sasaki KT, Rodrigues E, Cury JA, Cunha RF: Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. *Caries Res* 2005;39:514-520.