

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA



**Efeitos dos estimulantes gustativos de secreção salivar  
e a sua libertação de flúor – estudo piloto**

**Mariana Freitas Brito da Cruz**

MESTRADO INTEGRADO

2011

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA



**Efeitos dos estimulantes gustativos de secreção salivar  
e a sua libertação de flúor – estudo piloto**

**Mariana Freitas Brito da Cruz**

**Dissertação orientada pelo Professor Doutor Duarte Marques**

MESTRADO INTEGRADO

2011

**A ti Mãe!**

**A ti Pai!**

**A ti João!**

**A NÓS... Um brinde à Vida!!!**

**O meu muito obrigada.**

# Agradecimentos

---

Expresso os meus mais sinceros agradecimentos a todos aqueles que contribuíram para a realização do presente trabalho.

Ao Professor Doutor António Mata, pela ciência e empenho que resultam no exemplar Grupo de Investigação em Bioquímica e Biologia Oral (GIBBO) cujo o espírito científico, trabalho e dedicação não relegam a importância da união, cooperação e entajuda de todos os seus membros. Agradeço a oportunidade de ter integrado este grupo na realização da minha tese.

Ao Professor Doutor Duarte Marques, um sincero obrigada pelo modo como me recebeu e se empenhou neste meu trabalho. A sua sabedoria, exigência e prática científica foram privilégios essenciais, em que destaco a sua metodologia e conhecimentos diferenciados, fundamentais para o meu enriquecimento pessoal.

Ao Dr. Rúben Trindade, para além do apoio e compreensão que sempre me prestou, saliento a partilhar dos seus conhecimentos que tornaram possível este trabalho. As palavras dedicadas e sábias de um amigo permitiram-me uma aprendizagem que sempre me motivou.

A todos os colaboradores do GIBBO, pela forma como sempre me trataram, especialmente o fantástico grupo dos “*miúdos*” - João, Rúben, Miguel, Marta – bem como todos os outros, pela disponibilidade do seu trabalho, conhecimento e companheirismo, principalmente nas horas mais duras de protocolo laboratorial. Sem todos vós seria difícil, de certeza.

À minha família e amigos, pela compreensão que demonstraram ao longo deste trabalho, apoiando-me nas adversidades e também nos fantásticos momentos de serenidade, que me deram força para continuar. E claro, à Iziee pelas fantásticas refeições diárias e sempre tão entusiásticas.

Um sincero agradecimento.

# Índice

---

<b>Resumo</b> .....	VIII
<b>Abstract</b> .....	IX
<b>Introdução</b> .....	1
<b>Revisão bibliográfica</b> .....	2
<b>1. Saliva</b> .....	2
<b>2. Hipossalialia</b> .....	3
2.1. Etiologia.....	3
2.2. Consequências.....	4
2.3. Tratamento.....	5
<b>3. Estimulantes gustativos de secreção salivar</b> .....	7
<b>4. Flúor</b> .....	7
4.1. Doses aconselhadas.....	8
<b>Protocolo Experimental</b> .....	10
<b>1. Objetivos</b> .....	10
<b>2. Materiais e métodos</b> .....	10
2.1.Participantes.....	10
2.2.Desenho do estudo e intervenção.....	11
2.3.Procedimento.....	11
2.3.1. 1ªvisita.....	11
2.3.2. 2ªvisita.....	12
2.3.3. 3ªvisita.....	13
2.3.4. 4ªvisita.....	15
2.4.Desfechos primários.....	15
2.5.Estatística.....	15
<b>Resultados</b> .....	16
<b>Discussão</b> .....	23
<b>Conclusão</b> .....	30
<b>Bibliografia</b> .....	i

# Índice de tabelas, figuras e gráficos

---

<b>Figura 1</b> - Representação das principais funções da saliva.....	2
<b>Figura 2</b> - Diagrama de desenho do estudo.....	11
<b>Tabela 1</b> - Fatores etiológicos da hipossalivação.....	4
<b>Tabela 2</b> - Terapias de reforço salivar.....	6
<b>Tabela 3</b> - Tabela de caracterização da amostra.....	16
<b>Tabela 4</b> - Tabela de contingência relativa à ocorrência de pH salivar inferior a 5,5.....	19
<b>Gráfico 1</b> - Gráfico de barras do fluxo salivar não estimulado, estimulado mecanicamente e estimulado quimicamente.....	17
<b>Gráfico 2</b> - Fluxo salivar ao longo do tempo (20 minutos) na estimulação mecânica e na estimulação química.....	18
<b>Gráfico 3</b> - Representação da variação do pH salivar durante a estimulação química ao longo de 20 minutos.....	18
<b>Gráfico 4</b> - Gráfico de barras comparativo do tempo durante o qual o pH salivar foi inferior a 5,5 durante os 20 minutos de colheita com estimulação química.....	19
<b>Gráfico 5</b> - Representação da concentração de flúor (ppm) determinada na saliva ao longo do tempo na estimulação química.....	20
<b>Gráfico 6</b> - Libertação da quantidade de miligramas de flúor na saliva, ao longo do tempo, na estimulação química.....	21
<b>Gráfico 7</b> - Gráfico de barras dos miligramas de flúor total libertado para a saliva com a estimulação química.....	21
<b>Gráfico 8</b> - Percentagem cumulativa de flúor total libertado para a saliva ao longo dos 20 minutos durante a estimulação química.....	22

# Lista de abreviaturas

---

EGSS	Estimulantes gustativos de secreção salivar
min	Minutos
NNT	Número necessário tratar
ml.min <sup>-1</sup>	Mililitros por minuto
ppm	Partes por milhão
mg.kg <sup>-1</sup>	Miligramas por quilograma
SEM	Saliva estimulada mecanicamente
μl	Microlitros
HCL	Ácido clorídrico
mg.l <sup>-1</sup>	Miligramas por litro
IC	Intervalo de confiança
P	Nível descritivo

# Resumo

---

**Objetivos:** O presente estudo compara os efeitos produzidos por dois estimulantes gustativos de secreção salivar (EGSS) quanto à capacidade de estimulação do fluxo salivar, potencial erosivo baseado na variação de pH salivar, e quantidade de flúor libertado na saliva durante a exposição.

**Desenho do estudo:** Ensaio clínico aleatório duplamente cego – estudo piloto

**Materiais e métodos:** Uma amostra de 20 estudantes da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa, foram recrutados e distribuídos aleatoriamente por dois grupos em *cross-over*. Todos os participantes foram sujeitos ao EGSS baseado num ácido forte e a outro estimulante composto por um ácido fraco, flúor e xilitol. A colheita da saliva foi obtida pelos métodos pré-estabelecidos nos tempos definidos. Foram medidas, como características basais, as capacidade de estimulação mecânica e tamponamento dos voluntários. Posteriormente foi determinado o fluxo salivar, as variações do pH e de libertação de flúor nas amostras através de uma técnica micropotenciométrica e um microelétrodo de pH e flúor respetivamente.

**Resultados:** Os dois EGSS não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ( $P > 0,05$ ) quanto à estimulação do fluxo salivar. Comparativamente, o estimulante baseado num ácido fraco obteve, com intervalo de confiança de  $\pm 95\%$ , uma redução do risco absoluto de 25%  $[-4,64\%; 54,64\%]$  para fenómenos potencialmente erosivos e um NNT (número necessário tratar) de 4. Neste estimulante, o pico máximo de libertação de flúor foi aos 4 minutos, sendo libertado 97,09%  $[86,40\% ; 107,77\%]$  da quantidade total advogada pelo fabricante.

**Conclusão:** Os EGSS constituídos por ácido málico, flúor e xilitol mantiveram a eficácia de estimulação salivar dos estimulantes antigos, porém com diminuição do potencial erosivo. Os EGSS mais recentes apresentaram a libertação de quantidades evidentes de flúor para a saliva as quais se coadunam com possíveis efeitos protetores para os tecidos dentários.

**Palavras-chave:** estimulantes gustativos, pH, flúor, erosão dentária, hipossalivação.

# Abstract

---

**Objectives:** This study compares the effects between two different gustatory stimulants of salivary secretion (GSSS) when analysing their capacity to stimulate the salivary flow as well their erosive potential based on pH variations and fluoride quantities released in saliva during the exposition to those stimulants.

**Design:** Double blind randomized controlled trial.

**Materials and methods:** 20 students' sample from Dental Medicine University of Universidade de Lisboa were randomly recruited and distributed between two cross-over groups. All of them were body of two different GSSS applications, one composed by a strong acid and the other one containing a weaker acid, fluoride and xylitol. Salivary collection was obtained through pre-established methods during the defined timings. The capacity for mechanical stimulation and tampon of all voluntaries were measured in an individually basis. Subsequently it was determined the salivary flow, the pH variations and fluoride releases of all samples respectively through microelectrode, pH and fluoride meter technics.

**Results:** The two different GSSS didn't present any significant statistically differences ( $P > 0,05$ ) when analyzing salivary flow stimulation. Comparing both GSSS, the weaker acid, fluoride and xylitol offered an absolute risk reduction (ARR) for potential erosive phenomena's of 25% [-4,64% ; 54,64%] and an number needed to treat (NNT) of 4, within  $\pm 95\%$  confidence interval. The same GSSS endorsed a maximum fluoride release point at the 4 minutes, being emitted 97,09% [86,40% ; 107,77%] of the total quantity announced by the producer.

**Coclusion:** The GSSS containing the weaker acid, fluoride and xylitol maintained the salivary stimulation efficiency like older stimulators meanwhile it diminishes the erosive potential. The newest GSSS presented a release of significant fluoride quantities into saliva that go ahead with the possible protector effects of fluoride in dental tissues.

**Key words:** gustatory stimulants, pH, fluoride, dental erosion, hyposalivation

# Introdução

---

O papel preponderante da saliva na cavidade oral baseia-se nas suas múltiplas funções, definindo-a como o principal fator de proteção dos tecidos orais (Amerongen & Veerman, 2002). Tal fato permite afirmar que a secreção salivar em quantidades fisiológicas é fundamental para a saúde oral (Tschoppe *e col.*, 2010).

Nos dias de hoje, a diminuição da secreção salivar, ou hipossalialia, tem vindo a aumentar a sua prevalência e produz alterações que podem conduzir a complicações graves. É de salientar que as principais queixas destes doentes estão relacionadas com sintomas que interferem na qualidade de vida (xerostomia, desconforto e secura das mucosas) (Nieuw Amerongen & Veerman, 2003; Li *e col.*, 2007; Cho *e col.*, 2010; Rhodus, 2010).

Com o objetivo de minorar as complicações decorrentes da hipossalivação, surgem os estimulantes gustativos de secreção salivar (EGSS), como o SST<sup>®</sup> (Sinclair Pharm Plc, Godalming, UK). Estes compostos não possuem açúcar na sua constituição para diminuir o seu potencial cariogénico, porém são constituídos por ácidos, alguns dos quais apresentam potencial erosivo intrínseco para a estrutura dentária (Featherstone & Lussi, 2006; Gambon *e col.*, 2007). Neste contexto, foi desenvolvido um novo EGSS – Xeros<sup>™</sup> (Dentaid<sup>®</sup>, Cerdanyola, Spain), com o intuito de aumentar o fluxo salivar sem afetar os tecidos orais (Jensdottir *e col.*, 2007). Este EGSS é composto por um ácido fraco e adicionado flúor e xilitol (da Mata *e col.*, 2009) com o objetivo de contrariar o potencial cariogénico e erosivo proporcionado pela diminuição de pH existente (Lussi, 2006).

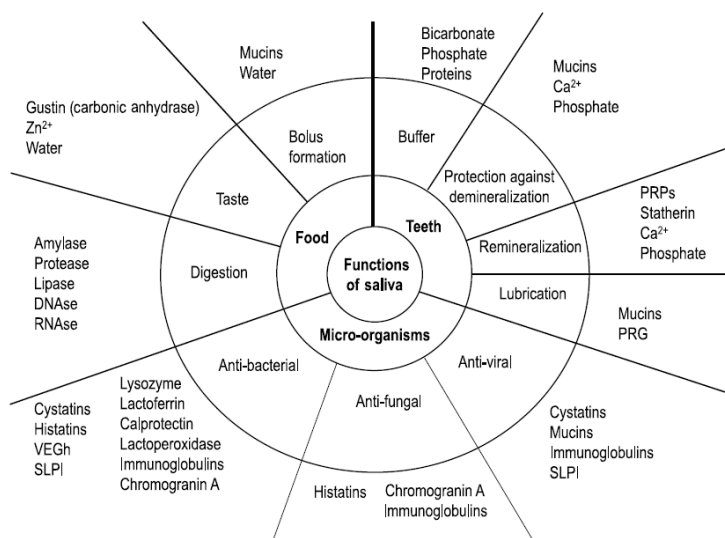
A inexistência de estudos comparativos dos efeitos e consequências da utilização dos EGSS associada à sua libertação de flúor, propiciou a realização desta monografia. A revisão bibliográfica sintetiza o conceito de hipossalivação, a importância dos EGSS, bem como a sua associação ao xilitol e flúor. No trabalho experimental foram comparados os efeitos dos dois EGSS, o Xeros<sup>™</sup> e o SST<sup>®</sup>, quanto ao fluxo e pH salivar, baseado no estudo de Mata *e col.*, 2009. Associado a estes resultados e como estudo piloto, foi determinada a quantidade de flúor libertado por comprimido e a respetiva capacidade potenciadora de fenómenos protetores, sem riscos na sua ingestão.

# Revisão bibliográfica

## 1. Saliva

A saliva é secretada maioritariamente pelos três pares de glândulas salivares *major*: parótidas, sub-linguais e sub-mandibulares, estando descrita como o principal fator protetor da cavidade oral (Fox, 2004; Vissink *e col.*, 2004; Lajer *e col.*, 2009).

A sua importância deve-se à participação em variados eventos (Figura 1). O seu papel singular na lubrificação dos tecidos orais (Stookey, 2008), formação do bolo alimentar ou até mesmo no controlo microbiano do ecossistema oral, atribuem-lhe um carácter biológico fundamental (Vissink *e col.*, 2004; Garcia-Godoy & Hicks, 2008). Do mesmo modo, a saliva intervém em fenómenos que promovem a diluição e tamponamento dos ácidos, propiciando a remineralização dentária e, conseqüentemente, a prevenção da erosão e cárie dentária (Meurman & Frank, 1991; Moss, 1998; da Mata *e col.*, 2009).



**Figura 1** - Representação das principais funções da saliva em relação aos seus constituintes. Retirado de Amerongen & Veerman, 2002.

Conseqüentemente, ao desempenhar um papel de extrema importância, a secreção salivar em quantidades fisiológicas é fundamental para a saúde oral (Tschoppe *e col.*, 2010).

## 2. Hipossialia

A definição de xerostomia é estabelecida pela sensação subjetiva de boca seca (Nieuw Amerongen & Veerman, 2003; Tschoppe *e col.*, 2010; Visvanathan & Nix, 2010), enquanto a hipossialia baseia-se numa diminuição objetiva do fluxo salivar (Vissink *e col.*, 2004; Lajer *e col.*, 2009; Zandim *e col.*, 2010). Esta distinção é importante em pacientes xerostômicos, uma vez que estes podem não apresentar evidência clínica objetiva de hiposalivação (Visvanathan & Nix, 2010).

A prevalência da hipossialia a nível mundial é de 21% para os homens e 27% para as mulheres, afetando predominantemente indivíduos a partir da meia-idade (Visvanathan & Nix, 2010).

Para o seu diagnóstico, é fundamental ter presente que o fluxo salivar varia de pessoa para pessoa, e pode ser influenciado por inúmeros fatores dos quais se destacam o grau de hidratação, a posição do corpo, o ritmo circadiano ou o tamanho das glândulas salivares major (Tschoppe *e col.*, 2010). Num indivíduo saudável, a secreção diária salivar média varia entre 1-1,5 L, sendo o fluxo salivar considerado normal de 0,1-1ml de saliva não estimulada por minuto ( $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ) (Scully, 2003).

Dos vários critérios clínicos usados para determinar a existência de hiposalivação, aquele que atualmente é mais aceite a nível mundial baseia-se numa diminuição do fluxo salivar para valores inferiores a  $0,1\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$  para a saliva não estimulada, e valores inferiores a  $0,5\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$  para a saliva estimulada (Cho *e col.*, 2010).

Apesar deste tipo de patologias serem menosprezadas no quotidiano, a hiposalivação poderá ter um grande impacto na qualidade de vida do paciente (Vissink *e col.*, 2004; Li *e col.*, 2007).

### 2.1. Etiologia

A atividade das glândulas salivares pode ser afetada por diferentes condições. Os fatores etiológicos da hiposalivação enquadram-se em dois grandes grupos: o das doenças sistémicas e o das causas iatrogénicas (Tabela 1) (Scully, 2003; Fox, 2004; Lajer *e col.*, 2009; Visvanathan & Nix, 2010).

- Iatrogenic
  - Drugs
  - Irradiation
  - Graft vs host disease
- Disease
  - Salivary gland disease
    - Salivary aplasia (agenesis)
    - Sjogren's syndrome
  - Sarcoidosis
  - Cystic fibrosis
  - Primary biliary cirrhosis
- Infections
  - HIV
  - Hepatitis C
  - Human T lymphotropic virus 1 (HTLV-1)
- Dehydration
- Psychogenic

**Tabela 1** – Fatores etiológicos da hipossalivação. Retirado de Scully, 2003.

Segundo vários autores, causas iatrogênicas são as mais comuns, entre elas, o dano causado nas glândulas salivares por radiação ionizante (Hong *e col.*, 2010) e a medicação atualmente utilizada (Cho *e col.*, 2010) pela existência de mais de 500 medicamentos que aumentam o risco, ou estão associados à hipossalivação (Visvanathan & Nix, 2010).

Entre as causas sistêmicas de disfunção salivar, as situações de aplasia ou agenesia das glândulas salivares são raras (Tschoppe *e col.*, 2010). No entanto, causas como inflamação crônica das glândulas, Síndrome de Sjögren, desidratação, fatores psicológicos, interferências na transmissão nervosa são comuns na origem desta patologia (Tschoppe *e col.*, 2010; Visvanathan & Nix, 2010) .

É fundamental enquadrar a etiologia da hipossalivação, por se refletir nos sintomas resultantes de xerostomia com diferentes graus de desconforto (Cho *e col.*, 2010).

## 2.2. Consequências

Em pacientes com hipossalivação, todas as funções da saliva ficam comprometidas, não apenas pela diminuição do fluxo salivar, mas também, por alterações das concentrações salivares dos respectivos eletrólitos (Stookey, 2008; Tschoppe *e col.*, 2010; Visvanathan & Nix, 2010).

As queixas principais destes doentes são atribuídas à diminuição da qualidade de vida por sensação de boca seca e desconforto oral (Li *e col.*, 2007; Cho *e col.*, 2010) (Nieuw Amerongen & Veerman, 2003; Rhodus, 2010).

Na saúde oral estes pacientes podem apresentar outras complicações entre as descritas, como o aumento de infecções orais, particularmente as fúngicas; dor e friabilidade da mucosa; halitose (Cho *e col.*, 2010); alterações na percepção do sabor (disgeusia) e olfato (hiposmia); dificuldades em mastigar, engolir e falar, todas estas perceptíveis pelo doente (Fox, 2004).

Porém, é de salientar que associado à diminuição do fluxo salivar, os fenómenos de auto limpeza, remineralização, tamponamento e propriedades antimicrobianas da saliva ficam também diminuídos (Fox, 2004; Zandim *e col.*, 2010). Estas alterações conduzem ao comprometimento do nível de saturação e integridade da superfície dentária, (Gonzalez-Cabezas, 2010) apresentando, por isso, um risco aumentado para cárie e erosão dentária (Lajer *e col.*, 2009).

Nestes pacientes, aquando da diminuição do pH para valores críticos (abaixo de 5,5) (Garcia-Godoy & Hicks, 2008) propicia-se um desequilíbrio do processo dinâmico de desmineralização/ remineralização, levando à dissolução do esmalte (Tschope *e col.*, 2010) e dentina por processos químicos que envolvem ou não bactérias, respetivamente cárie e erosão dentária (Lajer *e col.*, 2009).

### **2.3. Tratamento**

Num esforço de diminuir as complicações e consequências decorrentes da diminuição de secreção salivar, para além das indicações universais cedidas aos pacientes, como evitar bebidas alcoólicas, tabaco e café (Garg & Malo, 1997; Visvanathan & Nix, 2010) associadas à manutenção de uma adequada hidratação, nutrição (Nieuw Amerongen & Veerman, 2003) e higiene oral, variadas outras terapias têm sido propostas (Tabela 2) (Fox, 2004). Estas terapias podem ser locais/tópicas ou sistémicas dependendo da sua forma de aplicação (Fox, 2004; Vissink *e col.*, 2004).

Local/topical secretagogues  
 Gustatory stimulation  
 Masticatory stimulation  
 Oral rinses, gels, mouthwashes, artificial saliva  
 Anhydrous crystalline maltose  
 Acupuncture  
 Systemic secretagogues  
 Pilocarpine HCl  
 Cevimeline HCl  
 Interferon  $\alpha$   
 Bromhexine  
 Anethole trithione  
 Traditional Asian mixtures  
 Essential fatty acids  
 LongoVital®  
 Yohimbine  
 Infliximab

**Tabela 2** – Terapias de reforço salivar. Retirado de Fox, 2004.

Os substitutos salivares são utilizados como terapia paliativa quando não é possível a estimulação salivar (Nieuw Amerongen & Veerman, 2003; Vissink *e col.*, 2004; Rhodus, 2010; Visvanathan & Nix, 2010). Estes não providenciam o restabelecimento da maioria das funções da saliva, fundamentam a sua ação na cavidade oral pela lubrificação e atividade antimicrobiana, porém estão associados a um grande potencial de desmineralização (Tschoppe *e col.*, 2010).

Assim, em pacientes que mantêm a capacidade secretória ao nível das glândulas salivares, é altamente recomendada a sua estimulação (Nieuw Amerongen & Veerman, 2003; Rhodus, 2010). A administração sistêmica de sialogogos, como a pilocarpina e a cemivelina, apresenta elevada eficácia, porém como terapia farmacológica revelam contraindicações, interações medicamentosas e efeitos secundários que limitam a sua utilização (Tschoppe *e col.*, 2010; Visvanathan & Nix, 2010). Neste contexto, e baseado no fato de se tratar de uma terapêutica paliativa, surgiram os estimulantes locais gustativos e mecânicos (Nieuw Amerongen & Veerman, 2003; Vissink *e col.*, 2004).

No processo de estimulação gustativa e mecânica, a composição salivar é modificada pelo aumento da concentração de proteínas, dos iões sódio, cloreto e bicarbonato e diminuição dos iões potássio e fosfato. Estas alterações salivares apresentam-se acentuadas ao nível da estimulação gustativa (Jensdottir *e col.*, 2005). No entanto, por si só, o aumento do fluxo salivar nestes pacientes vai permitir, ao nível dos tecidos dentários, a neutralização dos ácidos, o aumento do pH da película dentária e o favorecimento da remineralização (Stookey, 2008).

### 3. Estimulantes gustativos de secreção salivar

Como expresso anteriormente, a saliva fisiológica é a melhor forma de proteger os tecidos orais (Vissink *e col.*, 2004). Deste modo as terapias de estimulação da secreção salivar apresentam grandes benefícios em pacientes que mantêm função residual das glândulas salivares (Garg & Malo, 1997; Tschoppe *e col.*, 2010), ao permitirem o aumento da quantidade de saliva natural e, conseqüentemente a maximização das funções protetoras (Fox, 2004).

Assim, surgiram os estimulantes gustativos de secreção salivar (EGSS). Estes são compostos tradicionalmente por diferentes ácidos fortes (cítrico, acético), como o SST<sup>®</sup>, que apesar de não possuírem açúcar na constituição, apresentam-se prejudiciais pelo seu potencial erosivo intrínseco (Featherstone & Lussi, 2006; Gambon *e col.*, 2007; Visvanathan & Nix, 2010; Zandim *e col.*, 2010).

Recentemente surgiu um novo EGSS (Xeros<sup>™</sup>). O fabricante advoga que, ao contrário dos seus concorrentes, é baseado num ácido fraco (ácido málico) ao qual ainda foi adicionado na sua composição flúor e xilitol (da Mata *e col.*, 2009; da Silva Marques *e col.*, 2011), sugerindo que apesar de conduzir à diminuição do pH, o seu potencial erosivo está diminuído (Lussi, 2006).

### 4. Flúor

O papel relevante do flúor na saliva é descrito por influenciar o modelo cíclico do pH (Naumova *e col.*, 2010) limitando os fenómenos de desmineralização dentária e potenciando a remineralização (Garcia-Godoy & Hicks, 2008; Gonzalez-Cabezas, 2010). Diversos autores referem ainda a sua capacidade antibacteriana ao inibir os processos metabólicos que levam à produção de ácidos pelas bactérias cariogénicas (Reich *e col.*, 2002; Lynch *e col.*, 2004; Browne *e col.*, 2005; Dentistry, 2008).

No processo de remineralização, a formação de hidroxiapatite fluoretada por incorporação do flúor nos cristais, origina um mineral mais resistente ao ataque ácido (Lynch *e col.*, 2004; Gonzalez-Cabezas, 2010), diminuindo o pH crítico, para fenómenos de desmineralização dentária, de 5,5 para um pH = 4,7 (Larsen & Pearce, 2003). Estes efeitos permitem a diminuição das conseqüências resultantes de um ambiente acidogénico (Garcia-Godoy & Hicks, 2008), com diminuição na destruição da

estrutura dentária (Lynch *e col.*, 2004). Assim, o flúor é considerado o agente mais potente com influência nos processos de desmineralização e remineralização num determinado pH (Aoba & Fejerskov, 2002).

#### **4.1. Doses aconselhadas**

Após administração na cavidade oral, o flúor é gradualmente disponibilizado pelos reservatórios orais, mantendo-o disponível na saliva e biofilme dentário (Vogel *e col.*, 2006).

A concentração encontrada na saliva, mesmo após a escovagem dos dentes, é reduzida (0,02 – 0,1 ppm) (Larsen & Pearce, 2003; Lynch *e col.*, 2004). Ten Cate & Duijsters referem que concentrações salivares de flúor de 0,1 ppm conferem proteção contra a desmineralização num pH=4,5 e a completa inibição da mesma em concentrações de 2 ppm (ten Cate & Duijsters, 1983; Lynch *e col.*, 2004). Sob o ponto de vista bacteriano são necessários 10 ppm de flúor para inibir o seu metabolismo (Tenuta & Cury, 2010). Independentemente do modo de atuação, pequenos aumentos da concentração de flúor na saliva, 0,2 ppm (Lynch *e col.*, 2004), parecem ter grande efeito nos processos de desmineralização e remineralização dentária (Vogel *e col.*, 2006).

A aplicação do flúor, apesar de documentada como segura e altamente efetiva, deve ser ponderada (Dentistry, 2008), sendo o grande paradigma a maximização dos seus benefícios com minimização dos efeitos colaterais (Aoba & Fejerskov, 2002).

A administração incorreta de flúor pode resultar em toxicidade aguda ou crônica (Opydo-Szymaczek & Opydo, 2010; Tenuta & Cury, 2010). Os casos de toxicidade aguda são raros em Medicina Dentária, sendo a dose crítica diária de 35-70 mg de flúor por kg de peso (mg/kg) nos adultos e 3-16 mg/kg em crianças (Newbrun, 1987; Dhar & Bhatnagar, 2009). Sintomas da toxicidade aguda ocorrem de forma rápida, com dor difusa abdominal, diarreia e vômitos entre outros (Dhar & Bhatnagar, 2009).

Concomitantemente, a cronicidade de ingestão de pequenas quantidades de flúor, porém excessivas, pode ser associada a efeitos adversos como fluorose dentária e óssea (Borysewicz-Lewicka *e col.*, 2007; Dentistry, 2008; Barbier *e col.*, 2010; Villa *e col.*, 2010).

A fluorose dentária tem sido associada à toma cumulativa de flúor durante o desenvolvimento do esmalte dentário (Ismail & Hasson, 2008), dependendo a sua

severidade da dose, duração ou tempo de consumo (Dentistry, 2008). Esta patologia ocorre, na maioria dos casos, em zonas em que a água é fluoretada (Aoba & Fejerskov, 2002; Ammari *e col.*, 2003). Apesar do consenso de que altas concentrações de flúor causam alterações durante a maturação dentária, não se sabe ao certo as quantidades necessárias de ingestão (Aoba & Fejerskov, 2002), sendo que a quantidade de flúor ingerida na pasta de dentes não deve exceder 0,02 – 0,04 mg/kg por cada dia (Browne *e col.*, 2005).

A fluorose óssea ocorre quando células ósseas são afetadas (Barbier *e col.*, 2010), por altos níveis de ingestão de flúor que vão desde 2 - 8 mg de flúor por dia, ou com consumo de água com 8 ppm de flúor a longo prazo (Browne *e col.*, 2005). Estas quantidades levam ao aumento gradual da densidade óssea com aumento da fragilidade, deformações óssea com endurecimento das articulações e dor associada a alterações estruturais e funcionais. A severidade dos sintomas está relacionada com o nível e duração da exposição (Dhar & Bhatnagar, 2009).

Após esta sistematização, é de salientar a necessidade de aumentar o fluxo salivar em pacientes com hipossalivação, mantendo a eficácia de tamponamento proporcionada pela saliva e evitando assim os fenómenos de desmineralização dentária (Jensdottir *e col.*, 2007). Surge então a necessidade da realização deste estudo piloto, com intuito de obter resultados preliminares relativos à real eficácia secretória, potencial erosivo e possíveis efeitos benéficos ou deletérios da libertação de flúor obtida por dois produtos: Xeros<sup>TM</sup>, constituído por ácido málico, flúor e xilitol e SST<sup>®</sup> baseado em ácido cítrico.

# Protocolo experimental

---

## 1. Objetivos

O objetivo deste estudo é comparar os efeitos de dois estimulantes gustativos de secreção salivar (EGSS) - o Xeros<sup>TM</sup> e o SST<sup>®</sup>, quanto à sua capacidade de estimulação do fluxo salivar, verificando a quantidade de flúor libertado durante a exposição a estes estimulantes, e ainda o seu potencial erosivo baseado na variação de pH salivar.

Para alcançar estes objetivos é proposto a realização deste estudo piloto numa população sistemicamente saudável e com fluxo salivar dentro dos parâmetros considerados como saudáveis, de modo a obter resultados preliminares que permitam a elaboração de um modelo experimental numa população hipossialica com a dimensão do tamanho da amostra calculado através dos resultados obtidos preliminarmente.

As hipóteses do estudo são:

- Existe uma diferença significativa na capacidade de estimulação secretória na utilização dos dois EGSS.
- Existe uma diferença significativa na variação do pH salivar na utilização dos dois EGSS.
- Existe uma diferença significativa na quantidade de flúor libertado na saliva durante a utilização dos dois EGSS.

## 2. Materiais e métodos

### 2.1 Participantes

Um grupo de 20 pacientes recrutados da população de estudantes da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa. Como critérios de inclusão, foram selecionados voluntários saudáveis, maiores de 18 anos, e sem nenhuma doença sistémica ou a realizar qualquer medicação que induza a hipossalivação. O fluxo salivar destes pacientes encontra-se dentro da média do considerado fisiológico, sendo o fluxo de saliva não estimulada maior que  $0,1 \text{ ml.min}^{-1}$  e o de saliva estimulada mecanicamente maior que  $0,5 \text{ ml.min}^{-1}$  (Tschope *e col.*, 2010). A distribuição foi aleatória para a primeira colheita, tendo todos os voluntários experimentado os EGSS

dos dois grupos. Todos os participantes no estudo assinaram um consentimento informado. O protocolo foi realizado no laboratório do Grupo de Investigação de Biologia e Bioquímica Oral (GIBBO) na Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa. O processo de recolha e tratamento da saliva foi também realizado neste laboratório pelos investigadores.

## 2.2. Desenho do estudo e intervenção

Este estudo é um ensaio clínico aleatório duplamente cego com dois grupos em “*cross-over*”, apresentando-se como um estudo piloto realizado entre março e abril de 2011.

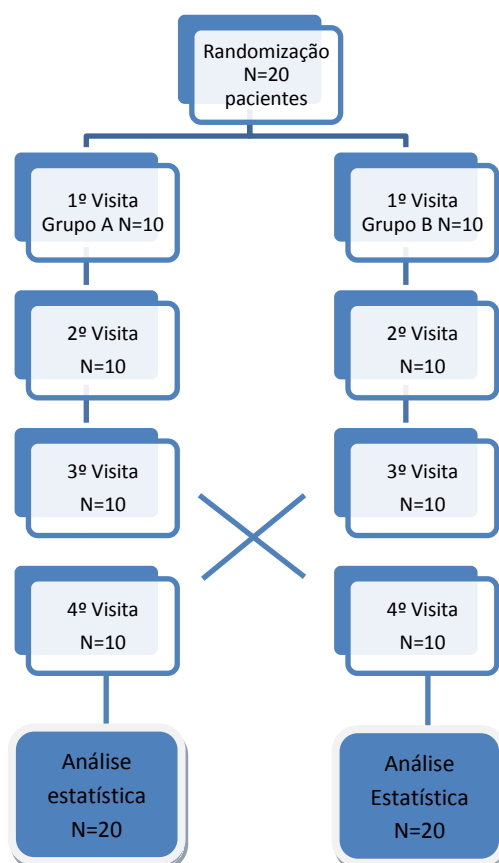


Figura 2 - Diagrama representativo do desenho do estudo.

## 2.3. Procedimentos

### 2.3.1. 1ª Visita

Os dois estimulantes gustativos de secreção salivar foram transferidos, por uma pessoa externa ao estudo, para dois frascos idênticos etiquetados com A e B, contendo respetivamente o estimulante Xeros<sup>TM</sup> e o SST<sup>®</sup>. Foram verificados os critérios de

inclusão para cada um dos pacientes. Os 20 pacientes foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos para determinar qual dos produtos realizaram em primeiro lugar – A e B, de acordo com o “*software*” de aleatorização obtido (GraphPad QuickCalcs Web site: <http://www.graphpad.com/quickcalcs/randomize1.cfm>). O código de distribuição dos voluntários por cada grupo foi aleatório, tendo sido armazenado num envelope opaco mantido em lugar seguro o código dos produtos correspondentes. O grupo A foi sujeito na 3ª visita ao comprimido A, e na 4ª visita o comprimido B. No grupo B seguiu-se a ordem inversa. Os resultados foram analisados estatisticamente por um operador cego ao estudo, sendo os produtos referidos apenas como A e B no programa SPSS (SPSS V. 16, Inc, Chicago, IL). Após finalização da análise estatística, o envelope que continha o código dos produtos foi aberto e constatado que o produto A correspondia ao Xeros<sup>TM</sup> e o produto B correspondia ao SST<sup>®</sup>.

Os participantes do estudo foram instruídos para, em cada consulta, estarem presentes no laboratório entre as 15h e as 17h, não comerem nem beberem (exceto água) nas 2 horas anteriores. Os dentes eram escovados após chegada ao laboratório, pelo menos 1 hora antes da realização da colheita de saliva, com o auxílio de uma escova manual de dureza média com pasta de dentes incorporada (Escovas Magic, Akzenta, Alemanha), fornecida pelos investigadores. Estes cuidados permitiram minimizar o maior número possível de interferências resultantes da variabilidade da composição salivar. Foram ainda informados da forma da colheita de saliva, sendo que cada paciente esteve sentado de olhos abertos, com a cabeça ligeiramente inclinada para a frente e para baixo, e sem falar.

### **2.3.2. 2ª Visita**

Procedeu-se à escovagem dos dentes com uma escova manual de dureza média, com pasta de dentes incorporada (Escovas Magic, Akzenta, Alemanha), disponibilizada pelos investigadores, aguardando uma hora até as colheitas salivares. Nesta visita, foi recolhida a saliva não estimulada (volume basal) em 5 minutos (min) e a saliva estimulada mecanicamente com o auxílio de uma pastilha de parafina (CRT Buffer, Ivoclar-Vivadent<sup>®</sup>, Lichenstein) durante 20 minutos, pelos métodos a seguir descritos. Em primeiro lugar, procedeu-se, à recolha da saliva não estimulada (fluxo basal), da seguinte forma: os voluntários engoliam toda a saliva que continham na boca, iniciando-se a contagem do tempo, e durante 5 minutos deixavam acumular toda a saliva no

interior da boca (sem cuspir, nem engolir). No final cuspiam para o interior de um tubo Falcon de 15ml pré-pesado. De seguida, procedeu-se à colheita de saliva estimulada mecanicamente durante 20 minutos. Os voluntários engoliam toda a saliva que continham na boca e colocavam a pastilha de parafina na cavidade oral, restabelecendo-se o tempo a 0', no qual o cronómetro começava a contar. Eram instruídos para mastigar a pastilha e deixar acumular toda saliva (sem cuspir, nem engolir) durante 2 minutos, no interior da boca. Ao fim desse tempo cuspiam para o interior do respetivo tubo Falcon facultado e pré-pesado, repetindo-se este procedimento nos tempos controlados pelo investigador com o cronómetro (2', 4', 6', 8', 10', 15' e 20 minutos) para outros tubos Falcon também pré-pesados.

Nesta visita foi determinado o fluxo salivar não estimulado e o estimulado mecanicamente. Assim, após o procedimento de recolha todos os tubos Falcon foram novamente pesados e dada a alta correlação entre volume e peso da saliva, foram calculados o volume e fluxos salivar basal e mecânico.

Foi ainda determinada a capacidade tampão da saliva pelo método de Mata *e col* (da Mata *e col.*, 2009) o qual é uma modificação do método de Kitasako (Kitasako, 2005). Para este fim foi utilizado o micropotenciómetro de pH GLP 22<sup>+</sup> (Crison<sup>®</sup>, Barcelona, Spain) associado ao microeléctrodo INLAB 423 (Metler Toledo<sup>®</sup>, OH, USA). Após determinação do fluxo salivar estimulado mecanicamente, reuniu-se num tubo Falcon de 50 ml a saliva estimulada mecanicamente (SEM) dos primeiros 6 minutos da colheita. Esta solução foi homogeneizada no vortex durante 15 segundos, tendo-se retirado 500µL para um eppendorf (Eppendorf, Hamburg, Germany) e adicionado 50µL de ácido clorídrico (HCL) 0,1N. Após nova homogeneização, foram realizadas 3 medições de pH para cada solução, calculando-se a média aritmética destes valores. De acordo com o valor obtido, foi atribuído a cada paciente uma classificação qualitativa da capacidade tampão: Alta (pH≥5,5), Média (pH entre 5,5 e 4,5) ou Baixa (<4,5) (Kitasako, 2005).

### **2.3.3. 3ª Visita**

Quando chegaram ao laboratório, os pacientes foram novamente instruídos para escovar os dentes como uma escova manual de dureza média com pasta de dentes incorporada (Escovas Magic, Akzenta, Alemanha), disponibilizada pelos investigadores, e esperaram uma hora até à realização das colheitas.

Nesta visita foram recolhidas as salivas não estimulada (volume basal) em 5 minutos, e a estimulada quimicamente com o EGSS pré-definido pela distribuição aleatória, durante 20 minutos. Aos voluntários do grupo A foi atribuído o comprimido A e aos do grupo B o comprimido B.

Em primeiro lugar, procedeu-se, à recolha da saliva não estimulada (fluxo basal), sendo este procedimento realizado de igual forma ao da 2ª visita. De seguida, procedeu-se à recolha de saliva estimulada quimicamente durante 20 minutos. Os voluntários engoliam toda a saliva que continham na boca e colocavam um dos comprimidos no dorso da língua, iniciando-se a contagem do cronómetro. O comprimido dissolve-se no decorrer da colheita, tendo os voluntários sido instruídos para fazerem sinal ao monitor de investigação quando ocorresse dissolução completa do comprimido. Deixavam então acumular toda saliva no interior da boca durante 2 minutos, sem cuspir nem engolir. Ao fim desse tempo cuspiam para o interior do tubo Falcon facultado e pré-pesado, repetindo-se este procedimento nos tempos controlados pelo investigador com o cronómetro (2', 4', 6', 8', 10', 15' e 20 minutos) para outros tubos Falcon pré-pesados.

Nesta visita foi determinado o fluxo salivar não estimulado e o estimulado quimicamente com o respetivo EGSS. Após o procedimento de recolha, todos os tubos Falcon foram novamente pesados, e dada à alta correlação entre volume e peso da saliva foi calcular fluxo salivar basal e o estimulado quimicamente, em  $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ .

Posteriormente, foi determinado em todas as amostras o pH salivar com o micropotenciómetro de pH GLP 22+ (Crison<sup>®</sup>, Barcelona, Spain) associado ao microeléctrodo INLAB 423 (Metler Toledo<sup>®</sup>, OH, USA). A calibração do micropotenciómetro ocorreu de acordo com as instruções do fabricante, com recurso a soluções tampão. Para cada amostra foram realizadas três medições, sendo os valores obtidos em intervalos de 20 segundos, e calculada a média aritmética. O potencial erosivo foi determinado pela quantidade de tempo de exposição (em minutos) no qual o pH salivar é inferior a 5,5.

De seguida, e também em todas as amostras, foi medida a concentração de flúor com o potenciómetro GLP 22+ (Crison<sup>®</sup>, Barcelona, Spain) acoplado a um eléctrodo de ião seletivo de flúor DC219-F (Mettler Toledo<sup>®</sup>, OH, USA). A calibração do aparelho foi realizada no início de cada dia de medições, através de uma regressão linear da curva

de calibração transformada em concentração de ppm. Baseado em ensaios preliminares da dissolução dos comprimidos contendo flúor, foram usadas 4 curvas de calibração, preparadas através de uma solução padrão de fluoretos 1000 ppm (Reagecon, Thermo Electron Corp., USA). Em qualquer medição da concentração de flúor foi adicionado uma solução de ajuste da força iónica, neste caso o TISAB-III (Mettler Toledo<sup>®</sup>, OH, USA) 10:1, na proporção de 1 ml de amostra para 0,1 ml de TISAB-III. Para a medição da concentração de flúor realizaram-se duas medições em cada amostra e calculou-se a média aritmética obtendo um resultado em ppm ( $\text{mg.L}^{-1}$ ).

#### **2.3.4. 4ª Visita**

Quando chegaram ao laboratório os pacientes foram instruídos para escovar os dentes, como a escova do tipo já referido, e esperaram uma hora até à realização das colheitas. Nesta visita foi recolhida a saliva não estimulada em 5 minutos e a saliva estimulada quimicamente durante 20 minutos com o EGSS contrário ao da 3ª visita. Todo o protocolo de recolha, bem como os procedimentos de análise das amostras, foram iguais aos da 3ª visita.

### **2.4. Desfechos Primários**

As variações do pH resultantes da utilização dos EGSS foram indicadas como média e intervalo de confiança (IC) de +/- 95%, e calculadas através dos valores de pH salivares das amostras recolhidas nos tempos pré-estabelecidos. Os minutos em que o pH salivar foi inferior a 5,5 foram indicados como média e +/- 95% IC.

Os fluxos salivares expressos em  $\text{ml.min}^{-1}$ , com +/-95% IC, foram calculados pela média dos volume obtidos na totalidade amostras. O fluxo salivar estimulado quimicamente foi determinado com os volume obtido até à total dissolução do comprimido.

O flúor libertado na saliva foi determinado com +/-95%IC, pela média das concentrações obtidas nas amostras em ppm, dividido pelo volume total das mesmas.

### **2.5. Estatística**

Todas as análises estatísticas foram realizadas segundo um programa pré-definido. Os resultados e a análise foram determinados recorrendo-se a “*software*” de análise estatística apropriado (SPSS v.16, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

# Resultados

## Caracterização da amostra

Um total de 20 pessoas foram selecionadas para participar neste estudo piloto. Foram distribuídos aleatoriamente por um dos dois grupos em estudo e seguidos até ao final do estudo, embora todos os voluntários experimentassem os dois EGSS - A e B uma vez que o estudo apresentava um desenho em *cross-over*. Não ocorreram desistências. As características dos 20 voluntários foram indicadas como média e intervalo de confiança de +/- 95% (Tabela 3). O Teste *t* de Student foi realizado com o intuito de comparar as variáveis entre todos os voluntários. Não se observaram diferenças estatísticas significativas ( $P > 0,05$ ) quanto às características basais dos voluntários independentemente do género.

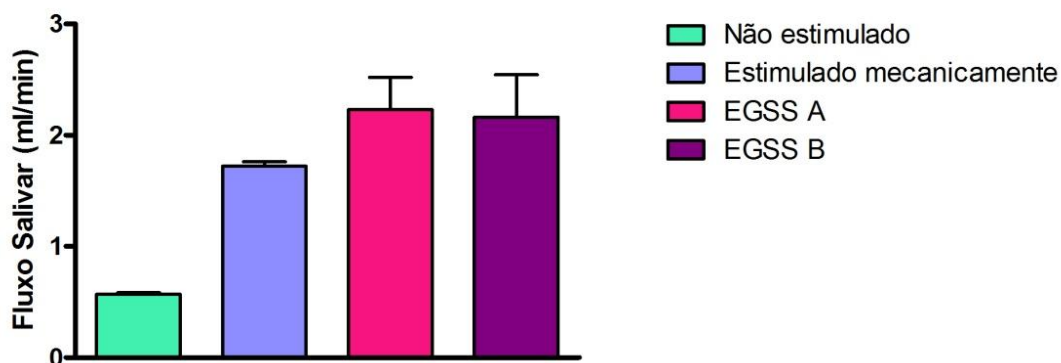
	Género		Total
	Feminino	Masculino	
	14	6	
<b>Idade</b>	24,14 [23,65; 24,63]	22,83 [20,90; 24,76]	23,75 [23,10; 24,40]
<b>Fluxo não estimulado (ml/min)</b>	0,54 [0,46; 0,62]	0,63 [0,46; 0,80]	0,56 [0,50; 0,64]
<b>Fluxo estimulado mecanicamente (ml/min)</b>	1,75 [1,51; 2,00]	1,65 [1,51; 1,79]	1,72 [1,55; 1,89]

**Tabela 3** – Tabela de caracterização da amostra com resultados indicados sobre a forma de média e intervalo de confiança (IC) de +/- 95 %.

## Secreção salivar

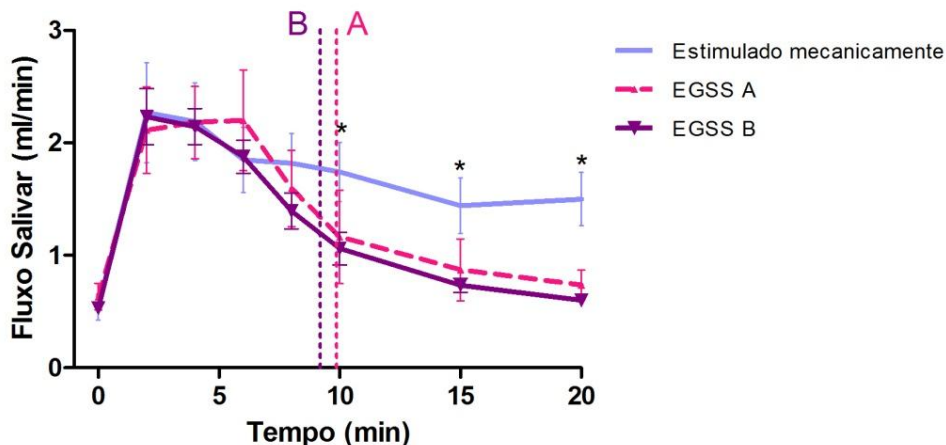
O gráfico 1 compara as médias, com intervalo de confiança +/- 95%, obtidas para o fluxo salivar não estimulado, fluxo salivar estimulado mecanicamente e estimulado quimicamente com os diferentes estimulantes. Baseado nos resultados obtidos, podemos verificar que, quer a estimulação mecânica quer a estimulação química, possuem a capacidade de aumentar significativamente a secreção salivar ( $P < 0,05$ ), quando comparadas com o fluxo salivar não estimulado. Podemos também determinar que não existem diferenças significativas na capacidade de estimulação da secreção salivar entre estimulantes gustativos da secreção salivar ( $P > 0,05$ ), embora o estimulante gustativo com base em ácido málico possua uma capacidade de estimulação secretória superior, a

qual só foi significativamente ( $P < 0,05$ ) diferente do fluxo salivar estimulado mecanicamente.



**Gráfico 1** – Gráfico de barras representativo da média +/- 95% IC do fluxo salivar não estimulado, estimulado mecanicamente e estimulado quimicamente com EGSS A e B.

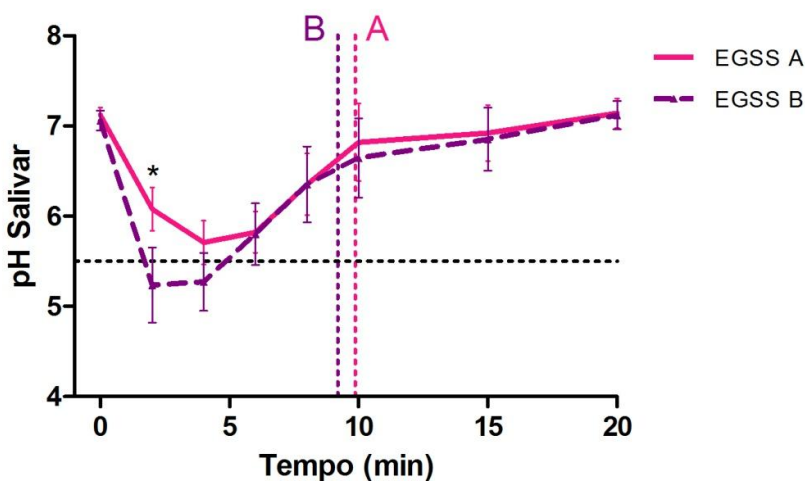
O gráfico 2 apresenta as variações médias de fluxo salivar ao longo do tempo, com um intervalo de confiança de +/- 95%. Estão representadas as médias de tempo que os dois EGSS demoram a dissolver-se, com um intervalo de confiança de +/- 95%. O comprimido A demorou 9,87 minutos [7,87-11,87] e o comprimido B 9,19 min [7,40-10,97], sendo estes tempos indicados no gráfico com as respectivas linhas verticais. O fluxo salivar estimulado mecanicamente e os fluxos estimulados quimicamente apresentam um padrão de resposta semelhante, ocorrendo um aumento inicial acentuado da secreção basal (2 min) seguido de uma diminuição lenta ao longo do tempo. Contudo, esta diminuição é mais acentuada nos fluxos salivares estimulados quimicamente após a dissolução dos comprimidos, induzindo assim a uma diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre o fluxo salivar estimulado mecanicamente e os fluxos salivares estimulados quimicamente nos últimos 10 minutos de determinação. Quando comparados os fluxos salivares estimulados quimicamente, ao longo dos 20 minutos, entre os EGSS A e B não se observaram diferenças estatísticas significativas ( $P > 0,05$ ).



**Gráfico 2** – Média (+/- 95% IC) do fluxo salivar ao longo do tempo (20 minutos) na estimulação mecânica e na estimulação química com os comprimidos A e B. Representação da média de tempo (+/- 95% IC) no qual os EGSS A e B sofreram dissolução.

### Variações no pH salivar

O gráfico 3 permite observar o efeito dos EGSS no pH salivar ao longo do tempo. Os resultados foram indicados como média +/- 95% IC. O pH crítico (pH=5,5) é representado no gráfico pela linha horizontal. É possível verificar que a utilização de EGSS induz uma diminuição acentuada do pH salivar nos minutos iniciais, seguida de uma recuperação até aos valores basais, a qual acontece aos 20 minutos. Não existem diferenças significativas entre os EGSS utilizados, à exceção da colheita realizada aos 2 minutos, para a qual a descida de pH salivar é significativamente mais acentuada ( $P < 0,05$ ) com o estimulante constituído por ácido cítrico.



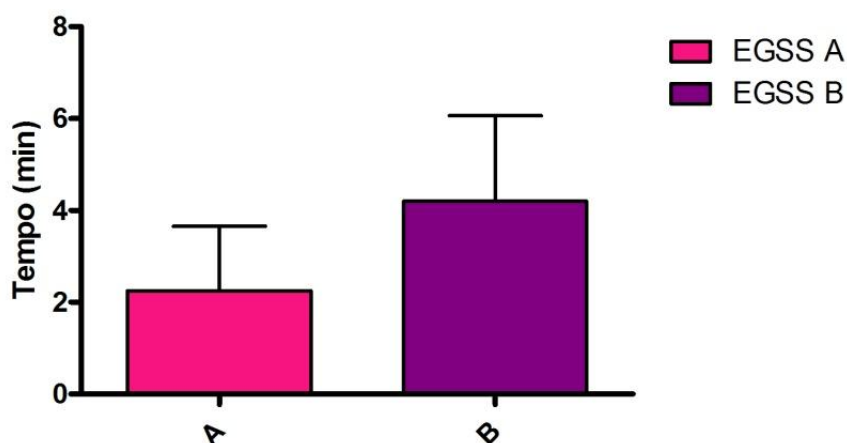
**Gráfico 3** – Representação da variação do pH salivar (+/- 95% IC) durante a estimulação química com o comprimido A e B, ao longo de 20 minutos.

A tabela de contingência para o total de voluntários em cada EGSS testado é apresentada na tabela 4. Esta é baseada no número de voluntários que revelaram episódios de pH salivar inferiores a 5,5 por mais de 1 minuto, permitindo estabelecer o risco de ocorrência de fenómenos com potencial erosivo para cada comprimido. A redução do risco absoluto foi de 25% [-4,64%;54,64%] para o estimulante gustativo A, representando um NNT (Número Necessário Tratar) de 4. Estes resultados sugerem que um em cada quatro voluntários apresenta a redução de um episódio de potencial erosivo com a utilização do Xeros™ face ao SST®.

	pH inferior a 5,5 por mais de 1 min		Total
	Sim	Não	
Xeros™	9	11	20
SST®	14	6	20
<b>Total</b>	23	17	40

**Tabela 4** – Tabela de contingência relativa à ocorrência de pH salivar inferior a 5,5 para os dois EGSS (IC+/- 95 %).

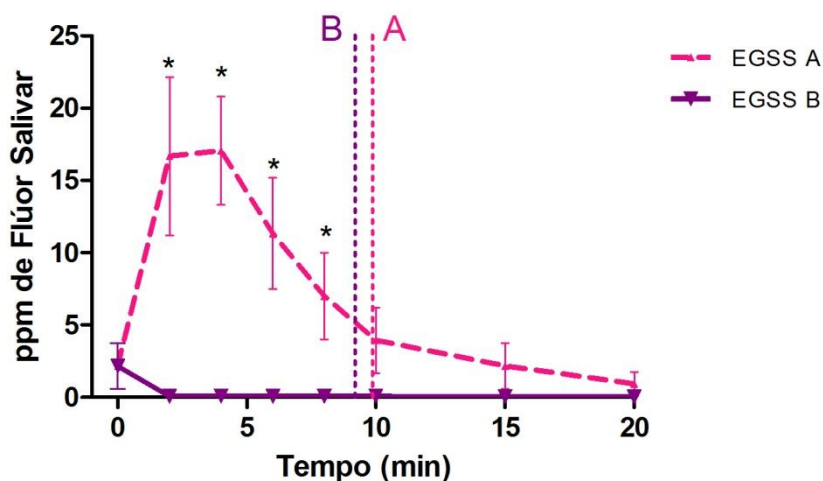
O gráfico 4 representa o tempo indicado em minutos, com um intervalo de confiança de +/- 95%, em que o pH salivar foi inferior a 5,5 durante a colheita por estimulação química dos EGSS A e B. Na estimulação química com o EGSS B a média de tempo em que o pH salivar foi inferior a 5,5 foi superior, porém esta diferença não foi estatisticamente significativa ( $P>0,05$ ).



**Gráfico 4** – Gráfico de barras comparativo do tempo durante o qual o pH salivar foi inferior a 5,5 durante os 20 minutos de colheita com utilização do EGSS A e B (+/- 95% IC).

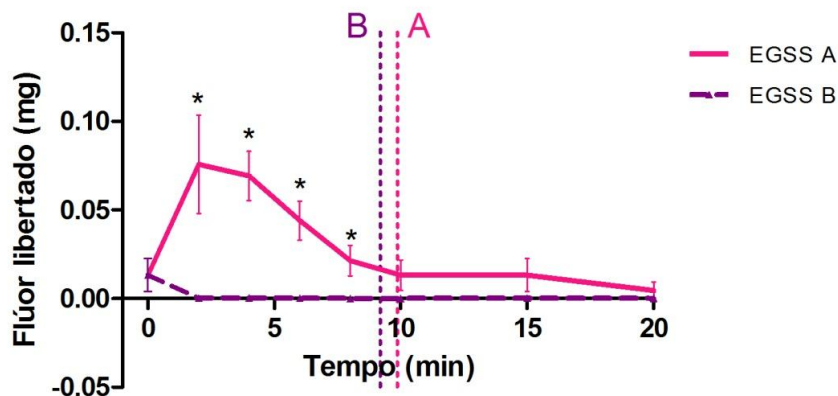
### Libertação de flúor

O gráfico 5 representa a concentração de flúor média determinada na saliva ao longo do tempo, com um intervalo de confiança de +/-95%. A concentração do flúor é apresentada em ppm, de acordo com os resultados obtidos pelo microelétrodo de flúor. Ao longo do tempo o EGSS A apresentou um pico de concentração salivar nas amostras relativas aos 2 e 4 minutos, retomando para valores basais aos 20 minutos. Quando comparado com o EGSS B a concentração encontrada de flúor foi sempre superior, no entanto apenas estatisticamente significativa nos 8 minutos iniciais ( $P < 0,05$ ).



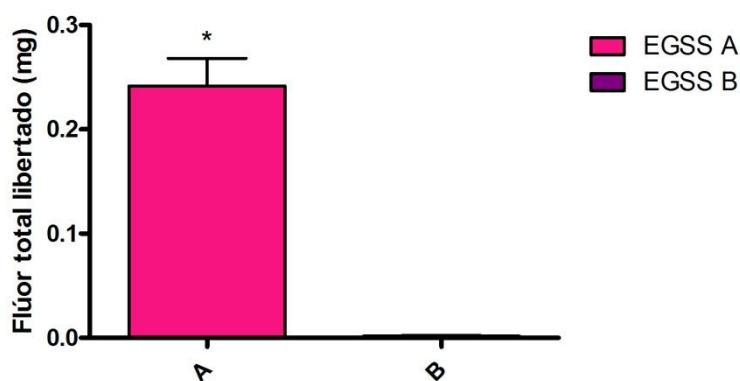
**Gráfico 5** – Representação da concentração de flúor, em ppm, encontrada na saliva ao longo do tempo pela estimulação com EGSS A e B (IC+/-95%).

No gráfico 6 pode ser observada a libertação de flúor ao longo do tempo, em miligramas, com um intervalo de confiança de +/-95%. A quantidade de flúor determinada na saliva pelo EGSS A apresentou um pico entre os 2 a 4 minutos, seguida de uma diminuição lenta ao longo do tempo, atingindo os valores iniciais aos 10 minutos, momento em que ocorreu a total dissolução do comprimido. Em contrapartida, o EGSS que não contém flúor na sua constituição apresentou uma libertação mínima deste ao longo do tempo, mas apenas os 8 minutos iniciais foram significativamente inferiores ( $P < 0,05$ ) quando comparado com o EGSS com ácido málico e flúor.



**Gráfico 6** - Libertação da quantidade de miligramas de flúor na saliva, ao longo do tempo, na estimulação química com o comprimido A e B (+/- 95% IC).

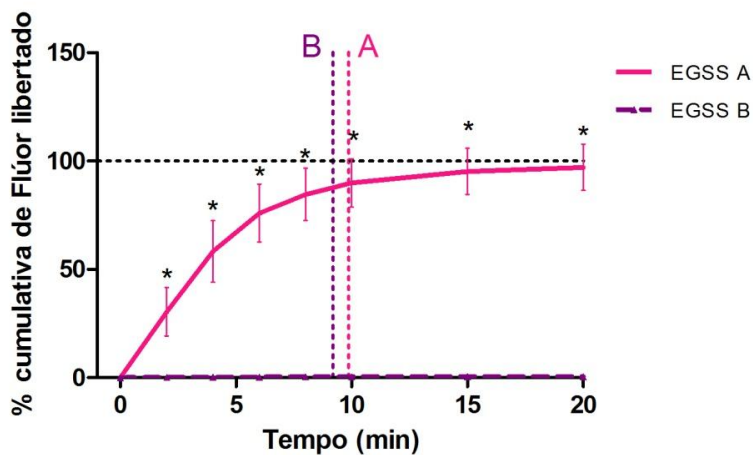
O gráfico 7 representa a média total de flúor libertado, com um intervalo de confiança de +/- 95%, ao longo dos 20 minutos da estimulação química com os comprimido A e B. Comparativamente, e baseado nos resultados obtidos, o flúor total libertado em mg pelo EGSS A é significativamente superior ( $P < 0,05$ ) ao libertado pelo EGSS B, apresentando-se este último com valores quase nulos. Segundo o fabricante do Xeros<sup>TM</sup>, cada comprimido é composto por 0,25 mg de Flúor. Nos resultados observados (+/-95% CI) o comprimido A libertou no total uma média de 0,24 [ 0,21; 0,27] mg de flúor.



**Gráfico 7** – Gráfico de barras representativo do flúor total libertado (mg), em média (+/- 95% IC), com os EGSS A e EGSS B.

Por último, o gráfico 8 apresenta a percentagem cumulativa de flúor libertado por estimulação química ao longo dos 20 minutos, com um intervalo de confiança de +/- 95%. A curva observada para o EGSS A revela uma libertação gradual de flúor, em que

a grande maioria do flúor advogado pelo fabricante como existente no comprimido é libertada até à dissolução do mesmo 89,90 % [78,75%-101,06%], porém até aos 20 minutos é libertado o restante, sendo a percentagem final observada nestas amostras de 97,09% [86,40; 107,77]. Quando comparado com o EGSS B, e tendo em conta que esta percentagem é praticamente nula ao longo dos 20 minutos, a diferença entre ambos é estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ) ao longo de todo o tempo de colheita.



**Gráfico 8** – Percentagem cumulativa de flúor total libertado ao longo dos 20 minutos, (+/-95% IC) durante a estimulação química com o comprimido A e o B.

## Discussão

---

Atualmente, na área da saúde oral, a prevalência da hipossalialia é cada vez maior (Visvanathan & Nix, 2010; Zandim *e col.*, 2010) Tendo em conta os sinais, sintomas e consequências resultantes desta patologia, deve ser dada primazia ao desenvolvimento de terapêuticas adequadas, com o menor número de efeitos secundários, que permitam a melhoria da qualidade de vida destes doentes.

Atualmente existem artigos publicados que demonstram um aumento do risco para episódios potencialmente erosivos aquando da utilização de EGSS (Jensdottir *e col.*, 2005; Jensdottir *e col.*, 2007; da Mata *e col.*, 2009; Lajer *e col.*, 2009; da Silva Marques *e col.*, 2011). Nos últimos meses surgiram no mercado produtos aos quais o flúor foi associado (segundo o perorado pelo fabricante) com o intuito de potenciar a remineralização durante estes mesmos episódios. À data, a evidência científica disponível sobre a cinética da libertação do flúor para a saliva destes produtos é inexistente, o que justifica a realização deste estudo piloto.

Os resultados obtidos sugerem que, numa população saudável, os EGSS possuem a capacidade de aumentar significativamente a secreção salivar. No entanto esta característica está associada a uma diminuição do pH. O Xeros<sup>TM</sup> constituído por ácido málico, ao qual foi adicionado xilitol e flúor, permitiu uma menor exposição a pH salivar inferior a 5,5, o que reduz o risco absoluto da ocorrência de episódios potencialmente erosivos em 25% [-4,64%; 54,64%]. Também durante a dissolução do comprimido ocorre a libertação de flúor para a saliva, com valores que se coadunam com a eventual remineralização e proteção dos tecidos dentários.

O desenho deste estudo apresenta-se como um ensaio clínico aleatório duplamente cego. Os dois grupos existentes experimentaram em “*cross-over*” os dois EGSS, o que é defensável por se tratar de um estudo piloto, permitindo a duplicação dos resultados obtidos por grupo. Apesar do maior número de voluntários do sexo feminino, e com média de idades superior aos voluntários do sexo masculino, as características basais dos 20 voluntários não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ( $P > 0,05$ ). A distribuição demográfica dos voluntários deste estudo assemelha-se à amostra de onde foram recrutados (Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa), a qual é constituída maioritariamente por jovens do sexo feminino.

A estimulação salivar mecânica foi realizada com o objetivo de determinar a capacidade individual de resposta salivar a um estímulo mecânico, apresentando-se como uma importante característica basal dos voluntários, através da qual a função salivar do grupo em estudo é avaliada. É de salientar que, nos resultados obtidos o fluxo salivar estimulado mecanicamente apresenta-se inferior ao estimulado quimicamente durante a dissolução do comprimido, apesar desta diferença apenas ser estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ) quando comparado com o Xeros<sup>TM</sup>. Estes resultados revelaram-se de acordo com o estudo de Jensdottir *e col.*, 2005. Porém no estudo de Mata *e col.*, 2009, os resultados observados foram os opostos, sendo a estimulação mecânica superior à estimulação química. Tal pode ser justificado porque no estudo referido a determinação do fluxo salivar estimulado quimicamente se referir à totalidade da colheita salivar (20 minutos), enquanto neste estudo piloto o fluxo salivar foi calculado apenas durante a dissolução dos comprimidos EGSS.

A estimulação mecânica, por estar associada a um estímulo mecânico voluntário, possui efeitos mais prolongados na capacidade secretória, contrariamente à estimulação química que é dependente do tempo de dissolução do comprimido. Isto poderia ser considerado como um fator *major* de indicação para a estimulação salivar mecânica como tratamento primordial. Porém é importante salientar que a utilização prolongada deste tipo de estimulação apresenta implicações diretas e prejudiciais na articulação temporomandibular e músculos mastigatórios (Huddleston Slater *e col.*, 1999). Diversos investigadores propuseram que os hábitos parafuncionais, como o hábito de mastigação da pastilha elástica, são fatores potenciais para distúrbios temporomandibulares, existindo uma relação positiva com a dor e fadiga ao nível muscular (Christensen *e col.*, 1996; Gavish *e col.*, 2000; Winocur *e col.*, 2000; Farella *e col.*, 2001; Winocur *e col.*, 2001). A saliva estimulada mecanicamente apresenta variações na sua composição com menores níveis proteicos (Jensdottir *e col.*, 2005), associado a menores quantidades de fatores protetores e a um aumento da secreção de ácido no estômago, com possíveis efeitos nocivos para a mucosa gástrica (Hansen & Rune, 1972; Richardson & Feldman, 1986; Soreide *e col.*, 1995). Todos estes fatores associados contraíndicam a utilização deste tipo de estimulação por períodos prolongados.

Na colheita de saliva estimulada quimicamente, o fluxo salivar encontra-se diretamente associado à dissolução do comprimido, pois o mesmo começa a diminuir após a sua total dissolução (aproximadamente ao fim de 10 minutos), apresentando-se a

partir deste momento, significativamente inferior ( $P < 0,05$ ) ao fluxo salivar induzido pela estimulação mecânica. Assim, as variações de fluxo observadas permitem concluir que, embora a estimulação gustativa possua uma elevada capacidade secretória (comparável à estimulação mecânica), a mesma está diretamente dependente do comprimido, não existindo efeitos na secreção salivar que permaneçam após a dissolução do mesmo.

Na amostra deste estudo o tempo decorrido até a total dissolução do comprimido não foi estatisticamente diferente ( $P > 0,05$ ), com valores para o Xeros<sup>TM</sup> de 9,87 minutos [7,87-11,87] e para o SST<sup>®</sup> 9,19 min [7,40-10,97]. Porém, em estudos futuros, seria importante determinar se em pacientes hipossialícos, o tempo decorrido até à total dissolução do comprimido apresenta variações significativas quando comparados com voluntários saudáveis. Estes dados permitiriam averiguar a influência do fluxo salivar e/ou ação mecânica da língua na dissolução do mesmo.

A capacidade tampão da saliva foi determinada, em todos os voluntários deste estudo, por ser considerado por diversos autores como um importante fator protetor e, concomitantemente, permitir a caracterização da amostra. O tamanho da amostra verificou-se reduzido, e este fato limitou a possibilidade de uma determinação eficaz da influência, positiva ou não, da capacidade tampão no potencial risco erosivo decorrente da utilização destes EGSS.

As curvas da variação de pH, ao longo do tempo, permitem verificar que a utilização dos EGSS induzem a diminuição do pH salivar, durante os 4 minutos iniciais de dissolução do comprimido. O Xeros<sup>TM</sup>, induziu uma menor diminuição do pH salivar, quando comparado com o SST<sup>®</sup>, porém apenas estatisticamente significativo durante os 2 minutos iniciais ( $P < 0,05$ ). Apesar do pH salivar se ter mantido durante mais tempo com valores inferiores a 5,5 quando utilizado o SST<sup>®</sup>, esta diferença não foi estatisticamente significativa ( $P > 0,05$ ). Os resultados observados demonstram que nenhum dos estimulantes químicos induziu quedas do pH salivar inferiores a 4,7, ou seja, valores críticos para a desmineralização da hidroxiapatite fluoretada (Featherstone & Lussi, 2006). Em contrapartida, valores de pH de 5,5 foram atingidos, podendo ocorrer a desmineralização da hidroxiapatite. Estas observações permitem concluir que o SST<sup>®</sup> apresenta um potencial erosivo aumentado quando comparado com o Xeros<sup>TM</sup>.

Foi com base nestes fenómenos que surgiu o EGSS Xeros<sup>TM</sup>, que é constituído por um ácido fraco (ácido málico), flúor e xilitol. Segundo o fabricante, pelas características benéficas destes componentes, são favorecidos os fenómenos protetores que inibem o potencial erosivo intrínseco dos ácidos que os compõem.

O componente ácido dos EGSS tem como função a estimulação da secreção salivar; porém a substituição do ácido cítrico (ácido forte) por um ácido fraco poderia afetar a capacidade estimulatória dos EGSS. Segundo os resultados observados neste estudo e quando comparados diretamente os dois EGSS quanto à capacidade estimulatória ao longo de todo o tempo de colheita, o fluxo salivar não apresentou diferenças estatisticamente significativas ( $P>0,05$ ). Assim, é permitido concluir que neste estudo o Xeros<sup>TM</sup> apresenta igual capacidade estimulatória ao SST<sup>®</sup>.

Ainda no âmbito da composição acídica dos EGSS, é de salientar que, no mesmo pH salivar e baseado na constante de dissolução ( $K_a$ ), quanto maior o  $pK_a$  de um ácido maior é a disponibilização de iões  $H^+$  que vão dissolver a estrutura dentária. O ácido cítrico, componente principal do SST<sup>®</sup>, para além de um  $pK_a$  superior ao ácido constituinte do Xeros<sup>TM</sup>, apresenta um potencial erosivo resultante da aptidão para queação do cálcio. Estes dois processos possibilitam uma maior capacidade destrutiva do esmalte/dentina pela sua dissolução através deste ácido (Featherstone & Lussi, 2006), e conseqüentemente um potencial erosivo superior do SST<sup>®</sup>. Também o xilitol, componente presente do Xeros<sup>TM</sup>, é descrito como adoçante natural com um efeito anticariogénico (Chunmuang *e col.*, 2007) e uma capacidade estimulatória salivar (Tenovuo *e col.*, 1997). Neste estudo, apesar de não permitir determinar quais os componentes que reduzem o potencial erosivo (podendo advir do tipo de ácido, xilitol e flúor), a utilização do EGSS baseado em ácido málico (Xeros<sup>TM</sup>) reduziu o risco absoluto de erosão dentária em 25% [-4,64;54,64] face ao SST<sup>®</sup>.

Apesar da inexistência de ensaios clínicos aleatorizados relativos à adição de flúor aos EGSS, alguns estudos demonstram que a presença de flúor no esmalte diminuí os fenómenos de erosão (Vieira *e col.*, 2005; Hove *e col.*, 2006; Chunmuang *e col.*, 2007; Moretto *e col.*, 2010). Neste âmbito, como estudo piloto, foi realizada a medição da quantidade de flúor libertado para a saliva.

Os resultados deste estudo vão ao encontro ao perorado pelo fabricante do mais recente EGSS, dado que a quantidade de flúor encontrada na saliva foi 97,09% [86,40; 107,77] da quantidade presente no comprimido.

Durante a dissolução do comprimido Xeros<sup>TM</sup> (até aos 10 minutos de colheita), foram obtidas as amostras salivares com valores de pH salivar mais reduzidos e potencialmente erosivos. Porém, estas encontravam-se abrangidas pelo pico de libertação de flúor para a saliva. De acordo com os estudos previamente publicados por Ten Cate & Duijsters, os valores obtidos de concentração de flúor (superiores a 2 ppm) permitem a completa inibição da desmineralização, mesmo em pH salivar igual a 4,5. Assim, o potencial erosivo deste estimulante poderá estar inibido apenas pelo flúor disponibilizado.

As concentrações superiores a 10 ppm obtidas nas amostras colhidas ao 2,4 e 6 minutos com Xeros<sup>TM</sup>, segundo Tenuta & Cury, 2010, poderão permitir a inibição do metabolismo bacteriano e assim obter um efeito anticariogénico. Todos estes resultados permitem concluir que a cinética de libertação de flúor para a saliva apresenta uma elevada eficácia que se coaduna com os objectivos do produto.

Quanto ao EGSS com flúor, e como referido, em intervalos em que o pH salivar se encontra diminuído para valores críticos, apresenta uma libertação de flúor para a saliva que leva à inibição da desmineralização e potenciação da remineralização. Associado a estes fenómenos, na presença de hidroxiapatite fluoretada o pH considerado crítico diminui, dificultando a ocorrência de fenómenos de destruição da estrutura dentária. De acordo com estes resultados é importante referir que a adição de xilitol e/ou flúor numa bebida ou alimento é o modo mais efetivo de reduzir a erosão dentária quando comparado com outras aplicações (Chunmuang *e col.*, 2007).

A ausência de flúor no SST<sup>®</sup> removerá o eventual efeito protetor em igual pH salivar aumentando o risco para a perda de estrutura dentária. No entanto, e apesar da diminuição de pH ter sido descrita como um fator de risco preditivo da erosão dentária (Rees *e col.*, 2005; Gambon *e col.*, 2007; Hara & Zero, 2008), Jensdottir *e col.*, 2007, chegaram mesmo a referir que poderia não ocorrer dissolução da hidroxiapatite quando o pH salivar caísse para 5,5, num curto período de tempo. Deste modo, o potencial erosivo determinado pode não refletir a verdadeira ocorrência de processos erosivos.

Para efeitos verídicos seria de extrema importância testar o verdadeiro efeito deste tipo de EGSS nos cristais de hidroxiapatite ou na substância dentária.

Mesmo após a completa dissolução do comprimido Xeros<sup>TM</sup> (aproximadamente aos 10 minutos de colheita) existe libertação residual de flúor para a saliva, embora esta não seja estatisticamente diferente ( $P > 0,05$ ) do produto SST<sup>®</sup>, fato que se deverá provavelmente à retenção do flúor nos reservatórios da cavidade oral (Garcia-Godoy & Hicks, 2008; Naumova *e col.*, 2010). Esta biodisponibilidade apresenta-se como um fator interessante a estudar em estudos futuros com amostras maiores uma vez que, mesmo com valores de flúor salivar de 0,2 ppm, a remineralização poderá estar favorecida (Lynch *e col.*, 2004; Vogel *e col.*, 2006). Em suma, os produtos que induzam pH salivar potencialmente erosivo ao permitirem uma libertação residual de flúor, poderão apresentar uma vantagem significativa quando comparados com produtos que não possuam flúor na sua constituição.

Relativamente à quantidade de flúor total libertado pelos EGSS existem diferenças estatisticamente significativas ( $P < 0,05$ ). O flúor total libertado na saliva por cada comprimido Xeros<sup>TM</sup> é de 0,24 mg [0,21; 0,27], quantidade sem diferença estatística ( $P > 0,05$ ) com o pré-estabelecido na embalagem. Para o SST<sup>®</sup> a libertação cumulativa é de 0,61% [0,44; 0,78], a qual não é significativamente diferente de 0% ( $P > 0,05$ ), ou seja do estabelecido pelo fabricante. A quantidade medida pode dever-se à libertação endógena de flúor na cavidade oral ou à própria sensibilidade do aparelho.

Para além do referido, a importância deste estudo piloto baseia-se na inovação dos estudos com EGSS, uma vez que permite determinar a cinética de libertação do flúor para a saliva neste tipo de produtos. Tal como constatado anteriormente a presença de flúor e xilitol nos EGSS mais recentes (Xeros<sup>TM</sup>), associados às menores variações de pH salivar, podem apresentar grandes benefícios. A presença de flúor na saliva oferece proteção contra a desmineralização e atividade anticariogénica, e ainda potencia a remineralização. Porém, em concentrações elevadas, pode estar associado a fenómenos deletérios como a toxicidade aguda e crónica.

Segundo os resultados obtidos o flúor total libertado na saliva por cada comprimido Xeros<sup>TM</sup> é aproximadamente de 0,24 mg. Tendo em conta que numa pessoa de 70 kg seriam necessários ingerir entre 10208 a 20416 comprimidos por dia para a

ocorrência de toxicidade aguda, com risco de vida para o paciente, esta situação apresenta-se à partida excluída.

No entanto, na utilização de EGSS, com base na população alvo e indicação de tratamento paliativo, é passível a ocorrência de fenómenos de toxicidade crónica. A indicação terapêutica para adultos relega para segundo plano casos de fluorose dentária. Contudo, processos de fluorose óssea têm sido reportados por vários autores (Browne *e col.*, 2005; Dhar & Bhatnagar, 2009; Barbier *e col.*, 2010). Para a ocorrência deste fenómeno, num paciente de 70 kg seria necessário ingerir entre 8 a 33 comprimidos do EGSS Xeros<sup>TM</sup> por dia, excluindo o flúor proveniente da alimentação, pastas de dentes e restantes fontes externas; uma vez consideradas estas fontes estes valores poderão reduzir-se significativamente.

Com base nos resultados obtidos e nos respetivos cálculos, as tomas máximas indicadas vão ao encontro do descrito pelo fabricante, que aconselha a toma diária de 4 comprimidos. Porém, e uma vez que este produto é de venda livre, deveria estar presente nas instruções que a dose máxima diária não deveria exceder os 8 comprimidos.

A recorrência a EGSS pode ser considerado uma terapia paliativa uma vez que a secreção salivar é aumentada embora de forma transitória. Concomitantemente não existem estudos em humanos que demonstrem que a redução ou aumento da cárie dentária ou outras complicações orais estejam associadas à hipofunção das glândulas salivares (Fox, 2004). Assim, a grande recomendação terapêutica passa pela aplicação diária de produtos fluoretados, bem como por uma meticulosa higiene oral e um controlo do comportamento dietético (Zandim *e col.*, 2010).

## Conclusão

---

A terapia com estimulantes gustativos de secreção salivar, apesar de lhe ser atribuída uma capacidade erosiva intrínseca (Featherstone & Lussi, 2006; Gambon *e col.*, 2007), é frequentemente realizada em pacientes que apresentam hipossalivação como compensação da diminuição do fluxo salivar (Amerongen & Veerman, 2002).

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir, reforçando a ideia dos estudos de Mata *e col.*, 2009 e da Silva Marques *e col.*, 2011, que os EGSS baseados em ácidos fortes como o SST<sup>®</sup>, embora apresentem uma estimulação salivar efetiva levam a uma diminuição acentuada do pH promovendo uma eventual desmineralização e consequentes fenómenos erosivos. Porém, na realização deste estudo piloto, ao associar-se a medição da quantidade de flúor libertado pelos EGSS, conclui-se que, os mais recentes estimulantes químicos como o Xeros<sup>™</sup> (constituído por ácidos fracos, flúor e xilitol) permitem a mesma estimulação salivar, associados a uma libertação de flúor para a saliva e uma menor diminuição do pH, comparativamente com os EGSS baseados apenas em ácidos fortes.

Este estudo permite então concluir que na utilização de EGSS com flúor (Xeros<sup>™</sup>) os fenómenos de remineralização dentária poderão ser potenciados, concomitantemente com a inibição da desmineralização e do metabolismo bacteriano.

Apesar da limitação deste estudo, pode afirmar-se que a utilização do Xeros<sup>™</sup> apresenta uma diminuição de fenómenos erosivos face ao SST<sup>®</sup>, constatados pela redução absoluta do risco de 25% [-4,64;54,64].

Quanto à libertação de flúor observada e com base nos valores críticos da toxicidade resultante da ingestão, a terapia com Xeros<sup>™</sup> apresenta como maior risco o desenvolvimento de fluorose óssea, não sendo aconselhado ultrapassar a toma diária de aproximadamente 8 a 33 comprimidos num paciente de 70 Kg.

Depois da realização deste estudo piloto mantem-se a necessidade da sua extensão a populações hipossiálicas, o que permitirá aumentar o conhecimento sobre os estimulantes gustativos de secreção salivar, numa tentativa de maximização dos benefícios e minimização das problemáticas da sua utilização.

# Bibliografia

---

1. Amerongen AV, Veerman EC. Saliva - the defender of the oral cavity. *Oral Dis*. 2002 Jan;8(1):12-22.
2. Ammari AB, Bloch-Zupan A, Ashley PF. Systematic review of studies comparing the anti-caries efficacy of children's toothpaste containing 600 ppm of fluoride or less with high fluoride toothpastes of 1,000 ppm or above. *Caries Res*. 2003 Mar-Apr;37(2):85-92.
3. Aoba T, Fejerskov O. Dental fluorosis: chemistry and biology. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2002;13(2):155-70.
4. Barbier O, Arreola-Mendoza L, Del Razo LM. Molecular mechanisms of fluoride toxicity. *Chem Biol Interact*. 2010 Nov 5;188(2):319-33.
5. Borysewicz-Lewicka M, Opydo-Szymaczek J, Opydo J. Fluoride ingestion after brushing with a gel containing a high concentration of fluoride. *Biol Trace Elem Res*. 2007 Winter;120(1-3):114-20.
6. Browne D, Whelton H, O'Mullane D. Fluoride metabolism and fluorosis. *J Dent*. 2005 Mar;33(3):177-86.
7. Cho MA, Ko JY, Kim YK, Kho HS. Salivary flow rate and clinical characteristics of patients with xerostomia according to its aetiology. *J Oral Rehabil*. 2010 Mar;37(3):185-93.
8. Christensen LV, Tran KT, Mohamed SE. Gum chewing and jaw muscle fatigue and pains. *J Oral Rehabil*. 1996 Jun;23(6):424-37.
9. Chunmuang S, Jitpukdeebodindra S, Chuenarrom C, Benjakul P. Effect of xylitol and fluoride on enamel erosion in vitro. *J Oral Sci*. 2007 Dec;49(4):293-7.
10. da Mata AD, da Silva Marques DN, Silveira JM, Marques JR, de Melo Campos Felino ET, Guilherme NF. Effects of gustatory stimulants of salivary secretion on salivary pH and flow: a randomized controlled trial. *Oral Dis*. 2009 Apr;15(3):220-8.
11. da Silva Marques DN, da Mata AD, Patto JM, Barcelos FA, de Almeida Rato Amaral JP, de Oliveira MC, e col. Effects of gustatory stimulants of salivary secretion on salivary pH and flow in patients with Sjogren's syndrome: a randomized controlled trial. *J Oral Pathol Med*. 2011 Apr 11.
12. Dentistry AAoP. Guideline on fluoride therapy. *Pediatr Dent*. 2008;30(7 Suppl):121-4.
13. Dhar V, Bhatnagar M. Physiology and toxicity of fluoride. *Indian J Dent Res*. 2009 Jul-Sep;20(3):350-5.
14. Farella M, Bakke M, Michelotti A, Martina R. Effects of prolonged gum chewing on pain and fatigue in human jaw muscles. *Eur J Oral Sci*. 2001 Apr;109(2):81-5.
15. Featherstone JD, Lussi A. Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci*. 2006;20:66-76.
16. Fox PC. Salivary enhancement therapies. *Caries Res*. 2004 May-Jun;38(3):241-6.
17. Gambon DL, Brand HS, Nieuw Amerongen A. [Acidic candies affect saliva secretion rates and oral fluid acidity]. *Ned Tijdschr Tandheelkd*. 2007 Aug;114(8):330-4.
18. Garcia-Godoy F, Hicks MJ. Maintaining the integrity of the enamel surface: the role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *J Am Dent Assoc*. 2008 May;139 Suppl:25S-34S.
19. Garg AK, Malo M. Manifestations and treatment of xerostomia and associated oral effects secondary to head and neck radiation therapy. *J Am Dent Assoc*. 1997 Aug;128(8):1128-33.
20. Gavish A, Halachmi M, Winocur E, Gazit E. Oral habits and their association with signs and symptoms of temporomandibular disorders in adolescent girls. *J Oral Rehabil*. 2000 Jan;27(1):22-32.

21. Gonzalez-Cabezas C. The chemistry of caries: remineralization and demineralization events with direct clinical relevance. *Dent Clin North Am.* 2010 Jul;54(3):469-78.
22. Hansen EA, Rune SJ. Effect of chewing gum on gastric acid secretion. *Scand J Gastroenterol.* 1972;7(8):733-6.
23. Hara AT, Zero DT. Analysis of the erosive potential of calcium-containing acidic beverages. *Eur J Oral Sci.* 2008 Feb;116(1):60-5.
24. Hong CH, Napenas JJ, Hodgson BD, Stokman MA, Mathers-Stauffer V, Elting LS, et al. A systematic review of dental disease in patients undergoing cancer therapy. *Support Care Cancer.* 2010 Aug;18(8):1007-21.
25. Hove L, Holme B, Ogaard B, Willumsen T, Tveit AB. The protective effect of TiF<sub>4</sub>, SnF<sub>2</sub> and NaF on erosion of enamel by hydrochloric acid in vitro measured by white light interferometry. *Caries Res.* 2006;40(5):440-3.
26. Huddleston Slater JJ, Visscher CM, Lobbezoo F, Naeije M. The intra-articular distance within the TMJ during free and loaded closing movements. *J Dent Res.* 1999 Dec;78(12):1815-20.
27. Ismail AI, Hasson H. Fluoride supplements, dental caries and fluorosis: a systematic review. *J Am Dent Assoc.* 2008 Nov;139(11):1457-68.
28. Jensdottir T, Nauntofte B, Buchwald C, Bardow A. Effects of sucking acidic candy on whole-mouth saliva composition. *Caries Res.* 2005 Nov-Dec;39(6):468-74.
29. Jensdottir T, Nauntofte B, Buchwald C, Bardow A. Effects of calcium on the erosive potential of acidic candies in saliva. *Caries Res.* 2007;41(1):68-73.
30. Lajer C, Buchwald C, Nauntofte B, Specht L, Bardow A, Jensdottir T. Erosive potential of saliva stimulating tablets with and without fluoride in irradiated head and neck cancer patients. *Radiother Oncol.* 2009 Dec;93(3):534-8.
31. Larsen MJ, Pearce EI. Saturation of human saliva with respect to calcium salts. *Arch Oral Biol.* 2003 Apr;48(4):317-22.
32. Li Y, Taylor JM, Ten Haken RK, Eisbruch A. The impact of dose on parotid salivary recovery in head and neck cancer patients treated with radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2007 Mar 1;67(3):660-9.
33. Lussi A. Dental erosion : from diagnosis to therapy. Basel ; New York: Karger; 2006.
34. Lynch RJ, Navada R, Walia R. Low-levels of fluoride in plaque and saliva and their effects on the demineralisation and remineralisation of enamel; role of fluoride toothpastes. *Int Dent J.* 2004;54(5 Suppl 1):304-9.
35. Meurman JH, Frank RM. Progression and surface ultrastructure of in vitro caused erosive lesions in human and bovine enamel. *Caries Res.* 1991;25(2):81-7.
36. Moretto MJ, Magalhaes AC, Sasaki KT, Delbem AC, Martinhon CC. Effect of different fluoride concentrations of experimental dentifrices on enamel erosion and abrasion. *Caries Res.* 2010;44(2):135-40.
37. Moss SJ. Dental erosion. *Int Dent J.* 1998 Dec;48(6):529-39.
38. Naumova EA, Gaengler P, Zimmer S, Arnold WH. Influence of individual saliva secretion on fluoride bioavailability. *Open Dent J.* 2010;4:185-90.
39. Newbrun E. Topical fluoride therapy: discussion of some aspects of toxicology, safety, and efficacy. *J Dent Res.* 1987 May;66(5):1084-6.
40. Nieuw Amerongen AV, Veerman EC. Current therapies for xerostomia and salivary gland hypofunction associated with cancer therapies. *Support Care Cancer.* 2003 Apr;11(4):226-31.
41. Opydo-Szymaczek J, Opydo J. Salivary fluoride concentrations and fluoride ingestion following application of preparations containing high concentration of fluoride. *Biol Trace Elem Res.* 2010 Nov;137(2):159-67.
42. Rees J, Loyn T, McAndrew R. The acidic and erosive potential of five sports drinks. *Eur J Prosthodont Restor Dent.* 2005 Dec;13(4):186-90.

43. Reich E, Petersson LG, Netuschil L, Brex M. Mouthrinses and dental caries. *Int Dent J*. 2002 Oct;52(5):337-45.
44. Rhodus NL. Management of oral complications from radiation and chemotherapy. *Northwest Dent*. 2010 Jan-Feb;89(1):39-42.
45. Richardson CT, Feldman M. Salivary response to food in humans and its effect on gastric acid secretion. *Am J Physiol*. 1986 Jan;250(1 Pt 1):G85-91.
46. Scully C. Drug effects on salivary glands: dry mouth. *Oral Dis*. 2003 Jul;9(4):165-76.
47. Soreide E, Holst-Larsen H, Veel T, Steen PA. The effects of chewing gum on gastric content prior to induction of general anesthesia. *Anesth Analg*. 1995 May;80(5):985-9.
48. Stookey GK. The effect of saliva on dental caries. *J Am Dent Assoc*. 2008 May;139 Suppl:11S-7S.
49. ten Cate JM, Duijsters PP. Influence of fluoride in solution on tooth demineralization. II. Microradiographic data. *Caries Res*. 1983;17(6):513-9.
50. Tenovuo J, Hurme T, Ahola A, Svedberg C, Ostela I, Lenander-Lumikari M, et al. Release of cariostatic agents from a new buffering fluoride- and xylitol-containing lozenge to human whole saliva in vivo. *J Oral Rehabil*. 1997 May;24(5):325-31.
51. Tenuta LM, Cury JA. Fluoride: its role in dentistry. *Braz Oral Res*. 2010;24 Suppl 1:9-17.
52. Tschoppe P, Wolgin M, Pischon N, Kielbassa AM. Etiologic factors of hyposalivation and consequences for oral health. *Quintessence Int*. 2010 Apr;41(4):321-33.
53. Vieira A, Ruben JL, Huysmans MC. Effect of titanium tetrafluoride, amine fluoride and fluoride varnish on enamel erosion in vitro. *Caries Res*. 2005 Sep-Oct;39(5):371-9.
54. Villa A, Anabalon M, Zohouri V, Maguire A, Franco AM, Rugg-Gunn A. Relationships between fluoride intake, urinary fluoride excretion and fluoride retention in children and adults: an analysis of available data. *Caries Res*. 2010;44(1):60-8.
55. Vissink A, Burlage FR, Spijkervet FK, Veerman EC, Nieuw Amerongen AV. Prevention and treatment of salivary gland hypofunction related to head and neck radiation therapy and chemotherapy. *Support Cancer Ther*. 2004 Jan 1;1(2):111-8.
56. Visvanathan V, Nix P. Managing the patient presenting with xerostomia: a review. *Int J Clin Pract*. 2010 Feb;64(3):404-7.
57. Vogel GL, Shim D, Schumacher GE, Carey CM, Chow LC, Takagi S. Salivary fluoride from fluoride dentifrices or rinses after use of a calcium pre-rinse or calcium dentifrice. *Caries Res*. 2006;40(5):449-54.
58. Winocur E, Gavish A, Halachmi M, Bloom A, Gazit E. Generalized joint laxity and its relation with oral habits and temporomandibular disorders in adolescent girls. *J Oral Rehabil*. 2000 Jul;27(7):614-22.
59. Winocur E, Gavish A, Finkelshtein T, Halachmi M, Gazit E. Oral habits among adolescent girls and their association with symptoms of temporomandibular disorders. *J Oral Rehabil*. 2001 Jul;28(7):624-9.
60. Zandim DL, Tschoppe P, Sampaio JE, Kielbassa AM. Effect of saliva substitutes in combination with fluorides on remineralization of subsurface dentin lesions. *Support Care Cancer*. 2010 Jun 11.