

ÁREA TEMÁTICA: (marque uma das opções)

- COMUNICAÇÃO
- CULTURA
- DIREITOS HUMANOS E JUSTIÇA
- EDUCAÇÃO
- MEIO AMBIENTE
- SAÚDE
- TRABALHO
- TECNOLOGIA

ESTUDO DO EFEITO DA VARIAÇÃO DO PH NA DISSOLUÇÃO DA HIDROXIAPATITA: UMA AULA PRÁTICA DE BIOQUÍMICA PARA O CURSO DE ODONTOLOGIA

Rhamonn Fernandes Ferreira (rhamonn.ferreira@gmail.com)

Wille Fernando Annies (willeannies@gmail.com)

Adriano Gonçalves Viana (adrianogviana@gmail.com)

RESUMO – Atualmente sabe-se que a cárie dentária é consequência de um desequilíbrio entre os processos de mineralização e a desmineralização do esmalte dental. Diante disto, neste trabalho, teve-se como objetivo adaptar uma metodologia para estudar o efeito da variação do pH na dissolução da hidroxiapatita (HA) contextualizando com suas implicações no processo cariogênico, visando assim elaborar um roteiro de aula prática para a disciplina de Bioquímica, para o curso de Odontologia. Para tanto a HA foi sintetizada em laboratório através do método da precipitação em solução aquosa, para avaliar o efeito da variação do pH determinou-se o teor de cálcio livre em solução após tratamento da HA em sistemas com diferentes valores de pH. Os resultados apresentados mostram que a HA sofre desmineralização em pH ácido, passível de determinação através da dosagem de cálcio livre. Desta forma, utilizando esta metodologia, foi possível correlacionar os ensaios in vitro da variação do pH com o processo de desmineralização do esmalte dental e o processo cariogênico, permitindo a elaboração do roteiro de aula prática.

PALAVRAS-CHAVE – Bioquímica, aula prática, efeito do pH, hidroxiapatita.

INTRODUÇÃO

A utilização de aulas práticas no desenvolvimento de conceitos científicos permite que os alunos aprendam como abordar objetivamente um tema em estudo e desenvolver soluções para problemas complexos. Desta forma, aulas práticas representam uma importante estratégia de ensino, auxiliando o professor a retomar um assunto já abordado em sala de aula e ampliando a visão do aluno sobre o tema e as reflexões sobre o fenômeno ou processo estudado. A hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) é um mineral natural que correspondente a 96% da composição do esmalte dentário e 70% da dentina. Quando o pH bucal é superior a 5,5 a tendência bioquímica do dente é ganhar cálcio e fosfato a partir da saliva (mineralização), mas quando o pH for inferior a este valor a tendência se inverte, com o dente perdendo estes elementos através da dissolução do esmalte (desmineralização). Atualmente

sabe-se que a cárie dentária é consequência de um desequilíbrio entre os processos de mineralização e desmineralização, tendo como um dos possíveis fatores causais os ácidos orgânicos provenientes da fermentação microbiana dos carboidratos da dieta. Esse processo de dissolução da matriz mineralizada com perda de cristais de HA reduz a integridade estrutural do dente e permite a infecção microbiana da polpa dental originando assim a cárie. Um dos mecanismos naturais que atuam na preservação da integridade estrutural do dente é a propriedade da saliva em manter seu pH constante em torno de 6,9, graças aos seus sistemas tampões mucinato/mucina, $\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$ e $\text{HPO}_4^-/\text{H}_2\text{PO}_4$, que bloqueiam o excesso de ácidos e de bases. Assim a saliva protege a cavidade oral por evitar a colonização da boca por microrganismos potencialmente patogênicos, negando-lhes as condições ambientais ideais para o crescimento máximo, além de neutralizar os ácidos provenientes do metabolismo do microorganismos da placa que podem desmineralizar o esmalte. Diante disto, neste trabalho, tivemos como objetivo adaptar uma metodologia para estudar o efeito da variação do pH na dissolução da HA, mimetizando suas implicações no processo cariogênico, visando assim elaborar um roteiro de aula prática, para o curso de Odontologia.

OBJETIVOS

O presente trabalho foi realizado no intuito de se desenvolver um roteiro de aula prática centrado no processo de desmineralização da estrutura dental que conduz á cárie. Desta forma o roteiro proposto permitiu acompanhar o processo de desmineralização da hidroxiapatita mediante a variação do pH em sistema de estudo in vitro. A intensidade do processo de desmineralização induzida foi expressa pela dosagem colorimétrica da concentração de cálcio livre presente em solução com pH tamponado nos valores de 3,0, 5,0 e 7,0. Desta forma espera-se que os alunos ao desenvolverem a experimentação sejam capazes de relacionar o tema discutido em aula teórica com os processos observados no laboratório.

REFERENCIAL TEÓRICO-METODOLÓGICO

SÍNTESE DA HIDROXIAPATITA: a HA foi sintetizada em laboratório através do método da precipitação em solução aquosa, onde uma solução de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$, $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$ e H_3PO_4 $0,3 \text{ mol.L}^{-1}$ foi mantida sob agitação constante por 24 horas a temperatura ambiente. Após ajuste do pH da solução para 12,0, a mesma solução foi mantida por 66 horas em repouso, seguida por filtração, lavagem com água destilada e ajuste do pH para 7,0. O sólido obtido após processo de liofilização foi tratado em mufla (8h, 1100°C) obtendo-se por

fim a HA, cuja estrutura cristalina foi confirmada mediante análises de difração de raios-x, como apresentado na figura 1.

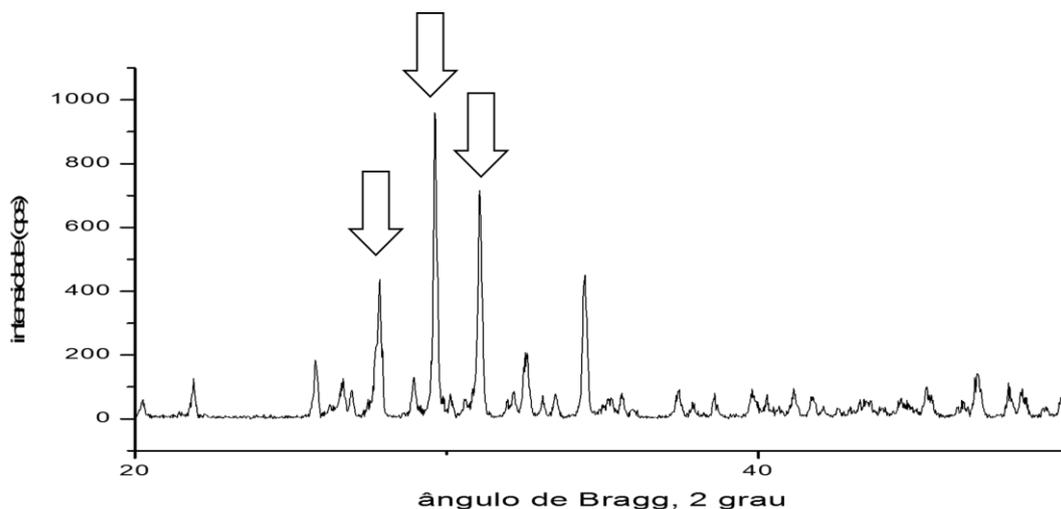


Figura 1 – Difratograma de raio X da hidroxiapatita sintetizada. As setas indicam os ângulos de difração característicos para sua estrutura cristalina (2θ : 27,88; 29,64 e 31,1°).

ESTUDO DO EFEITO DO PH: para avaliar o processo de desmineralização, ou seja, o efeito da variação do pH na dissolução da HA, amostras de 100 mg do mineral foram mantidas separadamente e sob agitação com 1 mL de solução tampão fosfato 0,1 mol.L⁻¹ nos pH 3,0; 5,0 e 7,0. Alíquotas de 20 µL foram então retiradas após 0, 15 e 30 minutos de incubação. A mesma metodologia foi seguida utilizando-se solução de saliva no lugar da solução tampão. A utilização de sistemas tamponados neste experimento se deve a necessidade de garantir o exato valor do pH que se deseja avaliar, e como mencionado na introdução o sistema tampão fosfato é um dos sistemas presentes na saliva.

DOSAGEM DO TEOR DE CÁLCIO: o teor de cálcio livre em solução liberado a partir da HA foi determinada através da utilização do Kit comercial Cálcio-PP (Analisa®), cuja técnica se baseia na leitura fotocolorimétrica (570 nm) do complexo formado pelo cálcio e o reagente o-cresolftaleína complexona em meio tamponado alcalino (pH 12,0). A análise das amostras foi realizada em duplicada, acompanhada pela leitura do padrão de cálcio (10 mg.dL⁻¹) e os valores determinados utilizando as equações $CT = FC \times AT$ (onde CT - cálcio total, FC - fator de correção, AT - absorvância da amostra) e $FC = CP \div AP$ (FC - fator de correção, CP - concentração do padrão, AP - absorvância padrão).

RESULTADOS

Os resultados obtidos para o experimento proposto são apresentados na tabela 1. Como seria o esperado, os sistemas com pH mais ácidos foram os que apresentaram o maiores teores de cálcio livre em solução, desde o tempo zero até o tempo 30 minutos. A presença de íons H^+ na solução promovem a dissolução da hidroxiapatita por reagirem tanto com os íons PO_4^{3-} como com os íons OH^- , desestruturando o mineral.

Tabela 1 – Concentração de cálcio liberado pela dissolução da hidroxiapatita em função do tempo e do pH, em mg/dL.

Tempo (min)	pH3,0	pH5,0	pH7,0	Saliva
0	17,89	4,85	3,65	5,77
15'	22,3	10,13	4,87	6,05
30'	20,22	10,46	11,29	7,85

O sistema com pH 3,0, foi o que se mostrou mais agressivo à estrutura da HA, uma vez que já no tempo zero observa-se $17,9 \text{ mg.dL}^{-1}$ de cálcio livre. Já para o pH 5,0, considerado crítico para desmineralização do dente, obteve resultados desejáveis, mostrando realmente que quando o pH do meio bucal se reduz em torno de 5,5 há uma considerável desmineralização da HA nos primeiros 15 min de tratamento. Os experimentos realizados com a saliva resultaram em teores de cálcio livre próximos aos obtidos para o pH 7,0, nestes dois tratamentos, foi possível verificar os menores teores de cálcio livre, bem como as menores interferências do tempo no processo de dissolução. Além do pH o fator tempo de incubação também interfere no processo, mostrando que com o passar do tempo há um aumento na concentração de cálcio, relacionando-se como um dos fatores da doença cárie.

O íon fluoreto reduz significativamente a dissolução da HA e a consequente deterioração dos dentes, uma vez que sua presença induz a formação da apatita fluoretada ($Ca_{10}(PO_4)_6F_2$), que é menos solúvel e mais resistente a ácidos do que a hidroxiapatita. Desta forma neste trabalho ainda tem-se como objetivo futuro realizar a síntese da fluorapatita a fim de comparar seu comportamento na presença de ácidos aos dados já obtidos para a HA.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados apresentados aqui confirmam que a HA sofre considerável processo de desmineralização induzida por sistemas com pH ácidos, inferiores a 5,0, da mesma forma que ocorre no processo cariogênico, passível de determinação através da dosagem de cálcio livre. Desta forma, utilizando esta metodologia, podemos correlacionar os ensaios in vitro com o processo de desmineralização do esmalte dental em função da redução do pH bucal, isto

então permite a elaboração do roteiro de aula prática para a disciplina de Bioquímica, contextualizando os temas pH, sistemas tampão e o fenômeno cariogênico.

REFERÊNCIAS

BEZERRA, S.L.J.; LIMA, R.S.N. **A Participação bioquímica da Dieta no Processo Cariogênico**. Ed 10. Fortaleza. Revista RECCS. 1998.

JORGE, A.O.C. **Microbiologia da cárie dentária**. *In*: Microbiologia bucal. 71-87, 2007.

FERNANDES, T.J. Síntese de hidroxiapatita nanométrica com PVP. Dissertação de Mestrado, 110p, 2011.

KARL; VARGAS; CHAVARRÍA. *Rev. Costarric. Cienc. Méd*, 243-249, 1986.

GOLDANALISA: informe técnico do produto.