

3º CICLO DE ESTUDOS
MEDICINA DENTÁRIA

INFLUÊNCIA DOS FATORES RELACIONADOS COM O HOSPEDEIRO NA PREVALÊNCIA DA CÁRIE DENTÁRIA NA POPULAÇÃO PEDIÁTRICA - ESTUDO LONGITUDINAL

Cátia Sofia Ferreira Carvalho Silva

D
2021



**INFLUÊNCIA DOS FATORES RELACIONADOS COM O HOSPEDEIRO
NA PREVALÊNCIA DA CÁRIE DENTÁRIA NA POPULAÇÃO
PEDIÁTRICA – ESTUDO LONGITUDINAL**

Cátia Sofia Ferreira Carvalho Silva

**INFLUÊNCIA DOS FATORES RELACIONADOS COM O HOSPEDEIRO
NA PREVALÊNCIA DA CÁRIE DENTÁRIA NA POPULAÇÃO
PEDIÁTRICA – ESTUDO LONGITUDINAL**

Tese apresentada na Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto para a obtenção do grau de Doutor em Medicina Dentária

Orientador

Professor Doutor Paulo Rui Galvão Ribeiro de Melo

Professor Associado com Agregação da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

Coorientadora

Professora Doutora Sandra Maria Carvalho Gavinha

Professora Associada da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa

Conflito de interesses

Declaro que os indivíduos da Coorte Geração XXI envolvidos neste estudo não auferiram nem virão a auferir de benefícios materiais de qualquer espécie, obtidos diretamente ou por interposta pessoa ou entidade. Declaro também que no âmbito do presente estudo, não recebi qualquer espécie de remuneração ou outro benefício material, obtido diretamente ou através de qualquer interposta entidade.

Resumo

Introdução: A cárie dentária na idade pediátrica continua a representar um importante problema de saúde pública. Esta doença oral é determinada por fatores de espectro biológico, comportamental, psicossocial e ambiental e devido a esta sua natureza dinâmica e multifatorial torna-se mais complexa a sua prevenção. Nos últimos anos, em Portugal, tem-se assistido a um declínio da doença nas crianças, todavia, recentemente denota-se um desaceleramento lento nas suas taxas de prevalência e gravidade. Estratégias preventivas mais ajustadas aos comportamentos, assim como, a adoção de medidas numa fase antecipatória, durante o período da odontogénese, podem representar uma mais-valia para uma abordagem preventiva mais eficiente da doença nas crianças. Esta proposição está na base da motivação para a realização desta investigação.

Objetivos: Contribuir para um conhecimento profícuo e robusto relativo ao estado de cárie dentária em crianças dos 4 aos 7 anos de idade e aos seus principais fatores de risco de natureza comportamental neste período de três anos. Paralelamente, pretende-se explorar o potencial efeito dos níveis de vitamina D na prevalência de cárie dentária em idade pediátrica.

Métodos: A metodologia seguida nesta tese incluiu várias fases: 1) realização de um estudo de coorte prospetivo numa amostra de 607 crianças avaliadas aos 4 e aos 7 anos de idade no âmbito do Projeto Geração XXI. Em ambas as idades, as informações relativas aos hábitos e comportamentos das crianças foram recolhidas mediante a aplicação de questionários aos responsáveis e as avaliações físicas realizadas por profissionais de saúde da área. Para o registo de cárie dentária foi utilizado o *International Caries Detection and Assessment System II*; 2) realização de uma revisão sistemática sobre a associação entre os níveis de vitamina D e a prevalência/experiência de cárie nas crianças. Foram estipulados critérios de elegibilidade específicos com o propósito da aquisição de um conhecimento consistente sobre esta matéria; 3) avaliação da associação entre os níveis séricos de vitamina D e a prevalência de cárie dentária na fase mista da dentição e nos dentes permanentes presentes na cavidade oral aos 7 anos de idade. Esta avaliação foi realizada através de um estudo observacional, analítico e transversal numa amostra constituída por 335 crianças da mesma coorte.

Resultados: Entre os 4 e os 7 anos de idade, 51,2% das crianças apresentavam pelo menos um dente com uma nova lesão de cárie ou um dente perdido ou obturado por cárie dentária, enquanto que 27,4% apresentavam mais de dois dentes afetados por cárie no mesmo período temporal. As crianças que aos 4 anos de idade, apresentavam de forma característica, um padrão alimentar de consumo de “Alimentos densamente energéticos” (OR=2,19; IC 95%: 1,41-3,41) e “*Snacking*” (OR=2,19; IC 95%: 1,20-4,00), assim como, ingeriam alimentos antes de deitar, após a escovagem dentária (OR=1,77; IC 95%: 1,15-2,74) apresentavam um risco significativo para o grave desenvolvimento de cárie dentária aos 7 anos de idade.

A revisão sistemática demonstrou que existe evidência, embora pouco robusta, de uma associação entre os níveis insuficientes de vitamina D e uma maior prevalência/experiência de cárie dentária, salientando-se que os níveis de 25-hidroxivitamina D inferiores a 75 nmol/L parecem assumir uma maior relevância para o desenvolvimento de cárie dentária do que os valores de referência do *Institute of Medicine*.

Aos 7 anos de idade, a ingestão de mais do que 1 alimento cariogénico por dia (OR=1,30; IC 95%: 1,03-1,40), já ter realizado consulta de medicina dentária prévia (OR=3,21; IC 95%: 1,26-8,22), a existência de doenças gastrointestinais (OR=5,01; IC 95%: 1,13-22,15) e apresentar níveis infantis de 25-hidroxivitamina D inferiores a 75 nmol/L (OR=2,27; IC 95%: 1,05-5,00) demonstraram estar associados, de forma estatisticamente significativa, com a presença de cárie dentária cavitada nos dentes permanentes das crianças nesta idade.

Conclusões: As estratégias pós-eruptivas para a prevenção da cárie dentária nas crianças devem incidir com particular enfoque nos hábitos alimentares e nas suas características de consumo. Durante a odontogénese, os níveis suficientes de vitamina D preconizados pela *Endocrine Society* podem apresentar um efeito preventivo adicional da cárie dentária através da otimização do desenvolvimento dentário.

Palavras-chave: cárie dentária; fatores de risco de cárie dentária; crianças; vitamina D; 25-hidroxivitamina D; padrões alimentares; higiene oral; medicina dentária preventiva; odontopediatria; saúde pública oral; saúde pública.

Abstract

Introduction: Dental caries in pediatric ages is still an important public health problem. This oral disease is determined by biological, behavioral, psychosocial, and environmental factors, and this dynamic and multifactorial nature makes its prevention more complex. In the past years, Portugal has witnessed a decrease in dental caries in pediatric ages. However, recently, this deceleration of its prevalence and severity rates has been slow. The need for preventive strategies more adjusted to behaviors and the adoption of measures in an anticipatory stage, during the odontogenesis period, may contribute to a more efficient preventive approach of dental caries in children. The motivation for conducting this research is based on that principle.

Objectives: To contribute to a consistent and fruitful knowledge of the state of dental caries in children aged 4 to 7 years and its main behavioral risk factors in these 3 years. We also aim to explore the potential effect of vitamin D levels on dental caries prevalence in pediatric ages.

Methods: The methodology followed in this thesis included several stages: 1) conducting a prospective cohort study in a sample of 607 children assessed at 4 and 7 years old in the context of the Generation XXI Project. In both ages, information on the children's habits and behaviors was obtained using questionnaires for the parents/guardians, and health-care professionals performed a physical examination. Dental caries were recorded using the ICDAS II; 2) conducting a systematic review on the association between vitamin D levels and caries prevalence/experience in children. Specific eligibility criteria were established to acquire solid and reliable knowledge on this aspect; 3) assessing the association between vitamin D serum levels and dental caries prevalence in the mixed dentition stage and in permanent teeth in the oral cavity at 7 years of age. This assessment was conducted by an observational, analytical, cross-sectional study in a sample of 335 children from the same cohort.

Results: Between 4 and 7 years of age, 51.2% of children had at least one tooth with a new caries lesion or a lost or filled tooth due to dental caries, while 27.4% had over two teeth affected by dental caries. Children that had a dietary pattern of consuming "Energy-dense foods" (OR=2.19; CI 95%: 1.41-3.41) and "Snacking" (OR=2.19; CI 95%:

1.20-4.00) and ate food before bedtime after brushing their teeth (OR=1.77; CI 95%: 1.15-2.74) at 4 years old had a significant risk of G-DCD at 7 years old.

The systematic review showed evidence, although weak, of an association between insufficient vitamin D levels and higher dental caries prevalence/experience, highlighting that 25(OH) D levels below 75 nmol/L seem to be more relevant for dental caries development than IOM's reference values.

At 7 years old, eating more than 1 cariogenic food per day (OR=1.30; CI 95%: 1.03-1.40), having had a dental visit previously (OR=3.21; CI 95%: 1.26-8.22), having gastrointestinal diseases (OR=5.01; CI 95%: 1.13-22.15), and having 25(OH) D levels below 75 nmol/L (OR=2.27; IC 95%: 1.05-5.00) was associated with the presence of cavitated dental caries in permanent teeth.

Conclusions: The post-eruption strategies for preventing dental caries in children should focus particularly on dietary habits and consumption characteristics. In the pre-eruption period, during odontogenesis, the sufficient vitamin D levels established by the Endocrine Society may offer an important additional preventive effect for dental caries by optimizing tooth development.

Keywords: dental caries; dental caries risk factors; children; vitamin D; 25-hydroxyvitamin D; dietary patterns; oral hygiene; preventive dentistry; pediatric dentistry; oral public health; public health.

Agradecimentos

É imperativo enaltecer o especial apoio prestado ao desenvolvimento deste trabalho de investigação a:

Professor Doutor Paulo Melo, FMDUP

Professora Doutora Sandra Gavinha, UFP

Professora Doutora Maria Helena Fernandes, FMDUP

Professora Doutora Maria da Conceição Manso, UFP

Professor Doutor Henrique Barros, ISPUP/FMUP

Professora Doutora Ana Cristina Santos, ISPUP/FMUP

Professor Doutor João Tiago Guimarães, ISPUP/FMUP

Professora Doutora Carla Lopes, ISPUP/FMUP

Todas as crianças e famílias do Projeto Geração XXI

Membros da equipa do Projeto Geração XXI

Aos meus pais

Ao Miler

“É muito melhor arriscar coisas grandiosas, alcançar triunfos e glórias, mesmo expondo-se à derrota, do que formar fila com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem nessa penumbra cinzenta que não conhece nem vitória, nem derrota”

Theodore Roosevelt

“Os que se encantam com a prática sem ciência são como os timoneiros que entram no navio sem timão nem bússola, nunca tendo certeza do seu destino”

Leonardo da Vinci

Muito obrigada

Membros do Conselho Científico
da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

Doutor Álvaro Amadeu Ferreira de Azevedo, Professor Auxiliar
Doutor Américo dos Santos Afonso, Professor Catedrático
Doutora Ana Paula Macedo Coelho Augusto, Professora Auxiliar
Doutora Ana Paula Mendes Alves Peixoto Norton, Professora Auxiliar
Doutor César Fernando Coelho Leal da Silva, Professor Associado com Agregação
(Secretário)
Doutor Filipe Poças de Almeida Coimbra, Professor Auxiliar com Agregação
Doutor Germano Neves Pinto da Rocha, Professor Associado
Doutora Inês Alexandra Costa Morais Caldas, Professora Associada com Agregação
Doutora Irene Graça Azevedo Pina Vaz, Professora Associada com Agregação
Doutor João Carlos Antunes Sampaio Fernandes, Professor Catedrático (Vice-Presidente)
Doutor José António Ferreira Lobo Pereira, Professor Auxiliar
Doutor José António Macedo de Carvalho Capelas, Professor Associado com Agregação
Doutor José Mário de Castro Rocha, Professor Auxiliar
Doutora Maria Benedita Almeida Garrett Sampaio Maia Marques, Professora Auxiliar
com Agregação
Doutora Maria Cristina Pinto Coelho Mendonça de Figueiredo Pollmann, Professora
Associada com Agregação
Doutora Maria de Lurdes Ferreira Lobo Pereira, Professora Auxiliar com Agregação
Doutora Maria Helena Guimarães Figueiral da Silva, Professora Catedrática
Doutora Maria Helena Raposo Fernandes, Professora Catedrática
Doutor Mário Jorge Rebolho Fernandes da Silva, Professor Catedrático
Doutor Mário Ramalho de Vasconcelos, Professor Associado com Agregação
Doutor Miguel Fernando da Silva Gonçalves Pinto, Professor Catedrático (Presidente)
Doutor Paulo Rui Galvão Ribeiro de Melo, Professor Associado com Agregação
Doutor Pedro de Sousa Gomes, Professor Associado com Agregação
Doutor Pedro Manuel Vasconcelos Mesquita, Professor Auxiliar
Doutor Ricardo Manuel Casaleiro Lobo de Faria e Almeida, Professor Catedrático

Nota prévia

Ao longo desta dissertação surgem, por vezes, expressões, siglas e acrónimos no texto e nas figuras em língua Inglesa, como resultado da necessidade de uniformização global dos termos usados para descrever conceitos biológicos entre culturas e línguas diferentes. A tradução destas expressões poderia implicar a distorção do seu significado original e a alteração do conceito biológico que se pretende identificar.

Lista de siglas e acrónimos

AAPD	<i>American Academy of Pediatric Dentistry</i> Academia Americana de Odontopediatria
AMBN	<i>Ameloblastin</i> Ameloblastina
AMELX	<i>Amelogenin, X isoform</i> Amelogenina, isoforma X
BGLAP	<i>Bone gamma-carboxyglutamate protein</i> Proteína óssea gama-carboxiglutamato
BSP	<i>Bone sialoprotein</i> Sialoproteína óssea
ceod	Dentes decíduos cariados extraídos e obturados por cárie
CPI	Cárie precoce da infância
CPO	Índice de dentes cariados perdidos e obturados por cárie (dentição permanente)
cpo	Índice de dentes cariados perdidos e obturados por cárie (dentição decídua)
CPOD	Dentes permanentes cariados perdidos e obturados por cárie
cpod	Dentes decíduos cariados perdidos e obturados por cárie
CPOS	Superfícies de dentes permanentes cariadas perdidas ou obturadas por cárie
cpo	Superfícies de dentes decíduos cariadas perdidas ou obturadas por cárie
DCD	Desenvolvimento de cárie dentária
DDE	Defeitos de desenvolvimento de esmalte
DGS	Direção-Geral da Saúde
DMP1	<i>Dentin matrix acidic phosphoprotein 1</i> Fosfoproteína ácida 1 da matriz de dentina
dp	Desvio-padrão
DPP	<i>Dentin phosphoprotein</i> Fosfoproteína dentinária
DSP	<i>Dentin sialoprotein</i> Sialoproteína dentinária
DSPP	<i>Dentin sialophosphoprotein</i> Sialofosfoproteína da dentina
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i> Ensaio de imunoabsorção enzimática
ENAM	<i>Enamelin</i> Enamelina
EPS	<i>Exopolysaccharides</i> Exopolissacarídeos
ESPGHAN	<i>European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition</i>
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FGF23	<i>Fibroblast growth factor 23</i>

	Fator de crescimento fibroblástico 23
FMDUP	Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto
FMUP	Faculdade de Medicina da Universidade do Porto
g	Gramas
G-DCD	Grave–desenvolvimento de cárie dentária
HERS	<i>Hertwig's epithelial root sheath</i> Bainha radicular epitelial de Hertwig
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i> Cromatografia líquida de alta eficiência
IANAF	Inquérito Nacional sobre Alimentação, Nutrição e Atividade Física
IBSP	<i>Integrin binding sialoprotein</i> Sialoproteína de ligação à integrina
IC	Intervalo de confiança
ICDAS II	<i>International Caries Detection and Assessment System II</i>
ICs	Intervalos de confiança
AIQ	Amplitude interquartil
IMC	Índice de massa corporal
IOM	<i>Institute of Medicine</i>
Kcal	Quilocalorias
Kg/m²	Quilograma por metro quadrado
LC-MS/MS	<i>Liquid chromatography with tandem mass spectrometry</i> Cromatografia líquida associada à espectrometria de massa
mg	miligramas
MMP20	<i>Matrix metalloproteinase-20</i> Metaloproteinase-20 da matriz
ng/ml	Nanogramas por mililitro
NHANES	<i>National Health and Nutrition Examination Survey</i>
nmol/L	Nanomoles por litro
OCN	<i>Osteocalcin</i> Osteocalcina
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPN	<i>Osteoprotegerin</i> Osteoprotegerina
OR	<i>Odds ratio</i>
PNPSO	Programa Nacional de Promoção da Saúde Oral
ppm	Partes por milhão
PTH	Paratormona
PTH1R	<i>Parathyroid hormone 1 receptor</i>

	Recetor da hormona paratireoide 1
QFA	Questionário de frequência alimentar
RANKL	<i>Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand</i> Ativador de recetores do fator nuclear kappa-B ligante
RUNX2	<i>Runt-related transcription factor 2</i> Fator de transcrição associado à <i>runt</i>
SIBLINGs	<i>Small-integrin binding ligand N-linked glycoproteins</i> Ligante de ligação à integrina pequena, glicoproteínas ligadas em N
SiC	<i>Significant caries index</i>
SNS	Serviço Nacional de Saúde
SPP1	<i>Secreted phosphoprotein 1</i> Fosfoproteína 1 secretada
TNFRSF11B	<i>Tumor necrosis factor receptor superfamily member 11B</i> Recetor do fator de necrose tumoral membro 11B da superfamília
TNFSF11	<i>Tumor necrosis factor ligand superfamily member 11</i> Membro 11 da superfamília de ligantes de fatores de necrose tumoral
UI	Unidades internacionais
UVB	Ultravioleta B
VDBP	<i>Vitamin D binding protein</i> Proteína de ligação à vitamina D
VDR	<i>Vitamin D receptor</i> Recetor da vitamina D
VDREs	<i>Vitamin D response elements</i> Elementos de resposta à vitamina D
1,25(OH) D	1,25-dihidroxivitamina D
1ºs MP	Primeiros molares permanentes
24-OHase	24-hidroxilase
25(OH) D	25-hidroxivitamina D
7-DHC	7-dehidrocolesterol
€	Euros
µg	Microgramas

Índice de anexos

(em volume separado)

	página
Anexo 1 Autorização para a utilização de figuras	7
Anexo 2 Parecer da Comissão de Ética da FMUP	25
Anexo 3 Declaração da Autoridade Portuguesa para a Proteção de Dados	31
Anexo 4 Declaração de consentimento informado ao nascimento	35
Anexo 5 Declaração de consentimento informado – 4 anos de idade	39
Anexo 6 Declaração de consentimento informado – 7 anos de idade	43
Anexo 7 Questionário geral aplicado ao nascimento – bebé e mãe (parciais)	47
Anexo 8 Questionário geral aplicado aos 4 anos de idade – criança (parcial)	57
Anexo 9 Questionário geral aplicado aos 7 anos de idade – criança (parcial)	69
Anexo 10 Questionário de medicina dentária aplicado aos 4 anos de idade – criança	79
Anexo 11 Questionário de medicina dentária aplicado aos 7 anos de idade – criança	89
Anexo 12 Estratégia da pesquisa bibliográfica seguida na revisão sistemática	95
Anexo 13 Artigos excluídos e razões para a sua não inclusão	99

Índice de figuras

	página
Figura 1. A complexa e dinâmica interação hospedeiro-micro-organismos-dieta na etiologia e patogénese da CPI.	16
Figura 2. Período de risco para a aquisição de DDE e cárie dentária de acordo com o desenvolvimento da dentição decídua e permanente.	26
Figura 3. DDE numa criança de 1,5 anos. Dentes 5.1 e 6.1 com hipoplasia de esmalte.	27
Figura 4. Vitamina D, cálcio, fósforo e metabolismo ósseo.	61

Figura 5.	Perturbações bioquímicas na patogénese do raquitismo com base numa classificação de três estágios do estado da vitamina D (simbolizado pelo sol) e ingestão de cálcio (simbolizado por um copo de leite).	67
Figura 6.	Estágios do desenvolvimento dentário, células e tecidos do complexo dentoalveolar.	81
Figura 7.	Mecanismos sugeridos do impacto da vitamina D e da deficiência de vitamina D na periodontite e na cirurgia periodontal regenerativa.	96
Figura 8.	Diagrama de fluxo PRISMA com a informação sobre as diferentes fases da seleção dos artigos.	144
Figura 9.	Análise de risco de viés do ensaio clínico controlado randomizado. (+): Baixo risco de viés. (-): Elevado risco de viés. (?): risco incerto de viés.	155

Índice de tabelas

	página
Tabela 1.	Características dos estudos selecionados, prevalência e/ou experiência de cárie dentária em crianças e jovens portugueses (1990-2020).
	44
Tabela 2.	Cronograma de formação, mineralização e erupção da dentição decídua e permanente.
	88
Tabela 3.	Comparação entre as características dos participantes elegíveis e a restante coorte avaliada no início do estudo.
	110
Tabela 4.	Crítérios do ICDAS II para o registo de restaurações e selantes (primeiro dígito), lesões de cárie dentária (segundo dígito) e dentes ausentes.
	116
Tabela 5.	Prevalência e gravidade da cárie dentária na amostra deste estudo aos 4 e aos 7 anos de idade.
	119
Tabela 6.	Características das crianças da amostra de acordo com a experiência de cárie dentária aos 4 (c ₃₋₆ pod=0 vs. c ₃₋₆ pod>0) e aos 7 anos de idade (c ₃₋₆ pod/C ₃₋₆ POD=0 vs. c ₃₋₆ pod/C ₃₋₆ POD>0).
	120
Tabela 7.	Análise bivariada entre o desenvolvimento de cárie dentária e o grave desenvolvimento de cárie dentária entre os 4 e os 7 anos de idade com as variáveis independentes aos 4 anos (exposição).
	122
Tabela 8.	Modelo de regressão logística multivariável para predição do desenvolvimento de cárie dentária e do grave desenvolvimento de cárie dentária em crianças dos 4 aos 7 anos de idade.
	124

Tabela 9.	Características dos estudos incluídos na revisão sistemática.	146
Tabela 10.	Avaliação da qualidade dos estudos transversais incluídos na revisão sistemática de acordo com a escala de Newcastle-Ottawa modificada.	156
Tabela 11.	Avaliação da qualidade dos estudos de coorte incluídos de acordo com a escala de Newcastle-Ottawa.	157
Tabela 12.	Comparação entre as características dos participantes elegíveis e a restante coorte avaliada no início do estudo.	171
Tabela 13.	Características das mães e das crianças de toda a amostra e das crianças de acordo com a presença de cárie dentária (sim/não) na fase mista da dentição e na dentição permanente, e das crianças com presença de cárie dentária cavitada (sim/não) na fase mista da dentição e na dentição permanente.	179
Tabela 14.	Associação dose-resposta entre os níveis de 25(OH) D e as atividades de “tempos livres” das crianças aos 7 anos de idade (minutos semanais).	181
Tabela 15.	Prevalência e gravidade da cárie dentária na amostra deste estudo.	182
Tabela 16.	Prevalência de cárie dentária e de cárie dentária cavitada na fase mista da dentição e na dentição permanente de acordo com os níveis séricos de vitamina D.	183
Tabela 17.	Associação não ajustada entre a presença de cárie dentária e de cárie dentária cavitada com os níveis de vitamina D das crianças e a interação entre os níveis de vitamina D e estação do ano.	183
Tabela 18.	Análise bivariada entre a presença de cárie dentária e a presença de cárie dentária cavitada na fase mista da dentição e na dentição permanente com as variáveis independentes (exposição).	185
Tabela 19.	Associação (modelo de regressão logística multivariada) entre a presença de cárie dentária e a presença de cárie dentária cavitada na dentição permanente e na fase mista da dentição e as variáveis de exposição consideradas.	187

Índice de gráficos

		página
Gráfico 1.	Associação entre o padrão alimentar “Alimentos densamente energéticos” aos 4 e aos 7 anos de idade.	125
Gráfico 2.	Associação entre o padrão alimentar <i>Snacking</i> aos 4 e aos 7 anos de idade.	125
Gráfico 3.	Associação entre a frequência da escovagem dentária aos 4 e aos 7 anos de idade.	126

Gráfico 4.	Associação entre a supervisão da escovagem dentária aos 4 e aos 7 anos de idade.	126
Gráfico 5.	Associação entre a ingestão de alimentos antes de ir para a cama, depois da escovagem dentária aos 4 e aos 7 anos de idade.	126
Gráfico 6.	Frequência da utilização de dentífrico fluoretado aos 4 e aos 7 anos de idade.	127

Índice Geral

Lista de siglas e acrónimos	xv
Índice de anexos	xviii
Índice de figuras	xviii
Índice de tabelas	xix
Índice de gráficos	xx
Capítulo I	Introdução
	3
	1. Motivação.....
	4
	2. Objetivos.....
	5
	3. Estrutura da tese.....
	6
Capítulo II	Enquadramento teórico: Cárie dentária na população pediátrica
Secção I	11
	1. Cárie dentária.....
	11
	1.1 Patogénese da cárie dentária.....
	12
	1.2 Determinantes primários da cárie dentária.....
	15
	1.2.1 Bactérias e biofilmes orais.....
	15
	1.2.2 Substrato – comportamentos relacionados com a da dieta.....
	20
	1.2.3 Hospedeiro.....
	24
	i. Estrutura dentária: maturação e defeitos do desenvolvimento.....
	24
	ii. Saliva.....
	27
	1.3 Determinantes secundários da cárie dentária.....
	28
	1.3.1 Fatores sociodemográficos.....
	28
	1.3.2 Comportamentos em saúde oral.....
	30
	1.4 Detecção e diagnóstico de cárie dentária.....
	32
	1.5 Epidemiologia da cárie dentária.....
	36
	1.5.1 Epidemiologia da cárie dentária na população infantil e juvenil em Portugal.....
	40
	i. Estudos com crianças em idade escolar e jovens a partir dos 12 anos de idade.....
	44
	ii. Estudos com crianças em idade pré-escolar....
	46
	iii. Estudos com crianças com necessidades especiais de saúde.....
	49
	1.6 Prevenção da cárie dentária.....
	50
	1.6.1 Importância da prevenção precoce.....
	50
	1.6.2 Fluoretos.....
	52
	1.6.3 Selantes de sulcos e fissuras.....
	56
Capítulo II	Enquadramento teórico: Vitamina D e as estruturas da cavidade oral
Secção II	59
	1. Vitamina D.....
	59
	1.1 Exposição solar e fontes nutricionais.....
	59

Capítulo III

1.2	Absorção, metabolismo e armazenamento.....	60
1.3	Mecanismos de ação da vitamina D.....	62
1.4	Doseamento da vitamina D.....	62
1.5	Insuficiência e/ou deficiência de vitamina D.....	65
1.6	Prevalência da insuficiência e/ou deficiência de vitamina D.....	67
1.7	Toxicidade da vitamina D.....	71
1.8	Recomendações para a prevenção da deficiência de vitamina D..	73
1.9	Rastreio dos níveis de vitamina D.....	76
2.	Vitamina D e o desenvolvimento das estruturas orais.....	77
2.1	História da vitamina D e os tecidos orais.....	77
2.2	Células e tecidos dentários e alveolar.....	79
2.2.1	Desenvolvimento inicial do dente.....	79
2.2.2	Amelogénese.....	83
2.2.3	Dentinogénese.....	84
2.2.4	Outros tecidos dentários.....	85
2.3	Metabolismo e mecanismos de ação da vitamina D nas células dentárias.....	88
2.4	Níveis de vitamina D e as doenças do complexo dentoalveolar....	91
2.4.1	Mineralização e cárie dentária.....	91
2.4.2	Doença periodontal.....	94
2.4.3	Tratamento ortodôntico.....	96
2.4.4	Patologia oral.....	97
2.5	Raquitismo nutricional e doenças hereditárias relacionadas à vitamina D na saúde oral.....	98
	Estudo longitudinal de cárie dentária em crianças dos 4 aos 7 anos de idade	103
1.	Introdução e objetivos.....	103
2.	Material e métodos.....	106
2.1	Tipo de estudo.....	106
2.2	Amostra.....	106
2.3	Critérios de inclusão e de exclusão.....	107
2.4	Local do estudo.....	108
2.5	Consentimento informado, aspetos éticos e médico-legais.....	108
2.6	Recolha de dados e avaliações físicas.....	109
2.6.1	Avaliação do consumo alimentar.....	111
2.6.2	Avaliação da saúde oral.....	112
i.	Equipa de examinadores.....	112
ii.	Dados de saúde oral.....	113
iii.	Exame clínico da cavidade oral – condições de avaliação.....	114
iv.	Exame clínico da cavidade oral – registo clínico e critérios adotados.....	115
2.7	Análise estatística.....	117
3.	Resultados.....	119
4.	Discussão.....	127
4.1	Análise crítica.....	130
5.	Conclusões.....	132

	6. Tópicos prementes de consideração.....	133
Capítulo IV	Cárie dentária e vitamina D – Revisão sistemática	137
	1. Introdução e objetivo.....	137
	2. Materiais e métodos.....	140
	2.1 Desenho do estudo.....	140
	2.2 Estratégia de pesquisa.....	140
	2.3 Elegibilidade.....	141
	2.4 Seleção dos artigos e extração da informação.....	142
	2.5 Risco de viés.....	142
	3. Resultados.....	143
	3.1 Seleção e características dos estudos.....	143
	3.2 Síntese dos principais resultados.....	145
	3.3 Risco de viés.....	155
	4. Discussão.....	158
	4.1 Limitações.....	160
	5. Conclusões.....	161
	6. Tópicos prementes de consideração.....	162
Capítulo V	Cárie dentária e vitamina D – Estudo transversal	167
	1. Introdução e objetivos.....	167
	2. Material e métodos.....	169
	2.1 Tipo de estudo.....	169
	2.2 Amostra.....	169
	2.3 Critérios de inclusão e de exclusão.....	169
	2.4 Local do estudo.....	170
	2.5 Consentimento informado, aspetos éticos e médico-legais.....	170
	2.6 Recolha de dados e avaliações.....	171
	2.6.1 Avaliação de saúde oral.....	172
	2.6.2 Níveis séricos de vitamina D.....	175
	i. Medição de 25(OH) D – condições de avaliação.....	175
	ii. Medição de 25(OH) D – método de avaliação e registo.....	175
	2.7 Análise estatística.....	176
	3. Resultados.....	177
	4. Discussão.....	189
	5. Conclusões.....	195
Capítulo VI	Discussão	199
	1. Análise crítica e limitações metodológicas.....	199
	1.1 Cárie dentária na população pediátrica.....	199
	1.2 Estudo longitudinal de cárie dentária em crianças dos 4 aos 7 anos de idade.....	200
	1.3 Vitamina D e as estruturas da cavidade oral.....	203
	1.4 Cárie dentária e vitamina D – Revisão sistemática.....	204

	1.5 Cárie dentária e vitamina D – Estudo transversal.....	205
Capítulo VII	Conclusões e perspectivas futuras	213
Capítulo VIII	Bibliografia	221
Capítulo IX	Anexos (em volume separado)	

CAPÍTULO I

– Introdução

I – Introdução

A cárie dentária é uma das doenças crônicas mais prevalentes na faixa etária pediátrica, estimando-se que cerca de 621 milhões de crianças em todo o mundo apresentem lesões de cárie não tratadas na dentição decídua ⁽¹⁾.

Uma revisão sistemática com meta-análise recentemente publicada, com o intuito de determinar a prevalência desta doença na dentição decídua e permanente em crianças de diferentes continentes, demonstrou que a prevalência da cárie permanece atualmente muito elevada ⁽²⁾. Pela sua prevalência preocupante e por outras características que estão inerentes ao seu processo fisiopatológico, a cárie dentária continua a representar um importante problema de saúde pública na idade pediátrica ^(3,4).

Na etiologia da cárie podem estar envolvidos vários fatores de risco, nomeadamente, fatores modificáveis como os hábitos dietéticos e de higiene oral, ou fatores não modificáveis como o nível socioeconómico da família e a experiência prévia de cárie dentária ⁽⁵⁾.

As estratégias preventivas elencadas nos últimos anos têm sido, sobretudo, direcionadas para os fatores de risco relacionados com os comportamentos alimentares e de higiene oral, incluindo a exposição aos fluoretos. Mesmo assim, apesar do declínio observado na prevalência da doença nas últimas décadas, assiste-se presentemente, a uma prevalência global da doença alarmante nesta faixa etária, com uma tendência decrescente, porém, muito lenta.

Sob uma perspetiva mais holística da doença e dos seus fatores de risco torna-se pertinente a investigação de outros métodos preventivos complementares, nomeadamente, relacionados com a otimização do desenvolvimento das estruturas dentárias, os quais podem contribuir para a menor suscetibilidade do dente para o início e para a progressão da cárie dentária.

O desenvolvimento dentário depende de um amplo número de micronutrientes entre os quais se destaca a vitamina D ⁽⁶⁻⁹⁾.

A potencial influência desta hormona nos tecidos dentoalveolares reside na plausibilidade biológica dos mecanismos que lhe estão subjacentes, nomeadamente, na regulação dos níveis séricos de cálcio, fosfato e da paratormona (PHT), no controlo da odontogénese e na regulação e modulação do sistema imunitário ^(6,10).

Todavia, as evidências sobre a associação entre os níveis de vitamina D e a cárie dentária são conflitantes, permanecendo esta associação como controversa na literatura. Enquanto alguns estudos têm demonstrado que as concentrações insuficientes/deficientes de vitamina D na infância podem desempenhar um papel importante no início e progressão das lesões de cárie, outros estudos não demonstram a existência de associação ⁽¹¹⁻¹⁴⁾.

1. Motivação

A elevada prevalência da cárie dentária em crianças impõe a necessidade premente de medidas que permitam uma abordagem preventiva assertiva direcionada às várias fases do desenvolvimento das crianças. Para o desenvolvimento de estratégias preventivas eficientes é necessário um entendimento claro de como a cárie dentária se desenvolve e progride ao longo do tempo e os fatores que determinam essa progressão. No entanto, a maioria das investigações que se debruçam sobre o estudo dos fatores de risco da cárie em idade pediátrica apresentam-se como uma “fotografia” do que acontece numa determinada amostra num momento específico do tempo.

Neste sentido, urge a realização de estudos que permitam que os fatores de risco comportamentais possam ser avaliados longitudinalmente, de forma a existir uma melhor compreensão da especificidade da etiologia e do desenvolvimento da doença permitindo assim, melhorar as abordagens preventivas.

Subjacente à proposição de que outros fatores para além dos considerados “clássicos” podem estar relacionados com o desenvolvimento de cárie dentária, torna-se pertinente,

a investigação de mecanismos que podem complementar as medidas preventivas veiculadas atualmente.

A prevenção da cárie dentária deve iniciar-se logo no período da odontogênese, tendo em consideração o conhecimento de que determinadas exposições durante esta fase podem ter uma influência variável na qualidade e quantidade da estrutura dentária. Destas exposições pode advir uma maior ou menor resistência do dente para o desenvolvimento da doença. Neste conspecto, com vista a uma intervenção preventiva antecipatória, emerge o interesse pelo estudo da vitamina D como um potencial determinante da manifestação de cárie dentária nas crianças.

Os estudos realizados nesta investigação têm como premissa comum, a necessidade de um entendimento aprimorado sobre os fatores relacionados com a cárie dentária em crianças na fase mista da dentição para que, deste modo, estratégias preventivas para a doença possam ser melhor ajustadas e implementadas em idades cada vez mais precoces.

2. Objetivos

Os objetivos gerais deste estudo são:

– Contribuir para um conhecimento profícuo e robusto relativo ao estado de cárie dentária em crianças entre os 4 e os 7 anos de idade e aos seus principais fatores de risco de índole comportamental neste período de 3 anos.

Subobjetivos:

- investigar a associação prospetiva entre os padrões alimentares e os comportamentos de saúde oral em crianças aos 4 anos de idade da coorte Geração XXI e a cárie dentária nessas crianças aos 7 anos;
- avaliar se os comportamentos alimentares e os relacionados com a saúde oral aos 4 anos de idade estão associados com o mesmo padrão de exposição 3 anos depois.

– Explorar o potencial efeito dos níveis de vitamina D na prevalência da cárie dentária em idade pediátrica.

Subobjetivos:

- avaliar, através da realização de uma revisão sistemática, a associação entre os níveis pré-natais e infantis de vitamina D e a prevalência/experiência da cárie dentária em crianças;
- avaliar a associação entre os níveis séricos de vitamina D e a prevalência de cárie dentária na fase mista da dentição e nos dentes permanentes de uma amostra de crianças de 7 anos de idade da coorte Geração XXI.

3. Estrutura da tese

Esta tese está organizada em vários capítulos.

No capítulo I apresenta-se uma breve introdução ao tema que será alvo de dissertação, apresenta-se igualmente as motivações da autora para a realização deste trabalho e os objetivos a que se propôs.

O enquadramento teórico do tema é apresentado no capítulo II. Este capítulo inclui a secção I onde são abordadas considerações gerais sobre a cárie dentária na população pediátrica; e uma secção II onde são apresentados conceitos, postulados e diretrizes sobre a vitamina D e a sua relação com as estruturas dentoalveolares.

A componente de investigação desta tese compreende três fases.

A primeira, no capítulo III, correspondente à realização de um estudo longitudinal em crianças da coorte Geração XXI sobre fatores de risco modificáveis da cárie dentária (comportamentos relacionados com a alimentação e a saúde oral).

Perante a relevância da dieta na etiologia da cárie dentária, o objetivo do capítulo IV reside na realização de uma revisão sistemática sobre a influência dos níveis pré-natais e

infantis de vitamina D na prevalência desta doença, tendo em consideração a sua importância discutível e questionável, reportada na literatura, nas idades mais jovens.

Considerando as limitações detetadas nos estudos analisados no capítulo IV, apresenta-se no capítulo V um estudo observacional do tipo analítico e transversal que tem por objetivo caracterizar a influência da vitamina D na cárie dentária numa amostra de crianças portuguesas da coorte Geração XXI.

Por fim, a tese inclui a discussão geral do trabalho no capítulo VI e as principais conclusões e perspetivas futuras no capítulo VII.

Com o objetivo de assegurar uma continuidade e um adequado enquadramento aos diferentes subcapítulos será ocasionalmente necessária a repetição de determinados assuntos perspetivados, de acordo com a temática especificamente abordada.

CAPÍTULO II

– Enquadramento teórico – Secção I: Cárie dentária na população pediátrica

II – Enquadramento teórico

Secção I: Cárie dentária na população pediátrica

1. Cárie dentária

De acordo com o relatório do consenso elaborado pela *European Organisation for Caries Research* e pelo grupo de investigação em cariologia da *International Association for Dental Research* em 2019, o conceito de cárie dentária foi definido como uma doença dinâmica, multifatorial, não transmissível, mediada pelo biofilme e modulada pela dieta e que resulta numa perda mineral dos tecidos dentários duros ^(15,16). É uma doença determinada por fatores biológicos, comportamentais, psicossociais e ambientais e, como consequência desse processo, desenvolve-se uma lesão de cárie ⁽¹⁷⁾.

A lesão de cárie dentária é o sinal clínico da doença ^(17,18) e pode ser categorizada de acordo com a sua localização anatómica no dente (superfície coronária ou radicular), a sua gravidade (não cavitada, cavitada), a sua extensão (esmalte, dentina, polpa) e o seu estado de atividade (ativa, inativa) ⁽¹⁷⁾.

A terminologia da cárie dentária em crianças de idade pré-escolar, nas últimas décadas, recebeu várias denominações, sobretudo relacionadas com a alimentação infantil com biberão como fator etiológico *major* para o desenvolvimento da doença. Todavia, mais recentemente, no sentido de evidenciar que nem todas as lesões de cárie em idade precoce são devidas ao uso do biberão e que, embora este hábito possa estar normalmente associado a um aumento do risco de cárie, não é o único, e nem necessariamente o fator mais importante para o seu desenvolvimento, foi sugerida uma designação menos específica para este quadro da doença: cárie precoce da infância (CPI) ⁽¹⁹⁾.

A CPI é definida como a presença de uma ou mais superfícies dentárias cariadas (cavitadas ou não cavitadas), perdidas (devido a cárie), ou restauradas em qualquer dente decíduo numa criança com idade inferior a 6 anos de idade ⁽²⁰⁾. Caracteriza-se pelo seu início precoce, uma progressão geralmente rápida que pode resultar na destruição

completa da dentição decídua devido ao consumo frequente de hidratos de carbono (especialmente açúcares) e a hábitos de higiene oral inadequados (ou mesmo ausentes) (17,19).

A colonização bacteriana precoce, a amamentação prolongada, os hábitos de sucção nutritivos noturnos (especialmente com substâncias açucaradas), os defeitos de desenvolvimento do esmalte (DDE), a exposição inadequada aos fluoretos, os cuidados de higiene oral irregulares, as alterações sistémicas e a condição socioeconómica da família das crianças são alguns dos fatores etiológicos hipoteticamente relacionados com a CPI (21–25).

Em crianças muito pequenas, a cárie dentária pode apresentar um padrão atípico de progressão, em particular nas superfícies de menor suscetibilidade à manifestação da doença, nomeadamente as superfícies lisas dos dentes ântero-superiores que, tendo em conta a idade e a gravidade da afetação dentária, pode ser denominada por CPI Grave (26).

De acordo com a Academia Americana de Odontopediatria (AAPD) a CPI Grave consiste em qualquer sinal de cárie (cavitada ou não) em superfícies lisas numa criança com idade inferior a 3 anos de idade, entre os 3 e os 5 anos: uma ou mais superfícies dentárias lisas cariadas, perdidas (devido a cárie), ou restauradas nos dentes ântero-superiores decíduos ou um valor médio de dentes cariados, perdidos ou obturados por cárie (cpod) maior ou igual a 4 aos 3 anos de idade, maior ou igual a 5 aos 4 anos de idade, ou maior ou igual a 6 aos 5 anos de idade (19).

11. Patogénese da cárie dentária

Os mecanismos e a fisiopatologia subjacentes ao desenvolvimento da cárie dentária são cada vez melhor compreendidos e considerados. Em primeiro lugar pelos aspetos relacionados aos tecidos duros, ou seja, como a doença afeta os tecidos dentários calcificados e, em segundo lugar, pela compreensão mais aprimorada dos aspetos relacionados à microbiologia oral envolvida, principalmente aos biofilmes dentários (16).

Ao nível da superfície dentária, o processo cariogénico reflete a atividade metabólica da placa bacteriana e resulta de um desequilíbrio mantido ao longo do tempo entre os minerais da superfície dentária e os biofilmes dentários (27,28). O mecanismo tem por base

a atividade de determinadas espécies bacterianas presentes na cavidade oral, particularmente do género *Streptococcus* (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*) e *Lactobacillus*, não obstante, outras espécies bacterianas poderem também estar envolvidas neste processo ^(27,29,30).

A flora oral comensal está em equilíbrio com o hospedeiro, porém, na presença de uma dieta rica em hidratos de carbono, os micro-organismos cariogénicos multiplicam-se e produzem ácidos em consequência da fermentação deste substrato ⁽²⁷⁾.

Embora um amplo número de ácidos orgânicos possa ser produzido por micro-organismos do biofilme dentário, o ácido láctico é o produto final predominante do metabolismo dos açúcares ⁽³¹⁾ e é considerado o principal ácido envolvido no processo de desenvolvimento da lesão de cárie. Esta produção de ácido provoca uma descida acentuada do pH da placa bacteriana e, conseqüentemente, um ambiente subsaturado em iões cálcio e fósforo. A perda que ocorre no componente mineral irá favorecer um aumento da porosidade, um alargamento dos espaços entre os cristais do esmalte e um “amolecimento” da superfície, permitindo que os ácidos se difundam mais profundamente no dente tendo como resultado a desmineralização da subsuperfície do esmalte ^(16,32).

A acumulação de produtos de reação resultantes da dissolução da superfície e subsuperfície, principalmente cálcio e fosfato, aumenta o grau de saturação destes iões na saliva, podendo funcionar como um mecanismo protetor parcial da camada superficial do esmalte dentário ⁽³²⁾. A remineralização tenderá a prevalecer especialmente se a descida do pH for contrariada e reposta a neutralidade por ação tampão salivar num período de tempo aceitável ^(33–35).

À medida que a desmineralização progride para a subsuperfície do esmalte com uma exposição ácida contínua e, subsequente queda do pH, a taxa de perda mineral torna-se mais expressiva na subsuperfície do que na superfície, resultando na formação de uma lesão subsuperficial. Quando uma quantidade suficiente de conteúdo mineral é perdida, a lesão apresenta-se clinicamente como uma mancha branca opaca ⁽¹⁸⁾.

Esta é uma etapa clinicamente importante do processo de cárie, uma vez que a lesão pode

ser interrompida ou revertida modificando os fatores causais ou aplicando medidas preventivas. Contudo, o processo de reparação estrutural é normalmente restrito principalmente à camada superficial ⁽¹⁶⁾.

A reversibilidade do processo está dependente da disponibilidade e capacidade de captação de cálcio, fosfato e fluoretos (desejavelmente presentes no meio oral) por parte dos tecidos dentários, com vista à sua remineralização ⁽³³⁾. Os fluoretos atuam, neste caso, como agentes catalisadores para a difusão do cálcio e do fosfato contribuindo de forma decisiva para a remineralização ^(32,33).

Através da aplicação de produtos fluoretados na cavidade oral ocorre a precipitação dos cristais de fluoreto de cálcio na superfície do dente. Este sal funciona como uma fonte de reserva de flúor. Mesmo sendo esta reserva temporária, a sua solubilidade é elevada e o ião flúor é gradualmente libertado estando constantemente disponível para promover a remineralização ⁽³⁶⁾.

Neste sentido, o processo de cárie em estágio inicial pode ser interrompido e permanecer no estado em que se encontra com mudanças na ecologia local, práticas dietéticas adequadas e suficiente disponibilidade de fluoretos. Embora permaneça clinicamente reconhecível como uma “cicatriz” no esmalte devido às mudanças nas propriedades óticas desta estrutura, esta torna-se uma lesão inativa que não progride. A lesão remineraliza através da reprecipitação do conteúdo mineral na lesão ou permanece como uma lesão ativa e progride para um estágio mais avançado de cavitação dentária ⁽¹⁶⁾.

Se o processo de cárie progredir, a porosidade da superfície aumenta com a formação de microcavitações no esmalte. Na cárie coronária, a camada superficial da lesão pode eventualmente colapsar, resultando em cavitação física. A cavitação é resultante da difusão contínua de diferentes componentes estruturais dos tecidos dentários para o meio oral ^(35,37-39).

Mesmo neste estágio mais extenso de gravidade da cárie, uma lesão pode, em circunstâncias ideais, ser remineralizada embora a cavidade persista. Quando um estágio desta magnitude é alcançado, comumente combinado com sintomas e/ou necessidades de natureza funcional ou estética do paciente, a intervenção terapêutica está indicada ⁽¹⁶⁾.

Existe, face ao exposto, um permanente compromisso de equilíbrio entre os fenómenos de desmineralização e remineralização em que, da primazia de um destes, resultará uma lesão irreversível progressivamente cavitada, ou uma reparação estrutural se revertida a ação nefasta dos diferentes ácidos ^(27,35,37-39). Devido à natureza dinâmica deste processo, os estágios iniciais (subclínicos) da cárie dentária podem ser revertidos ou interrompidos, especialmente na presença de flúor ⁽³⁸⁾.

1.2 Determinantes primários da cárie dentária

Os agentes etiológicos da cárie dentária podem ser agrupados em duas categorias principais: os primários ou essenciais, sem a conjugação dos quais não seria possível a ocorrência da doença, e os fatores secundários, de influência variável no início e evolução das lesões; a interação complexa e dinâmica entre estas duas categorias, numa perspetiva ecológica, determinará o desenvolvimento da doença ^(33,34,40,41).

1.2.1 Bactérias e biofilmes orais

A cavidade oral, assim como outras superfícies do corpo humano, é colonizada desde o nascimento por uma variedade de micro-organismos – a microbiota oral. O grupo mais comum de micro-organismos são as bactérias, mas podem estar presentes leveduras, vírus, micoplasmas, protozoários e *Archaea* ⁽⁴²⁾.

A microbiota oral desenvolve-se nas superfícies dentárias como comunidades estruturais, funcionalmente organizadas de espécies que interagem entre si ^(43,44) mantendo, ao mesmo tempo, uma relação simbiótica com o hospedeiro ^(29,42). Os micro-organismos orais residentes beneficiam de um *habitat* termicamente favorável e nutritivo fornecido pelo hospedeiro e, em troca, repelem/afastam os micro-organismos “invasores”, contribuindo para a defesa do hospedeiro e na regulação das respostas pró-inflamatórias ^(42,45).

No período pré-eruptivo o dente é estéril. Só após a sua erupção, ao entrar em contacto com os fluidos da cavidade oral, é que é formada uma película sobre a superfície do esmalte, conhecida como película adquirida. Esta película é formada por uma deposição seletiva de glicoproteínas e fosfoproteínas originárias fundamentalmente da saliva, mas

também de produtos bacterianos e do fluido crevicular ⁽⁴⁶⁾. A película adquirida tem um papel importante na modulação da flora comensal oral, na lubrificação, nas funções protetoras contra o ataque ácido ⁽⁴⁷⁾, nas funções de remineralização e na formação de cristais na superfície dentária ⁽⁴⁸⁾.

Inicialmente, poucas espécies bacterianas são capazes de se fixarem à película adquirida, sendo esta colonização efetuada de forma seletiva ⁽³⁰⁾. As proteínas da película interagem especificamente com as adesinas – moléculas da parede celular bacteriana ⁽⁴⁹⁾. Os primeiros colonizadores da película adquirida são especificamente o *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis* e *Streptococcus mitis* ⁽²⁸⁾. À medida que o biofilme se desenvolve, as adesinas na superfície celular de bactérias colonizadoras secundárias mais exigentes, como bactérias anaeróbias obrigatórias, ligam-se a recetores das bactérias já aderidas por um processo denominado de coadesão ou coagregação, tornando a composição do biofilme mais diversa (sucessão microbiana) e mais complexa ⁽⁵⁰⁾ (Figura 1).

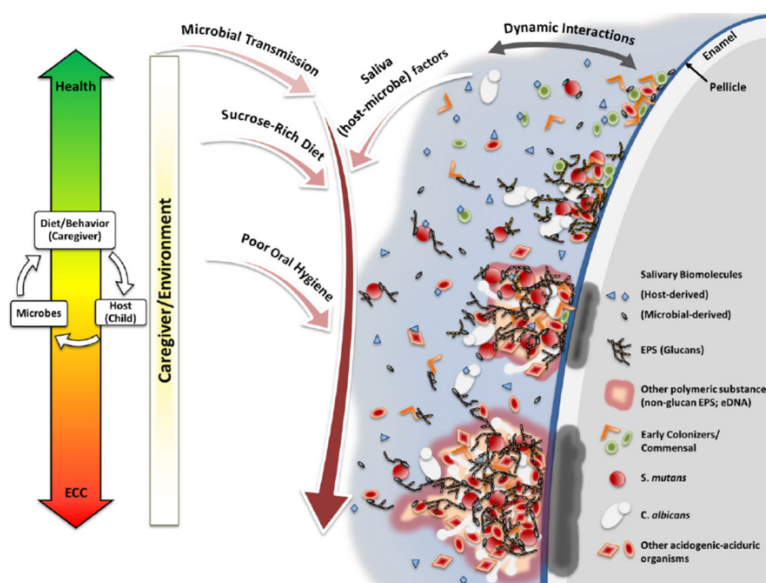


Figura 1. A complexa e dinâmica interação hospedeiro-micro-organismos-dieta na etiologia e patogénese da CPI.

ECC: *Early Childhood Caries*; EPS: *Exopolysaccharides*. (Adaptado de ⁽⁵¹⁾ (Anexo 1)).

O biofilme sofre maturação e inúmeras interações microbianas sinérgicas e antagónicas ocorrem ⁽⁵²⁾. A composição desses biofilmes varia em diferentes superfícies do dente

devido a diferenças nas condições ambientais locais. A atividade metabólica das bactérias da placa bacteriana resulta na produção de vários produtos que são dependentes da dieta do indivíduo. Na ausência de hidratos de carbono fermentáveis são produzidos ácidos orgânicos como o ácido acético, o ácido fórmico, o ácido propiónico e o ácido butírico. Se, pelo contrário, existirem hidratos de carbono fermentáveis disponíveis, a produção principal passa a ser de ácido láctico, o qual provoca uma descida do pH. Quando o pH atinge um valor igual ou abaixo de 5,5, conhecido como o pH crítico, ocorre a desmineralização do esmalte dentário ⁽⁴⁸⁾.

Pensa-se que a flora oral consista em mais de 1000 espécies de micro-organismos das quais só um pequeno número está associado à cárie dentária. As bactérias identificadas como sendo as principais responsáveis pelo processo cariogénico são as do género *Streptococcus*, das quais a maioria dos estudos destaca o *Streptococcus mutans* e o *Streptococcus sobrinus*, e do género *Lactobacillus* ^(53–56).

O grupo *Streptococcus mutans* é descrito como sendo o responsável pela iniciação do processo cariogénico ⁽²⁹⁾, enquanto os *Lactobacillus* relacionam-se com a progressão deste processo ⁽⁵⁴⁾.

O *Streptococcus mutans* utiliza com eficácia a sacarose da dieta (e possivelmente o amido) para sintetizar rapidamente exopolissacarídeos (EPS) (especialmente glucanos insolúveis) e produzir ácidos orgânicos ⁽⁵⁷⁾. Este micro-organismo bacteriano adapta-se ao pH ácido e a outros contextos ambientais de forma eficiente. Algumas das suas estirpes são capazes de transformação genética e produção de bacteriocinas. Estas propriedades do *Streptococcus mutans* contribuem para a sua capacidade de competir com outras bactérias orais (como as produtoras de peróxido de hidrogénio, por exemplo, *Streptococcus gordonii* e *Streptococcus sanguinis*) e iniciar o desenvolvimento do biofilme cariogénico ^(58–60).

No biofilme cariogénico altamente ácido de crianças com CPI, além de *Streptococcus mutans*, são detetadas outras bactérias acidogénicas e tolerantes a ácidos. Essas bactérias incluem *Streptococcus* não-*mutans*, *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e espécies de *Scardovia* que podem contribuir para a patogénese da doença pelo aumento do teor ácido do biofilme ^(61–65). Curiosamente, poucas destas bactérias podem produzir

glucanos insolúveis e, portanto, podem não contribuir para a “montagem” da matriz do biofilme cariogénico ⁽⁵¹⁾.

A revisão de Klein e seus colaboradores, incluindo pesquisas no *Human Oral Microbiome Database*, aponta que a maioria das espécies associadas à síntese de glucanos insolúveis são do grupo *Streptococcus mutans*. Assim, parece que na etiologia da cárie dentária o papel principal do *Streptococcus mutans* consiste em fornecer a matriz de biofilmes, protegendo assim o meio ácido dentro do qual os organismos acidogénicos e acidúricos prosperam ^(51,66). Foi observado noutros biofilmes que o micro-organismo que inicia a formação é frequentemente encontrado em baixo número e até ausente em biofilmes maduros ⁽⁶⁷⁾, o que poderia explicar os níveis variáveis de *Streptococcus mutans* na placa bacteriana ⁽⁶³⁾. O *Streptococcus mutans*, neste sentido, pode “funcionar” como um precursor na formação do biofilme cariogénico (potente produtor de ácido) que “abre caminho” para que outras bactérias cariogénicas se tornem dominantes ⁽⁵¹⁾.

Curiosamente, os resultados de vários estudos clínicos revelam que, além da infeção por *Streptococcus mutans*, o fungo *Candida albicans* é frequentemente detetado em elevado número em biofilmes dentários de crianças com CPI ^(68–70).

Observações *in vitro* ^(71–73) e dados *in vivo* ⁽⁷⁴⁾ demonstram que as interações da *Candida albicans* com o *Streptococcus mutans* também ocorrem nas superfícies dentárias na presença de sacarose ⁽⁵¹⁾, sendo especificamente produzidas grandes quantidades de glucanos ^(72,74).

Além disso, em estudos *in vivo* com modelos animais foi verificado que a presença da *Candida albicans* em biofilmes de espécies mistas, aumenta a capacidade de ambos os micro-organismos para colonizarem os dentes, aumentando drasticamente a quantidade de EPS na matriz do biofilme e aumentando sinergicamente a sua virulência, conduzindo a um início agressivo de cárie dentária (semelhante ao que acontece nas lesões de CPI) ⁽⁷⁴⁾.

Vários estudos transversais e longitudinais reportam uma mudança no equilíbrio da microbiota em superfícies cariadas comparativamente com superfícies saudáveis. Os primeiros estudos apontavam para a presença de uma elevada proporção de *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* associados às lesões de cárie dentária em comparação

com a microbiota encontrada no esmalte saudável, bem como, os *Lactobacillus* eram maioritariamente isolados em lesões avançadas de cárie dentária ⁽⁷⁵⁾. Estas observações levaram à proposta de que a cárie dentária era causada apenas por um subconjunto limitado das muitas espécies encontradas nos biofilmes dentários – a “hipótese específica da placa” ⁽⁷⁶⁾.

No entanto, à medida que mais estudos epidemiológicos foram realizados, a cárie foi observada na aparente ausência dessas bactérias, ao passo que esses organismos poderiam persistir noutras superfícies que permaneciam saudáveis. Estudos laboratoriais subsequentes confirmaram que outras bactérias encontradas nos biofilmes dentários também podiam gerar uma descida no pH a partir do metabolismo dos açúcares, enquanto outras bactérias podiam reduzir o efeito potencialmente prejudicial do ácido láctico, usando-o como fonte de nutrientes e convertendo-o em ácidos mais fracos ou gerando produtos alcalinos a partir do metabolismo da arginina ou da ureia da saliva ⁽⁷⁷⁾. Esses resultados forneceram suporte para a “hipótese não específica da placa”, em que a cárie dentária é uma consequência da atividade metabólica do biofilme ⁽⁷⁶⁾.

Mais recentemente, em estudos utilizando abordagens moleculares foram verificadas associações entre a cárie dentária e outros grupos de bactérias produtoras de ácido e ácido-tolerantes, incluindo uma variedade de espécies de *Bifidobacterium*, *Actinomyces*, *Propionibacterium* e *Scardovia wiggisiae* ⁽¹⁶⁾. Posteriormente, foram propostos conceitos alternativos com base em princípios ecológicos que descrevem os eventos associados à cárie ^(27,78). Essas hipóteses ecológicas da placa são atualmente aceites como as explicações mais plausíveis da etiologia microbiana da cárie dentária ⁽¹⁶⁾.

A “hipótese ecológica” da cárie dentária original reconhece a consistência da função bacteriana na ausência de especificidade do tipo bacteriano presente e enfatiza o requisito essencial de um ambiente propício à doença (uma dieta rica em açúcar e/ou um baixo fluxo salivar). Micro-organismos com características importantes para a cárie, desde que num nível baixo ou com uma atividade residual, podem estar presentes nos biofilmes dentários sem que sejam clinicamente relevantes ⁽⁷⁸⁾.

A cárie é uma consequência de uma mudança desfavorável no equilíbrio da microbiota residente causada por mudanças no “ambiente dentário”. A exposição regular dos

biofilmes dentários a açúcares dietéticos fermentáveis resulta em condições repetidas de baixo pH que favorecem o crescimento e o metabolismo de bactérias ácido-tolerantes e inibem que organismos benéficos cresçam preferencialmente em pH neutro ⁽¹⁶⁾.

Implícito nesta hipótese está o conceito de que a doença pode ser controlada não apenas inibindo diretamente a bactéria envolvida, mas também interferindo nos fatores que impulsionam as mudanças deletérias na microbiota, isto é, reduzindo a quantidade e a frequência da ingestão de açúcares ⁽⁷⁸⁾.

No conspecto da “hipótese ecológica” Takahashi e Nyvad propõem uma extensão desta hipótese, desenvolvida para refletir a capacidade de algumas bactérias do grupo não-*mutans* se adaptarem ao *stress* ácido durante condições regulares e prolongadas de baixo pH – “*an extended caries ecological hypothesis*” ⁽²⁷⁾. A acidificação da placa bacteriana atua como o principal fator na seleção de uma comunidade bacteriana geradora de ácido e tolerante a ácido, cujo desenvolvimento aumentará o risco de cárie dentária ^(27,29).

Embora a formação do biofilme seja um processo natural e uma etapa essencial para o desenvolvimento de cárie dentária, a presença de um biofilme na superfície do dente não é, por si só, uma indicação de que a doença está presente. Somente após uma complexa interação de fatores do hospedeiro, incluindo a superfície do dente, a película adquirida, a saliva e os açúcares livres da dieta é que a presença do biofilme dentário pode levar à expressão da doença ao longo do tempo ⁽¹⁶⁾.

A cárie dentária, portanto, não é um exemplo de uma doença infecciosa clássica, mas é uma consequência de uma mudança ecológica no equilíbrio da microbiota oral normalmente benéfica, impulsionada por uma mudança no estilo de vida e no ambiente oral.

1.2.2 Substrato – comportamentos relacionados com a dieta

Os açúcares da dieta são considerados como um dos mediadores mais críticos na patogénese da cárie dentária, especificamente a sacarose, que representa o açúcar com maior potencial cariogénico ⁽⁷⁹⁾. Atualmente, parece ser evidente que o açúcar é um substrato de eleição para as bactérias que residem nos biofilmes dentários,

particularmente para o *Streptococcus mutans*, e que os subprodutos ácidos desse processo metabólico induzem a desmineralização da superfície do esmalte ⁽⁸⁰⁾.

Daí, que a elevada ingestão de alimentos e bebidas com adição de açúcares represente uma grande preocupação e um dos principais desafios na área da saúde pública ⁽⁸¹⁾. Esta preocupação advém não só da relação entre o açúcar e a cárie dentária, mas também pelo consumo excessivo de açúcar estar associado ao excesso de peso e/ou obesidade e, consequentemente, ao risco de desenvolvimento de doenças crónicas associadas ⁽⁸²⁾.

A nível global, no que concerne às bebidas açucaradas, nas últimas décadas tem-se verificado uma tendência crescente no seu consumo com evidência que sugere que, neste momento, o consumo destas bebidas corresponde a cerca de 7% do valor energético total diário. Em Portugal, seguindo esta mesma tendência, verifica-se que a disponibilidade de refrigerantes entre 1990 e 2012 duplicou ⁽⁸³⁾ sendo de salientar, no entanto, que os refrigerantes à venda a nível nacional apresentam valores muito díspares de açúcares adicionados ⁽⁸⁴⁾.

Atualmente, a literatura científica enfatiza a ingestão de bebidas açucaradas como sendo, possivelmente, o determinante mais importante de cárie dentária nas crianças em detrimento do consumo de alimentos açucarados. A associação positiva entre os açúcares da dieta e o risco de desenvolvimento de cárie dentária tem sido descrita de forma consistente na literatura, tendo sido publicadas nos últimos anos revisões da literatura que sistematizam os resultados encontrados pelos diversos estudos que avaliaram, particularmente, o impacto deletério dos açúcares simples nesta doença ^(80,85).

Os açúcares livres (*free sugar*), segundo a definição da Organização Mundial da Saúde (OMS), correspondem aos açúcares mono e dissacarídeos adicionados aos alimentos e bebidas pela indústria alimentar (seja pelos cozinheiros ou mesmo pelos consumidores), bem como, aos açúcares naturalmente presentes no mel, xaropes, sumos de fruta e concentrados de sumo de fruta ⁽⁸⁶⁾.

Por outro lado, não existe evidência de que os açúcares naturalmente presentes na estrutura celular de alguns alimentos (como cereais, frutas e vegetais crus), assim como, daqueles que também de uma forma natural estão presentes no leite e produtos lácteos,

apresentem efeitos adversos na saúde oral ^(87,88).

A possível inocuidade destes açúcares intrínsecos está maioritariamente relacionada com as características destes alimentos, como o seu conteúdo em fibra, conteúdo de água e outros fatores de proteção, como compostos polifenólicos, cálcio ou ambos. O impacto das frutas, dos vegetais não cozinhados e dos cereais na estimulação mecânica do fluxo salivar também auxilia na mitigação do potencial risco destes açúcares no desenvolvimento da cárie dentária ⁽⁸⁹⁾.

Contudo, sendo indubitável que a ingestão excessiva de açúcares livres está associada com a incidência de cárie dentária ^(90,91) o debate centra-se, atualmente, sobre qual dos fatores (idade da introdução do açúcar na dieta, a sua quantidade, o momento ou a frequência da sua ingestão) desempenha o papel mais importante no desenvolvimento desta doença ^(85,92–95).

Relativamente ao momento da introdução do açúcar na dieta, a sua ingestão no primeiro ano de vida pode exercer um impacto marcante na futura ocorrência de cárie dentária, sobretudo por duas vias plausíveis: (1) por promover a multiplicação de *Streptococcus mutans* e outras espécies acidogénicas e (2) por modular as futuras preferências alimentares na infância e adolescência. Assim, o desenvolvimento da CPI pode ser o primeiro resultado clinicamente importante que decorre da introdução precoce de açúcar na dieta, podendo afetar as crianças mesmo antes de completarem o primeiro ano de vida ⁽¹⁾.

No sentido de contrair este comportamento nocivo, a OMS, a *American Heart Association* e a Associação Internacional de Odontopediatria recomendam nas suas diretrizes a redução do consumo de açúcar nos primeiros anos de vida, encorajando mesmo a não introdução de açúcar na dieta da criança antes dos 2 anos de idade. Contudo, apesar dos postulados atuais destas entidades de referência, estudos recentes têm demonstrado uma contínua exposição extremamente precoce das crianças ao açúcar, ocorrendo essa exposição maioritariamente nos seus primeiros meses de vida ^(92,96,97).

Em Portugal, um estudo de coorte (Geração XXI) que acompanha 8647 crianças do norte do país desde o seu nascimento, identificou que cerca de 35% das crianças com 2 anos

ingeria refrigerantes pelo menos uma vez por semana, comportamento este que se manteve em 88% destas crianças aos 4 anos. Com esta idade, mais de metade das crianças seguidas (52%) ingeria refrigerantes e néctares diariamente, sendo que 20% ingeriam sobretudo, refrigerantes à base de chá, o qual representou o tipo de refrigerante mais ingerido ^(98,99).

No que concerne à contribuição relativa da frequência em relação à quantidade de açúcar ingerido, esta distinção é difícil de realizar devido à elevada correlação entre estas duas variáveis ^(88,89). Apenas os estudos que medem simultaneamente ambas as variáveis podem concluir sobre a ponderação individual relativa da quantidade e da frequência da ingestão de açúcar como fatores de risco para o desenvolvimento de cárie dentária ⁽⁸⁹⁾.

Apesar das limitações metodológicas encontradas nos estudos, a frequência da ingestão de açúcar e a consistência do alimento, comparativamente com a quantidade, parece ajustarem-se melhor ao atual conhecimento do processo biológico da cárie dentária ⁽⁸⁸⁾. Porém, a OMS propõe que tanto a quantidade como a frequência dos açúcares ingeridos devem ser encarados como importantes fatores de risco ⁽¹⁰⁰⁾, isto é, reduzir apenas a quantidade sem reduzir a frequência (ou vice-versa) não parece, efetivamente, uma estratégia preventiva adequada para a abordagem da cárie dentária. No entanto, verifica-se que os objetivos estabelecidos em termos de frequência são, de forma clara, mais tangíveis a nível individual, enquanto que os objetivos a nível populacional pressupõem abordagens mais direcionadas à quantidade de açúcar ingerido ⁽⁸⁹⁾.

Relativamente ao momento de ingestão de açúcares e a sua relação com a cárie dentária nas crianças, denota-se que este tópico encontra-se escassamente investigado. Contudo, uma revisão sistemática recentemente publicada sugeriu que restringir o consumo de açúcares livres antes e no momento de ir para a cama pode reduzir o risco de desenvolvimento de cárie dentária. Porém, os autores salientam que a qualidade da evidência que suporta esta recomendação é baixa, e que esta associação demonstrou ser mais consistente para as crianças de idade pré-escolar comparativamente com as crianças mais velhas ⁽⁹⁵⁾.

Num estudo realizado por Goodwin e os seus colaboradores em 2017, os autores não encontraram uma associação positiva entre a ingestão de açúcares livres durante o dia sob

a forma de *snacks* e a maior experiência de cárie dentária. Todavia, tendo verificado uma associação entre o consumo destes açúcares à noite e a maior experiência de cárie dentária, os autores equacionaram a hipótese de que o açúcar ingerido antes de dormir poderia representar o fator de risco mais importante na predição da cárie dentária ⁽⁹⁴⁾. Estes resultados são corroborados também por outros autores ⁽¹⁰¹⁾.

Durante muitos anos, a relação entre o consumo de açúcar e a cárie dentária em países de elevado rendimento foi considerada linear, ou seja, à medida que aumentava o consumo de açúcar, maior era a prevalência e a gravidade da cárie dentária. Contudo, nas últimas décadas, essa relação aparentemente linear passou a ser questionada, verificando-se um contínuo aumento do consumo de açúcares acompanhado por um ligeiro declínio da experiência de cárie, sobretudo na dentição permanente ⁽⁸⁰⁾.

É provável que a maior influência isolada para a diminuição da experiência de cárie, nestes países, foi decorrente da ampla exposição aos fluoretos, atualmente disseminados através de diversas formas de aplicação na comunidade ⁽⁸⁰⁾. Contudo, é de salientar que escassos estudos investigaram outros fatores que podem atenuar a associação entre o consumo de açúcar e a cárie dentária em crianças. Estes fatores incluem, não só a exposição individual aos fluoretos, como os comportamentos em saúde oral e a condição socioeconómica da família onde a criança se insere ⁽¹⁰²⁾.

1.2.3 Hospedeiro

i. Estrutura dentária: maturação e defeitos de desenvolvimento

Entre o nascimento e os 12 anos de idade, a cavidade oral está constantemente num processo dinâmico, com a erupção dos dentes decíduos, a maturação pós-eruptiva e, em seguida, o período da fase mista da dentição. A última fase é talvez a mais complexa, com a esfoliação simultânea da dentição decídua, a erupção da dentição permanente e a maturação pós-eruptiva dos dentes permanentes. Este período de mudanças sucessivas e concomitantes representa desafios particulares, de risco variável, no que concerne à manutenção da saúde oral da criança ⁽¹⁰³⁾.

Há muito se acredita que o processo de maturação pós-eruptiva desempenha um papel importante na redução da vulnerabilidade do dente à cárie dentária ⁽³⁸⁾. Dados clínicos

mostram que os dentes são mais vulneráveis à cárie nos primeiros 2 a 4 anos após a sua erupção ⁽¹⁰⁴⁾. Embora os fenómenos associados à maturação pós-eruptiva tenham sido bem caracterizados, não existe uma explicação definitiva e consensual para o seu mecanismo ⁽¹⁰⁵⁾.

A maturação pós-eruptiva envolve mudanças químicas e físicas nas camadas externas do esmalte após a exposição do dente ao meio oral ⁽¹⁰⁶⁾. Quimicamente, quantidades consideráveis de flúor ⁽¹⁰⁷⁾ são incorporadas na superfície do esmalte juntamente com outros iões metálicos como o zinco. No que respeita à componente física desta fase, a superfície é remodelada, tornando-se menos porosa ⁽¹⁰⁸⁾, mais dura e, portanto, com menor suscetibilidade à cárie dentária ⁽¹⁰³⁾.

O primeiro molar permanente é especialmente sensível a esse efeito e, por esse motivo, é muitas vezes considerado de forma isolada em estudos de cárie dentária ^(109,110). Essa vulnerabilidade para um maior risco de cárie está associada ao seu longo período de erupção, à sua localização no setor posterior em infraposição relativamente ao plano oclusal e às alterações gengivais decorrentes do processo eruptivo que dificultam a sua higienização. Embora a maioria dos estudos se refiram ao esmalte permanente recém-erupcionado, também existem evidências embora limitadas, do processo da maturação pós-eruptiva do esmalte dos dentes decíduos ⁽¹¹¹⁾.

Os dentes decíduos, comparativamente com os permanentes, apresentam uma maior suscetibilidade à cárie dentária devido às diferenças na sua composição química e propriedades físicas. É de salientar que na dentição decídua, o esmalte é menos calcificado, tem uma menor espessura de esmalte e dentina e apresenta uma direção diferente dos prismas de esmalte, em comparação com os dentes permanentes. Estas características não só influem para um maior risco de cárie como para uma progressão mais rápida da doença na dentição decídua ⁽¹⁰³⁾.

Os DDE ocorrem devido a desequilíbrios biológicos que afetam as células envolvidas na formação e maturação do esmalte ⁽¹¹²⁾. A associação positiva entre a presença desses defeitos e um risco aumentado de cárie dentária, tanto na dentição decídua como na permanente, tem sido nos últimos anos evidenciada através de revisões sistemáticas cujos resultados são de evidência robusta ^(113,114).

Os defeitos do desenvolvimento dentário podem afetar todos os dentes, grupos de dentes ou dentes isolados, apenas numa ou em ambas as dentições resultando de distúrbios no período pré, peri e pós-natal ^(115,116) (Figura 2).

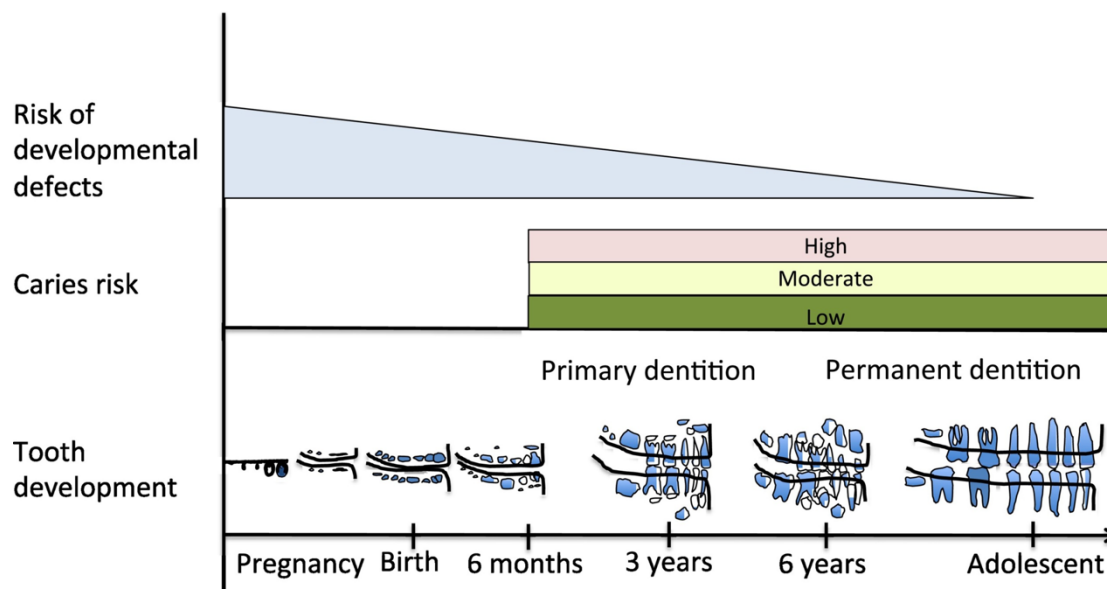


Figura 2. Período de risco para a aquisição de DDE e cárie dentária de acordo com o desenvolvimento da dentição decídua e permanente (Adaptado de ⁽¹¹⁶⁾ (Anexo 1)).

Os DDE correspondem a variações na qualidade e/ou quantidade do esmalte, apresentando alterações na translucidez, opacidade e/ou espessura desta estrutura. Podem apresentar-se como hipomineralizações e/ou opacidades e/ou hipoplasias do esmalte ^(115,116). As características que estes defeitos encerram como a menor mineralização e espessura, a maior porosidade e irregularidade superficial são fatores predisponentes para o desgaste dentário e a acumulação de placa bacteriana ^(116–118).

O mecanismo etiológico subjacente a estes defeitos não está claramente definido. Presume-se que condições locais, sistémicas, genéticas e/ou ambientais afetem a amelogenese, interrompendo a formação ou maturação da matriz dentária ^(117–119).

Entre os vários DDE, a hipoplasia corresponde a um defeito quantitativo formado durante o estágio secretor da amelogenese, tem sido associada com elevada preponderância a uma maior experiência de cárie dentária em ambas as dentições ^(113,114,120) (Figura 3). Esta

associação resulta da maior solubilidade ácida do esmalte afetado, da superfície rugosa favorecer a acumulação e retenção de placa bacteriana ⁽¹²¹⁾, promovendo um maior grau de colonização da superfície hipoplásica por *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* ^(22,113).



Figura 3. DDE numa criança de 1,5 anos. Dentes 5.1 e 6.1 com hipoplasia de esmalte (Adaptado de ⁽¹¹⁶⁾ (Anexo 1)).

ii. Saliva

As propriedades e funções da saliva, bem como, a sua relevância na saúde oral têm sido alvo de ampla investigação ⁽¹²²⁾. Na cavidade oral, entre as inúmeras funções que lhe estão atribuídas, destaca-se o seu contributo para a diminuição da incidência da cárie dentária ⁽¹²³⁾.

A saliva representa o principal sistema intrínseco de defesa da cavidade oral, sendo fundamental para proteger as superfícies dentárias expostas. Este fluido tem a capacidade de reverter a desmineralização da superfície mediante várias ações que desempenha, nomeadamente, ação mecânica, atividade antimicrobiana, capacidade tampão e vigilância imunológica. Possui ainda proteínas de ligação ao fosfato de cálcio e segrega peptídeos antimicrobianos ⁽⁷⁷⁾.

Várias proteínas salivares desempenham funções importantes ao nível da proteção da estrutura dentária, como as mucinas (proteínas ricas em prolina), imunoglobulinas, lactoferrina ou anidrases carbónicas ⁽¹²⁴⁾.

A função da saliva na inibição do processo de desmineralização ocorre através da sua capacidade tampão e reside essencialmente na manutenção do pH estável para a preservação da integridade dentária. A capacidade tampão, no contexto da cárie dentária, consiste num importante mecanismo de defesa, uma vez que neutraliza a produção de ácidos formados pela placa bacteriana evitando dessa forma a desmineralização do esmalte. Apresenta ainda uma relação direta com o fluxo salivar, isto é, uma redução no fluxo salivar resulta numa diminuição do efeito tampão deste fluido ⁽¹²⁴⁾.

Na perspetiva do seu efeito potencializador da remineralização, observa-se uma renovação da matriz orgânica do esmalte ⁽¹²⁴⁾ e, por esse motivo, a composição da saliva é de elevada relevância. Eletrólitos como o fosfato e o cálcio, em concentrações elevadas, tornam-se fundamentais para que este processo ocorra ^(35,38). Neste contexto, as concentrações baixas e constantes de flúor na saliva são importantes não só para a inibição da dissolução dos cristais de hidroxiapatite, mas também para a precipitação dos cristais, incorporando flúor e formando cristais semelhantes aos da fluorapatite no dente, tornando-o menos solúvel, e consequentemente mais resistente ao ataque ácido das bactérias acidogénicas ⁽¹²⁵⁾.

1.3 Determinantes secundários da cárie dentária

1.3.1 Fatores sociodemográficos

Nas últimas décadas, para além dos fatores relacionados com os comportamentos em saúde oral, denota-se um crescente interesse na associação entre os fatores sociodemográficos e a cárie dentária nas crianças. Entre os principais fatores estudados salientam-se: o género da criança, as crenças e conhecimentos parentais sobre a saúde oral, assim como, a composição, influência e a condição socioeconómica das famílias.

Sabe-se que as crianças cujos pais têm melhores conhecimentos sobre saúde oral apresentam menor prevalência de cárie dentária. Tanto os conhecimentos, como as atitudes e as crenças dos responsáveis sobre a saúde oral podem influenciar decisivamente, de modo positivo ou negativo, a saúde oral das crianças em idades muito jovens ⁽¹²⁶⁾. O estudo destes fatores torna-se pertinente pela sua relevância nos comportamentos adotados na infância, pelo seu contributo para a compreensão do risco

de desenvolvimento de CPI e, por último, para o desenvolvimento ajustado de estratégias de prevenção adequadas ao contexto das famílias.

Numa revisão sistemática publicada em 2019, entre os fatores sociodemográficos considerados, o género masculino e o baixo rendimento familiar foram os fatores mais frequentemente implicados na prevalência/incidência da cárie dentária na maioria dos estudos avaliados. Todavia, fatores como o baixo estatuto socioeconómico, o baixo nível de escolaridade materna e a condição de desemprego da mãe foram investigados e considerados fatores significativos em alguns dos estudos analisados por estes autores ⁽¹²⁷⁾.

No que diz respeito especificamente à condição socioeconómica, existem vários meios possíveis para avaliar a sua influência na cárie dentária. O nível de educação do próprio indivíduo ou dos pais determina de forma frequente o rendimento familiar, condicionando o acesso a meios preventivos tanto no domicílio como a nível profissional (utilização de pastas dentífricas fluoretadas, fio dentário, dietas com baixo consumo de açúcares ou a aplicação de selantes de fissuras) ⁽¹²⁸⁾. Por outro lado, o nível de educação também afeta as características não materiais como a literacia e os comportamentos em saúde, incluindo hábitos alimentares e de higiene oral ou mesmo a frequência e os padrões de utilização dos serviços de saúde ⁽¹²⁹⁾.

Numa revisão sistemática realizada por Schwendicke e os seus colaboradores, em 2015, foi verificado que o nível socioeconómico mais baixo está significativamente associado a um maior risco de lesões de cárie ou de experiência de cárie, podendo esta associação ser mais robusta em países desenvolvidos ⁽¹³⁰⁾. Esta conclusão contrasta com o que seria de esperar e com o que foi observado noutros estudos, em que a associação entre a condição socioeconómica e cárie dentária é maior em países com elevada desigualdade de rendimento ⁽¹³¹⁾. Contudo, deve ser enfatizado que os parâmetros socioeconómicos não são exaustivos, mas sim uma parte da estrutura “eco-social” complexa de fatores macro ambientais (políticos, económicos, sociais), comunitários e individuais ^(132,133).

Num nível mais lato, o da população, a cárie dentária é estudada como um problema de saúde pública. A este nível, realizam-se estudos epidemiológicos cujo objetivo é identificar condições relevantes de natureza social, económica, cultural ou política, que

conduzem a estilos de vida e comportamentos que podem originar a doença ⁽¹⁸⁾.

1.3.2 Comportamentos em saúde oral

O processo de início e desenvolvimento da cárie dentária é predominantemente conduzido pela presença de um biofilme cariogénico nas superfícies dentárias. A sua remoção/desorganização mecânica de forma regular reside num método adequado para a prevenção do desenvolvimento de lesões de cárie e para o controlo da sua progressão ⁽¹³⁴⁾.

A prevenção das lesões de cárie em crianças depende em amplo espectro da educação para a saúde oral, nomeadamente para a escovagem dentária regular com escova e com pasta dentífrica fluoretada ^(135,136). A escovagem dentária é considerada um comportamento fundamental para a manutenção da saúde oral e a sua realização, duas vezes por dia, consiste numa norma social recomendada por médicos dentistas e outros profissionais de saúde. Pode ser realizada com escova dentária manual ou elétrica e com pasta dentífrica fluoretada durante dois minutos. A criança após escovar os seus dentes deve evitar de seguida bochechar com água ⁽¹³⁶⁾. Contudo, o efeito da frequência da escovagem na prevenção da cárie dentária não está totalmente esclarecido: a evidência apresenta inconsistências e os resultados são ambíguos ⁽¹³⁷⁾.

Numa revisão sistemática realizada em 2003 foi possível concluir que a escovagem dentária realizada duas vezes por dia aumenta a eficácia das pastas dentífricas fluoretadas na redução do incremento de cárie ⁽¹³⁵⁾. Mais recentemente, em 2016, Kumar e os seus colaboradores corroboraram esta observação, tendo verificado que os indivíduos que realizavam a escovagem dentária menos vezes por dia apresentavam uma maior incidência ou incremento de lesões de cárie comparativamente com os que escovavam duas ou mais vezes por dia. Estes autores verificaram também que o efeito da frequência de escovagem é mais pronunciado na dentição decídua do que na dentição permanente ⁽¹³⁷⁾. Alguns estudos indicam que este efeito é independente da presença de fluoretos na pasta dentífrica. No entanto, existem outros fatores que podem estar relacionados com a maior frequência de escovagem dentária e que podem ser responsáveis pelos efeitos observados, tais como, maior consciencialização e motivação para a saúde, a condição socioeconómica mais elevada e a adoção de uma dieta mais saudável ⁽¹³⁷⁾.

Também Lynch verificou que a frequência de escovagem dentária foi mais efetiva no controlo da incidência e do incremento de cárie na dentição decídua do que na permanente, provavelmente, porque os dentes decíduos apresentam maior suscetibilidade de cárie dentária ⁽¹⁰³⁾.

A frequência da escovagem dentária é reportada pelo próprio indivíduo e, no caso das crianças, é referida pelos responsáveis e, desse modo, a exatidão da informação transmitida não pode ser assumida pois existe uma tendência provável para os indivíduos inflacionarem as suas respostas para o tipo de comportamentos mais aceites socialmente ⁽¹³⁷⁾.

Acredita-se, amplamente, que a remoção/desorganização do biofilme dentário pela escovagem dentária pode reduzir o desenvolvimento de novas lesões de cárie, contudo a evidência de base é fraca, especialmente quando advém da frequência da escovagem ⁽¹³⁷⁾. É reconhecido que a maioria da população não consegue realizar um controlo adequado do biofilme apenas com a escovagem dentária isolada e que os fluoretos presentes nas pastas dentífricas são considerados, neste contexto, de importância *major* na prevenção da cárie dentária ⁽¹³⁸⁾.

A escovagem dentária *per si* encontra-se associada a diversos fatores, tais como, a natureza e desenho da escova e das cerdas, a duração e técnica da escovagem dentária, o tipo de dentífrico utilizado ⁽¹³⁷⁾, assim como, a existência ou não de supervisão durante a escovagem. Estes fatores podem interferir consideravelmente no efeito anticariogénico da escovagem dentária nas crianças ⁽¹³⁹⁾.

O conceito de escovagem dentária supervisionada pode significar que um adulto pode ativamente escovar os dentes da criança ou pode simplesmente supervisionar a escovagem. A supervisão da escovagem pode ocorrer no espaço clínico por um profissional de saúde, na escola por um professor ou em casa pelos pais/responsáveis da criança ⁽¹⁴⁰⁾.

As crianças escovam melhor os seus dentes quando estão a ser observadas por um adulto e esta melhoria pode ser suficiente para reduzir a incidência de cárie dentária. Para além

disso, esta supervisão pode ser um meio para garantir que as crianças estejam durante o tempo necessário expostas aos fluoretos das pastas dentífricas ^(135,141).

A supervisão da escovagem contribui para que a criança tenha consciência da importância desse hábito oral na sua saúde e, desta forma, valorize as medidas preventivas desde idade jovem, uma vez que é do conhecimento geral que os hábitos adquiridos na infância têm uma elevada importância na vida adulta ⁽¹³⁹⁾.

De acordo com os resultados da revisão sistemática de Marinho e os seus colaboradores, um efeito preventivo superior das pastas dentífricas fluoretadas, comparativamente com um placebo, é detetado quando a escovagem é supervisionada, ou seja, os ensaios em que o uso de dentífrico fluoretado não foi supervisionado exibiram uma fração diminuída em cerca de 11% na capacidade preventiva do dentífrico. Este resultado foi atribuído a um uso mais intuitivo da pasta dentífrica sob condições supervisionadas ⁽¹³⁵⁾, com resultados semelhantes encontrados noutras revisões sistemáticas ^(142,143).

Posteriormente, foi realizada uma revisão sistemática cujo objetivo residiu em avaliar a eficácia relativa das pastas dentífricas fluoretadas de diferentes concentrações na prevenção da cárie dentária nas crianças e adolescentes, analisando também o potencial efeito modificador da escovagem dentária supervisionada. Contrariamente ao que foi verificado em estudos anteriores, os autores não encontraram nenhuma associação entre os níveis de prevenção ao nível da superfície ou do dente e a supervisão da escovagem, o que sugere um efeito anticariogénico das pastas dentífricas fluoretadas, independentemente, da existência de supervisão ⁽¹³⁶⁾. Corroborando estes resultados, também numa revisão sistemática realizada, em 2018 por Dos Santos e os seus colaboradores, não foi encontrada evidência robusta/conclusiva de que a supervisão da escovagem aumenta o benefício associado às pastas dentífricas fluoretadas ⁽¹³⁹⁾.

1.4 Deteção e diagnóstico de cárie dentária

A deteção e o diagnóstico de cárie dentária são procedimentos de elevada relevância não só para a abordagem clínica da doença, mas também para a sua apresentação epidemiológica. Dada a multiplicidade de procedimentos que têm sido utilizados para

este propósito, a deteção clínica da cárie de modo confiável e reproduzível tem sido reconhecida como um problema que perdura por várias décadas ⁽¹⁴⁴⁾.

A disparidade de metodologias utilizadas, diferindo nos próprios critérios de diagnóstico (diferentes definições de cárie dentária, diferentes limiares de deteção) e nas condições de observação e/ou registo, influem de forma óbvia na avaliação da experiência da doença e, portanto, representam problemas subsequentes na análise comparativa de estudos e na comunicação nos diferentes domínios da medicina dentária ^(144–147).

Do ponto de vista epidemiológico e clínico é necessário um método objetivo no sentido de reconhecer de forma inequívoca as distintas fases da lesão: desde pequenas lesões iniciais, alterações evidentes de cor e/ou estrutura, até diferentes graus de cavitação ⁽¹⁴⁴⁾. Nos levantamentos epidemiológicos de cárie dentária e de acordo com as recomendações da OMS ⁽¹⁴⁸⁾ para a avaliação quantitativa da doença, tem sido utilizado o índice de dentes cariados, perdidos e obturados (restaurados) por cárie de aplicação válida para a dentição decídua e permanente (cpo e CPO, respetivamente). A unidade de registo neste índice pode ser o dente (cpod e CPOD) ou a superfície dentária (cpod e CPOD), na dentição decídua e permanente, respetivamente. A experiência de cárie dentária através deste índice pode ser analisada para um indivíduo ou para um grupo de indivíduos ^(149,150).

O índice CPO/cpo apresenta a vantagem de ser um índice simples, reproduzível quando aplicado por observadores previamente calibrados e fácil de analisar estatisticamente. Apesar de continuar a ser corretamente aplicado, sobretudo em estudos de prevalência, este índice apresenta algumas limitações, sendo de destacar a não contabilização do número de dentes que o indivíduo tem presente na cavidade oral, ou seja, não considera a totalidade de dentes em risco ⁽¹⁴⁹⁾.

De forma também limitada, a aplicação deste índice preconiza a deteção das lesões apenas em fase de cavitação, ou seja, excluindo as lesões de esmalte, bem como as de dentina não cavitadas (“sombras na dentina”), conduzindo a uma subvalorização da doença, uma vez que desta forma muitos indivíduos considerados isentos de cárie apresentam na realidade lesões ainda que em fases variáveis de evolução. Outras desvantagens enunciadas para este sistema incluem: o facto da ponderação atribuída a cada um dos componentes do índice (cariado, perdido e obturado) ser semelhante, ou seja, apesar de

um indivíduo ou população apresentar um índice CPO elevado não significa que apresenta muitas lesões de cárie ativas, poderá ter somente muitos dentes restaurados; e um outro aspeto importante, que pode comprometer a validade do índice, é que os dentes podem ser perdidos por outras razões para além da cárie dentária e nem sempre é fácil definir a causa da perda de um dente; por outro lado, a experiência de cárie pode ser sobrestimada em dentes com restaurações ditas “preventivas” ⁽¹⁴⁹⁾.

Na tentativa de suprimir algumas das desvantagens do índice CPO, outros tipos de indicadores têm vindo a ser propostos como alternativa ou, inclusivamente, complemento para a caracterização da cárie dentária ⁽¹⁵¹⁾. Neste sentido, importa referir o índice SiC (*Significant Caries Index*), cuja base da sua origem reside na observação de que a cárie é uma doença com uma distribuição polarizada e assimétrica. Nesta perspetiva, este índice permite identificar grupos e regiões com elevada prevalência de cárie dentária de modo que os subgrupos de maior risco não se encontrem diluídos nos resultados totais, tal como acontece com a utilização do índice CPO ⁽¹⁵²⁾.

O índice SiC traduz o CPO médio da terça parte da população em estudo mais atingida pela doença, hipoteticamente, o subgrupo de maior risco ou suscetibilidade ⁽¹⁵³⁾. Todavia, verifica-se uma ausência de consenso na implementação de estratégias preventivas visando unicamente indivíduos classificados como de “alto risco”, questionando-se inclusivamente o custo-benefício das mesmas ⁽¹⁵⁴⁾.

Sob a perspetiva clínica, é consensual a necessidade de encarar como prioritária a prevenção da cárie dentária nos seus diferentes níveis de desenvolvimento. Os indivíduos que apresentam lesões de cárie apenas confinadas à estrutura do esmalte, sem evidência de cavitação, necessitam de medidas preventivas ajustadas para que não se verifique uma progressão da lesão instalada. Esta observação reforça a necessidade da reflexão sobre critérios alternativos de deteção e diagnóstico que incluam também as lesões iniciais não cavitadas de cárie dentária ^(33,155).

Da necessidade exposta surge, entre outros métodos de diagnóstico de cárie propostos, o *International Caries Detection and Assessment System II* (ICDAS II), o qual foi desenvolvido com base em evidências robustas numa tentativa de colmatar as incompatibilidades dos sistemas “clássicos” previamente reportados. É descrito como

sendo um sistema que utiliza critérios essencialmente visuais e que permite a obtenção de registos fiáveis, válidos e reprodutíveis em ambas as dentições. As características que este sistema encerra têm contribuído para que seja um método cada vez mais utilizado nos domínios da investigação epidemiológica, prática clínica e ensino, estando as particularidades da sua aplicação já amplamente descritas ^(144,156).

O objetivo da sua aplicação consiste na obtenção de registos de elevada fiabilidade que permitam a deteção, o diagnóstico, o prognóstico e o tratamento adequado da cárie dentária a nível individual e da saúde pública ⁽¹⁴⁴⁾. A inclusão de lesões de cárie em qualquer fase de desenvolvimento, incluindo as lesões incipientes, incute melhorias significativas na exatidão de registo da doença, sobretudo em populações com baixa prevalência de cárie e com uma tendência de evolução mais lenta ⁽¹⁵⁷⁾.

Não obstante as vantagens, algumas dificuldades resultantes da aplicação do ICDAS II também são reportadas, que não estão relacionadas propriamente com o método, mas sim com a comparação dos resultados com outros estudos, os quais maioritariamente seguem a recomendação da OMS (cpo/CPO) ⁽¹⁵⁸⁾.

Neste sentido, é importante atribuir uma equivalência entre estes dois índices de modo a ser possível o contínuo estudo das tendências epidemiológicas da cárie dentária. Todavia, não existe um consenso entre os códigos 3 e 4 de cárie do ICDAS II como pontos de corte uniformizados para essa equivalência e, por esse motivo, este assunto ainda se reveste de uma ampla controvérsia ⁽¹⁵⁸⁾. Contudo, o ICDAS II é considerado uma ferramenta de diagnóstico abrangente e igualmente válida no contexto clínico e epidemiológico.

Para além dos critérios de deteção de cárie, é também importante a padronização dos seus procedimentos, sendo contemplado no ICDAS II a remoção/desorganização da placa bacteriana e a secagem dos dentes previamente à sua observação, realizada com espelho oral plano e sonda exploradora reta de ponta esférica ⁽¹⁴⁴⁾.

Independentemente do modelo de diagnóstico aplicado, as entidades de referência na área da medicina dentária preventiva e da cariologia salientam a tendência atual para a adoção de uma abordagem preventiva, conservadora e minimamente invasiva ⁽¹⁵⁹⁾, ficando deste

modo subjacente a importância do diagnóstico precoce juntamente com a avaliação da atividade e do risco de cárie dentária ⁽¹⁶⁰⁾.

A avaliação criteriosa e padronizada da cárie dentária representa um aspeto fundamental não só para a abordagem clínica da doença, mas também para a organização e desenvolvimentos de estratégias de saúde pública oral para a prevenção e controlo da doença.

1.5 Epidemiologia da cárie dentária

A epidemiologia consiste no estudo da distribuição e dos determinantes de doenças ou de condições adversas na saúde dos indivíduos. Compreender os fatores que promovem as doenças ou os problemas de saúde poderá estar na origem de intervenções mais ajustadas com melhorias subsequentes na saúde das populações. Uma premissa importante na aplicação da epidemiologia é o uso consistente de definições de caso e critérios de diagnóstico padronizados para medir a doença, não apenas temporalmente, mas comparativamente entre diferentes estudos ⁽¹⁶¹⁾.

Múltiplos estudos epidemiológicos sobre cárie têm sido realizados desde há muitas décadas e alguns dos dados disponíveis pela OMS e outras organizações transmitem a ideia de que se dispõe em abundância de dados globais comparáveis. No entanto, para avaliar e planear políticas de saúde, a epidemiologia deve fornecer dados que atendam às seguintes especificações: dados estritos no tempo, precisos e compreensíveis para os principais grupos etários sobre a quantidade total de doença presente (prevalência), a sua taxa de progressão (incidência) e a sua tendência de evolução ao longo do tempo. No entanto, não se dispõe de informações precisas, atualizadas e clinicamente significativas a nível mundial que atendam a estas especificações ⁽¹⁶⁾.

Num trabalho realizado por Patel e os seus colaboradores com o objetivo de investigar os métodos utilizados para identificar valores médios de CPOD aos 12 anos de idade nos países membros da União Europeia, do Espaço Económico Europeu e ainda de mais 11 países deste Continente, foram verificadas variações importantes nos critérios aplicados para a deteção de cárie dentária nos 43 países avaliados. Os autores concluíram que a

maioria dos dados nacionais atuais sobre cárie para os níveis de CPOD em crianças aos 12 anos não são comparáveis em toda a Europa ⁽¹⁶²⁾.

Este aspeto evidencia os verdadeiros desafios que os estudos epidemiológicos sobre cárie dentária enfrentam. Na realidade, os resultados que aparentemente são comparáveis foram recolhidos em momentos temporais distintos, com investigadores com níveis díspares de experiência e de calibração e sendo considerados diferentes limiares para o registo da cárie dentária. A falta de uniformização metodológica representa uma dificuldade complexa a ser ultrapassada quando se pretende a comparação da distribuição da doença e dos seus fatores de risco associados nos diversos estudos epidemiológicos nacionais.

Considerando os dados epidemiológicos da cárie dentária na Europa, diferentes tendências têm sido recentemente observadas. Quando se analisa os dados da população adulta deve-se afirmar que a cárie continua a ser uma doença prevalente. Porém, a manifestação da cárie dentária na dentição permanente geralmente inicia-se numa idade jovem, com um aumento que ocorre de forma mais ou menos constante ao longo do tempo, mas com o conhecimento de que a doença não é igualmente distribuída nas populações pediátricas e que será predominantemente diagnosticada nas crianças de alto risco ^(163,164). A maior prevalência e taxa de gravidade de cárie está frequentemente associada à condição socioeconómica mais baixa em subgrupos vulneráveis de países de médio e elevado rendimento económico ⁽¹³⁰⁾.

A cárie dentária é considerada a doença crónica mais comum na infância e acredita-se que a sua prevalência tenha aumentado recentemente em crianças de 2 a 5 anos de idade a nível mundial, tornando-se esta faixa etária um grupo global de atuação prioritária. Infelizmente, os avanços na compreensão da epidemiologia da CPI continuam a ser escassos ⁽¹⁶¹⁾. Os dados internacionais representativos da prevalência da CPI são irregulares, pois a maioria dos países reporta as taxas de prevalência e incidência da doença a partir dos 5 ou 6 anos de idade ⁽¹⁶⁾. Por outro lado, quando os dados são publicados para esta faixa etária, estes apresentam prevalências que variam substancialmente como resultado da utilização de diferentes definições, desenhos de estudo ou critérios de diagnóstico ⁽¹⁶¹⁾.

No *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) de 1999 a 2004, 28% e 52% das crianças americanas com idade entre os 2 e os 5 anos e entre os 6 e os 9 anos, respetivamente, apresentavam experiência de cárie dentária na dentição decídua. Na dentição permanente, a prevalência de cárie dentária foi de 13,6% e 40,5% entre os 6 e os 9 anos e os 10 e os 13 anos de idade, respetivamente ⁽¹⁶⁵⁾. Dados mais recentes do NHANES, para o período entre 2015 e 2016, reportam que para as crianças americanas com idade entre os 2 e os 5 anos, entre os 6 e os 11 anos e entre os 12 e os 19 anos a prevalência de cárie dentária (tratada e não tratada) foi de 21,4%, 50,5% e 53,8%, respetivamente. Os autores referem um declínio na prevalência da doença nos últimos 6 anos, sendo de realçar que esta tendência não foi estatisticamente significativa ⁽¹⁶⁶⁾.

Na tentativa de uma compreensão mais clara sobre a prevalência de CPI a nível mundial, Tinanoff e os seus colaboradores recolheram dados de 72 estudos realizados entre 1998 e 2018, os quais avaliavam a prevalência da doença em crianças em idade pré-escolar. A prevalência de cárie em crianças de 4 anos de idade variou desde 12% num estudo realizado em França em 2009, a 98%, num estudo de 2014 realizado na Austrália. Mais interessante foi a constatação de que a prevalência média de cárie em crianças de 1 ano de idade foi de 17%, aumentando consideravelmente para 36% em crianças aos 2 anos. Além disso, para as crianças de 3, 4 e 5 anos a prevalência média de cárie foi de 43%, 55% e 63%, respetivamente. Os autores reportaram que para além da CPI ser altamente prevalente, geralmente não é tratada em crianças com menos de 3 anos de idade ⁽¹⁶⁷⁾.

De acordo com o estudo *Global Burden of Disease* de 2017, mais de 530 milhões de crianças em todo o mundo apresentam cárie dentária nos dentes decíduos. No entanto, como os dentes decíduos esfoliam devido ao crescimento e desenvolvimento da criança, a CPI continua a não ser considerada uma doença importante, com necessidade de tratamento ⁽¹⁶⁸⁾.

Relativamente às crianças em idade escolar, num estudo nacional realizado na Alemanha sobre cárie dentária em crianças entre os 6 e os 7 anos de idade, é reportada uma variação na prevalência da doença na dentição decídua de 65% em 1994 para 44% em 2016, enquanto a experiência de cárie passou de um cpo médio de 2,89 para 1,73 no mesmo período temporal. É de salientar que, em 2016, 49,7% das crianças estavam isentas de

cárie incluindo as lesões iniciais. Os autores verificaram ainda que, dependendo da região alemã, o cpod médio variou consideravelmente entre 1,37 e 2,31 ⁽¹⁶⁹⁾.

No Reino Unido, no *Children's Dental Health Survey* de 2013 foi reportado que 40% das crianças com 5 anos apresentavam lesões de cárie nos dentes decíduos, aumentando para 56% quando as lesões de esmalte foram incluídas. Aos 12 anos, o número médio de dentes permanentes afetados por cárie foi de 2,0 ou de 0,8 dentes, se considerando apenas lesões de cárie na dentina. Os autores observaram que para os grupos estudados denota-se uma tendência decrescente na prevalência da cárie ao longo das últimas décadas, embora a taxa de redução da doença tenha sido consideravelmente lenta nos últimos anos ⁽¹⁷⁰⁾.

Na Eslovénia foi estudada a tendência de evolução da cárie dentária durante um período de 30 anos em crianças de 12 anos de idade. Os autores constataram uma diminuição significativa do índice CPOD médio de 5,10 (desvio-padrão (dp): 3,37) em 1987 para 1,53 (dp: 1,81) em 2017. A par desta observação foi verificado um aumento na proporção de crianças isentas de cárie, passando de 6% em 1987 para 42% em 2017 ⁽¹⁷¹⁾. Também na Hungria foi realizado um estudo metodologicamente semelhante no qual a tendência de evolução da cárie a longo prazo foi avaliada durante três décadas em crianças entre os 5 e os 6 anos e aos 12 anos de idade. Os autores verificaram que a proporção de crianças isentas de cárie aos 6 anos passou de 9% em 1985 para 42,6% em 2016/2017, sendo que se verifica uma menor proporção de isentos de cárie nas zonas rurais. Para as crianças de 12 anos, a média de dentes afetados por cárie passou de cinco dentes em 1985 para um CPOD médio de 2,32 (dp: 4,12) em 2016/2017 ⁽¹⁷²⁾.

De um modo quase transversal, prevalências mais baixas de cárie são observadas nos países em desenvolvimento, enquanto que prevalências mais elevadas são verificadas nos países desenvolvidos ⁽¹⁷³⁾. Esta diferença socioeconómica tornou-se mais complexa e acentuada devido à velocidade do desenvolvimento económico, às rápidas alterações de hábitos e às mudanças nos padrões da dieta em muitos países. Embora se verifiquem diferenças relativamente ao género e à etnia, estes fatores apresentam um efeito menos demarcado na prevalência da cárie dentária comparativamente com o consumo de açúcar, o estilo de vida e as diferenças económicas.

1.5.1 Epidemiologia da cárie dentária na população infantil e juvenil em Portugal

Para o cumprimento do objetivo deste subcapítulo foi realizada uma pesquisa bibliográfica avançada na base de dados eletrónica *Pubmed* de artigos científicos publicados no período compreendido entre 1 de janeiro de 1990 e 31 de dezembro de 2020. Foram utilizados como termos de pesquisa: *dental caries*; *prevalence*; *incidence*; *children*; e *Portugal* combinados através do marcador booleano *AND*. Como critérios de inclusão foram apenas considerados artigos com dados confinados à área geográfica de Portugal Continental e Ilhas, publicados nos últimos 30 anos e com um tamanho amostral igual ou superior a 50 participantes. Face ao escasso número de artigos encontrados foi realizada uma pesquisa adicional no endereço eletrónico da Sociedade Portuguesa de Estomatologia e Medicina Dentária, uma vez que esta revista representa a principal “fonte” de trabalhos realizados sobre a cárie dentária em Portugal nas últimas décadas. Foram avaliados todos os títulos de artigos publicados nesta revista para o mesmo período temporal (1990 a 2020). Todos os trabalhos científicos sob o formato de pósteres e comunicações orais, apresentados no congresso desta Sociedade e nos congressos nacionais da Ordem dos Médicos Dentistas, e que se encontravam disponíveis *online* a partir do ano de 1998 foram também alvo de triagem individual. Adicionalmente, por consulta das referências bibliográficas dos artigos encontrados foram ainda incluídos trabalhos de investigação desenvolvidos no âmbito de “Dissertação de Mestrado” e “Dissertação de Doutoramento” considerados relevantes para o desenvolvimento deste subcapítulo.

Os estudos epidemiológicos publicados sobre a prevalência e a incidência da cárie em crianças portuguesas são escassos, com metodologias díspares e difíceis de interpretar quando se pretende a comparação dos resultados e análise da evolução da doença ao longo do tempo. A inclusão por parte dos autores de crianças e jovens de faixas etárias muito diversificadas e com objetivos de índole muito específica torna ainda mais complexa a visualização clara da evolução da prevalência da cárie no panorama nacional. A análise comparativa torna-se difícil e os objetivos vão divergindo mediante localizações geográficas diferentes e meios socioeconómicos com características próprias das amostras estudadas. De modo a existir uniformidade e dessa forma facilitar a interpretação dos dados, os resultados dos vários estudos analisados são apresentados

através das prevalências de cárie dentária e dos valores médios do índice cpo/CPO para dentição decídua e permanente (Tabela 1).

Historicamente, o “1º Inquérito Nacional Explorador” de Prevalência das Doenças e Necessidades de Tratamento na Cavidade Oral foi realizado entre 1983 e 1984, numa parceria entre a OMS, a Direção-Geral da Saúde (DGS) e, à data, a designada Escola Superior de Medicina Dentária de Lisboa, representando o primeiro retrato da saúde oral dos portugueses. Neste estudo, aos 6 anos de idade, os valores médios do índice cpod/CPOD foram, respetivamente, de 5,2 e 0,5, com uma prevalência de cárie de 83% e aos 12 anos, o valor médio do CPOD foi de 3,8 com uma prevalência de cárie de 85,5⁽¹⁷⁴⁾. Em 1990, no “2º Inquérito Nacional Explorador”, a proporção de crianças isentas de cárie aos 6 anos foi de 24% (tendo aumentado comparativamente com o valor observado em 1984: 17%), com um valor médio de cpod verificado de 4,2, enquanto que um valor médio CPOD de 3,2 foi observado em crianças de 12 anos de idade, nas quais a prevalência de cárie foi de 78,3% (denotando-se um pequeno decréscimo da doença, também nesta faixa etária, comparativamente ao verificado no 1º Inquérito Nacional).

No ano de 1999 foi realizado o “3º Inquérito Nacional Explorador” que incluiu, à semelhança do 1º e do 2º Inquéritos, crianças de 6 e 12 anos de idade de várias regiões de Portugal Continental que frequentavam o ensino público ou privado. A prevalência de cárie aos 6 anos na dentição decídua foi de 46,9% e aos 12 anos, na dentição permanente, foi de 52,9%. Verificou-se que ambos os indicadores revelaram uma franca melhoria dado que o índice cpod aos 6 anos foi de 2,1 e aos 12 anos o índice CPOD foi de 1,5. Os autores reportaram que, quer para a dentição decídua quer para a permanente, os níveis de cárie dentária eram mais elevados nas crianças das regiões rurais comparativamente com as crianças que habitavam em regiões periurbanas ou urbanas. De realçar que menores níveis de cárie estavam associados a crianças que escovavam os seus dentes pelo menos duas vezes por dia⁽¹⁷⁵⁾.

Em Portugal, a DGS reportou no ano 2000 e 2008 os resultados de dois importantes estudos epidemiológicos nacionais sobre a prevalência da cárie dentária em crianças e adolescentes de 6, 12 e 15 anos de idade^(176,177). Os resultados destes estudos revelaram que em Portugal a saúde oral das crianças e jovens tem vindo progressivamente a ser melhorada, demonstrando uma redução na prevalência de lesões de cárie e de necessidade

de tratamento, quer na dentição permanente quer na dentição decídua (embora, de forma menos demarcada na dentição decídua) ⁽¹⁷⁷⁾. No ano 2000, o Estudo Nacional de Prevalência da Cárie Dentária na População Escolarizada, representativo da população escolar realizado e publicado pela DGS, reportou que a percentagem de crianças livres de cárie aos 6 anos foi de 33% e o índice CPOD aos 12 anos de idade foi de 2,95 ⁽¹⁷⁸⁾. Do ano 2000 para o ano 2008, a percentagem de crianças aos 6 anos livres de cárie passou de 33% para 51% e o índice cpod passou de 3,56 para 2,10. Também aos 12 anos de idade, a prevalência de crianças sem lesões de cárie demonstrou uma melhoria considerável, passando de 27% para 44% e o CPOD diminuiu de 2,95 para 1,48 ⁽¹⁷⁷⁾.

Até 2008, o Programa Nacional de Promoção da Saúde Oral (PNPSO) concentrava-se principalmente na saúde oral no âmbito escolar, o número de médicos dentistas no Serviço Nacional de Saúde (SNS) era residual e não havia resposta para as necessidades de tratamento. Em 2008, o PNPSO foi reformulado e aprimorado com a introdução do “cheque-dentista” ⁽¹⁷⁹⁾, onde foi delineada e implementada uma estratégia dirigida para determinados estratos da população, nomeadamente, grávidas e idosos. Em 2009, este programa foi ampliado para incluir todas as crianças e adolescentes de grupos-alvo: 7, 10 e 13 anos de idade ⁽¹⁷⁷⁾. Posteriormente, em 2015, o relatório do III Estudo Nacional de Prevalência das Doenças Orais revelou que a prevalência de lesões de cárie dentária (c₅pod) aos 6 anos de idade na dentição decídua foi de 45,2%, enquanto que aos 12 anos foi de 47% (C₅POD), indicando que mais de metade das crianças avaliadas estavam isentas de lesões de cárie ^(179,180). Contudo, a estratégia europeia e as metas definidas pela OMS para a saúde oral apontavam para que, no ano de 2020, pelo menos 80% das crianças com 6 anos de idade estivessem isentas de cárie ⁽¹⁷⁶⁾. Pela observação de estudos regionais realizados em Portugal esta meta parece não ter sido cumprida.

Para além dos três importantes estudos epidemiológicos realizados em Portugal, outros trabalhos com amostras dimensionalmente mais pequenas, confinados a localizações geográficas mais estritas e incluindo crianças e jovens com doença do foro sistémico têm sido realizados no país. Apesar de na sua maioria não ser possível a generalização dos resultados obtidos, estes estudos representam um contributo adicional, auxiliando os investigadores na compreensão da epidemiologia desta doença.

Neste sentido considera-se pertinente a apresentação dos dados de forma sumária e esquemática por faixa etária. De modo a existir uniformidade com as faixas etárias avaliadas nos estudos epidemiológicos nacionais. Na Tabela 1 são apresentados os estudos realizados com:

- i) crianças em idade escolar e jovens a partir dos 12 anos de idade; e
- ii) crianças em idade pré-escolar;

Pelas características inerentes à metodologia dos estudos realizados são apresentados, separadamente, os estudos realizados com:

- iii) crianças com necessidades especiais de saúde.

Tabela 1. Características dos estudos selecionados, prevalência e/ou experiência de cárie dentária em crianças e jovens portugueses (1990-2020).

Referência, ano de publicação	Ano e Desenho do estudo	Localização	Faixa etária	Tamanho da amostra	Prevalência de cárie (%)	cpod/CPOD (dp)	Observações
i. Estudos com crianças em idade escolar e jovens a partir dos 12 anos de idade							
Pereira, 1992 ⁽¹⁸¹⁾	1987/1988 Transversal	Distrito do Porto	6-12 anos	614 (Ensino básico)	6 anos: 79,7 9 anos: 87,2 12 anos: 93,7	6 anos (CPOD): U: 1,16 (1,72); SU: 0,85 (1,36); R: 0,75 (1,32) 12 anos (CPOD): U: 4,10 (3,03); SU: 2,66 (2,99); R: 2,50 (2,96)	A proporção de crianças aos 6, 9 e 12 anos isentas de cárie apresenta variações importantes segundo a área geográfica (maior % na área SU, menor na U e intermédia na R)
Melo e Reis, 2001 ⁽¹⁸²⁾	1996/1997 Transversal	Vizela (área de influência CS*) Distrito de Braga	7 e 9 anos	222 (Ensino básico)	----	cpod/CPOD 7 anos: 5,0 (3,13) / 1,93 (1,49) 9 anos: 3,1 (2,42) / 3,40 (2,42)	Aumento preocupante da experiência de cárie na DP com o aumento da idade
Martin <i>et al.</i> , 2007 ⁽¹⁸³⁾	1998 Transversal	Lisboa (Escolas da Casa Pia)	8-12 anos	507	----	Apenas componente “c” do índice cpos/CPOS cs: 9,3 (8,3) CS: 6,5 (4,5)	A escassa exposição aos fluoretos pode estar na base do elevado número de lesões de cárie na amostra do estudo
Almeida <i>et al.</i> , 2003 ⁽¹⁷⁵⁾	1999 Transversal	16 clusters em Portugal Continental	6 anos e 12 anos	799 - 6 anos 800 - 12 anos	6 anos: 46,9 12 anos: 52,9	cpod (6 anos): 2,1 CPOD (12 anos): 1,5	Em ambas as idades, a experiência de cárie dentária foi maior nas crianças que viviam nas áreas rurais e que realizavam a escovagem dentária de forma irregular ou raramente
Baldini <i>et al.</i> , 2010 ⁽¹⁸⁴⁾	2005-2007 Longitudinal	Sintra, Distrito de Lisboa	7-8 anos	277	----	Alto risco + selante: CPOD 2005: 0,40 2007: 0,73 Baixo risco + selante: CPOD 2005: 0,00 2007: 0,02 Alto risco, sem selante: CPOD 2005: 0,46 2007: 0,89 Baixo risco, sem selante: CPOD 2005: 0,00 2007: 0,16	Objetivo: avaliar a eficácia da aplicação de selante de fissuras nos 1ºs MP, após 2 anos de seguimento. A experiência passada de cárie demonstrou ser um fator preditor muito forte para novas lesões de cárie

Tabela 1. Características dos estudos seleccionados, prevalência e/ou experiência de cárie dentária em crianças e jovens portugueses (1990-2020).

Referência, ano de publicação	Ano e Desenho do estudo	Localização	Faixa etária	Tamanho da amostra	Prevalência de cárie (%)	cpod/CPOD (dp)	Observações
Silva, 2010 ⁽¹⁸⁵⁾	2007-2009 Transversal	Baião, Distrito do Porto	6-18 anos	2216	6 anos: 47,8 10 anos: 59,2 13 anos: 30,5	CPOD (dp) 6 anos: 1,9 (2,8) 10 anos: 2,0 (2,1) 13 anos: 1,4 (1,6)	Maior prevalência de cárie dentária observada aos 10 anos de idade
Veiga <i>et al.</i> , 2014 ⁽¹⁸⁶⁾	----- Transversal	Concelho de Sátão, Distrito de Viseu	6-12 anos	605 (Ensino básico)	72,1	cpod: 3,01 (3,03) CPOD: 0,93 (1,35)	As crianças mais velhas, que residiam na zona rural e com responsáveis com menor nível de escolaridade apresentavam uma maior prevalência de cárie. Os comportamentos de saúde oral irregulares demonstraram estar, igualmente, associados à maior prevalência da doença
Gomes <i>et al.</i> , 2015 ⁽¹⁸⁷⁾	2012-2013 Transversal	Freguesia de Mafra, Distrito de Lisboa	6 anos	165	32,7	cpod: 1,32 (2,39)	O componente “c” do índice cpod representava 84,9% dos dentes afetados por cárie O início da escovagem dentária só após o primeiro ano de vida da criança foi um importante preditor de cárie na amostra estudada
Veiga <i>et al.</i> , 2015 ⁽¹⁸⁸⁾	2012 Transversal	Concelho de Sátão, Distrito de Viseu	12-18 anos	447	-----	-----	Não existe uma correlação entre a presença da bactéria <i>Helicobacter pylori</i> e a prevalência de cárie dentária em adolescentes
Teixeira e Mendes, 2019 ⁽¹⁸⁹⁾	2012 Transversal	Ilha de São Miguel, Açores	12 anos	145	29,6	CPOD: 0,67	Foi observada uma associação positiva entre a cárie dentária e a realização de consulta de MD
Branco, 2015 ⁽¹⁹⁰⁾	2015 Transversal	Concelho de Coimbra	6-11 anos	263 (Ensino básico)	-----	cpod: 1,0 (1,94) CPOD: 0,12 (0,51)	Condição socioeconómica mais baixa demonstrou estar associada a piores indicadores de saúde oral

Tabela 1. Características dos estudos seleccionados, prevalência e/ou experiência de cárie dentária em crianças e jovens portugueses (1990-2020).

Referência, ano de publicação	Ano e Desenho do estudo	Localização	Faixa etária	Tamanho da amostra	Prevalência de cárie (%)	cpod/CPOD (dp)	Observações
Frias-Bulhosa <i>et al.</i>, 2015⁽¹⁹¹⁾	2015 Transversal	Castelo de Paiva, Distrito de Aveiro	13 anos	181	-----	CPOD: 4,04 (2,79)	Cerca de 90,1% dos jovens tinham experiência de cárie (elevada taxa de dentes não tratados) Não foi verificada associação entre o CPOD e o IMC ajustado à idade
Rozan <i>et al.</i>, 2016⁽¹⁹²⁾	2014/2015 Transversal	Torres Vedras, Distrito de Lisboa	12-14 anos	112	79,5	CPOD: 2,16 (1,71)	-----
Sousa, 2016⁽¹⁹³⁾	2016 Transversal	Freguesia de Freiria, Torres Vedras, Distrito de Lisboa	10-15 anos	104	-----	CPOD (12 anos): 2,62 (2,09) CPOD (amostra): 2,36 (2,81)	Cerca de 37,5% da amostra apresentava um CPOD superior a 3; Foi observada uma associação positiva entre a prevalência e a gravidade de cárie com variáveis de frequência alimentar
Cavacas <i>et al.</i>, 2017⁽¹⁹⁴⁾	----- Transversal	Torres Vedras, Distrito de Lisboa	11-16 anos	53	52,8	CPOD: 1,34 (1,72)	Valor médio de dentes obturados é a componente mais relevante no índice CPOD
Silva <i>et al.</i>, 2018⁽¹⁹⁵⁾	----- Transversal	Viseu, Distrito de Viseu	1-18 anos 12,21(4,41)	100	-----	CPOD: 3,43 (3,58)	Crianças institucionalizadas: A idade menos jovem e a realização de consultas prévias de MD estavam associadas a um maior valor médio do CPOD
ii. Estudos com crianças em idade pré-escolar							
Vasconcelos <i>et al.</i>, 2004⁽¹⁹⁶⁾	1999 Transversal	Matosinhos Distrito do Porto	1-5 anos	301	CPI: 15	-----	O conteúdo do biberão com açúcar, a maior prevalência de cárie dentária materna, a não utilização de suplementos de flúor e o baixo nível

Tabela 1. Características dos estudos seleccionados, prevalência e/ou experiência de cárie dentária em crianças e jovens portugueses (1990-2020).

Referência, ano de publicação	Ano e Desenho do estudo	Localização	Faixa etária	Tamanho da amostra	Prevalência de cárie (%)	cpod/CPOD (dp)	Observações
							socioeconómico da família demonstraram estar associados com a CPI
Mendes <i>et al.</i>, 2009⁽¹⁹⁷⁾	----- Transversal	Alcântara Distrito de Lisboa	3-6 anos	134	48,1	cpod: 2,1 (3,29)	Maior parte dos dentes cariados sem tratamento dentário realizado; População carenciada com piores indicadores de saúde oral
Ângelo <i>et al.</i>, 2012⁽¹⁹⁸⁾	----- Transversal	Mangualde Distrito de Viseu	4,59 anos (0,95)	233	-----	cpod: 2,38 (3,15)	Crianças com cpod ≥ 7 : 11,8%; Apenas 44,8% isentas de cárie; Prevalência de cárie aumenta com idade
Borralho, 2014⁽¹⁹⁹⁾	2009 Transversal	Freguesia de Alfragide, Concelho da Amadora Distrito de Lisboa	3-5 anos	-----	CPI: 32,1 3 anos: 27,3 4 anos: 25,0 5 anos: 31,4	cpod: 1,1 cpod (3 anos): 0,4 cpod (4 anos): 0,8 cpod (5 anos): 1,2	Aumento da experiência e gravidade de cárie com a idade
Martins <i>et al.</i>, 2014⁽²⁰⁰⁾	2013/2014 Transversal	Freguesia de Paranhos, Distrito do Porto	35-71 meses	258	CPI: 34,6	cpod: 1,42	Prevalência de CPI mais elevada nas crianças mais velhas desta amostra; Escolaridade dos pais e consumo de refrigerantes associados à CPI
Mendes e Bernardo, 2015⁽¹⁸⁷⁾	2011-2012 Transversal	Distrito de Lisboa	3-5 anos	443	CPI: 56,4	ca-cpod: 2,5 (3,43)	Maioria dos dentes cariados encontravam-se sem tratamento
Mendes <i>et al.</i>, 2016⁽²⁰¹⁾	2015-2016 Transversal	Freguesia de Alvalade, Distrito de Lisboa	2-6 anos	104	27,9	cpod: 0,95 (2,1)	Cerca de 92,9% do cpod correspondia ao componente “c”. Prevalência e gravidade de cárie maiores nas crianças de 6 anos

Tabela 1. Características dos estudos seleccionados, prevalência e/ou experiência de cárie dentária em crianças e jovens portugueses (1990-2020).

Referência, ano de publicação	Ano e Desenho do estudo	Localização	Faixa etária	Tamanho da amostra	Prevalência de cárie (%)	cpod/CPOD (dp)	Observações
Neto <i>et al.</i> , 2018 ⁽²⁰²⁾	----- Transversal	Concelho de Lisboa (CS*)	3-5 anos	89	CPI: 28,7	ca-6pod: 1,17 (2,64)	Elevada percentagem de dentes decíduos cariados e sem tratamento
Pereira <i>et al.</i> , 2020 ⁽²⁰³⁾	----- Longitudinal	Coimbra, Distrito de Coimbra	5 anos	142	B: CPI: 40,1; F(6): 46,5 B: CPI-G: 11,3; F(6):13,2	B: ca-6pod: 1,6 (2,5) B:c4-6pod: 1,1 (2,2) F: ca-6pod: 1,5 (2,5) F:c4-6pod: 1,2 (2,3)	A ocupação profissional da mãe não remunerada ou não qualificada, assim como, um nível de escolaridade parental mais baixo, principalmente materno, estavam significativamente associados à presença de CPI; Outros comportamentos relacionados com os cuidados de saúde oral e com a dieta das crianças demonstraram também estarem associados com a doença

B: Baseline; **ceod:** número médio de dentes decíduos cariados extraídos e obturados por cárie; **CPI:** Cárie precoce da infância; **CPI-G:** Cárie precoce da infância Grave; **CPOD:** número médio de dentes permanentes cariados perdidos e obturados por cárie; **cpod:** número médio de dentes decíduos cariados perdidos e obturados por cárie; **CPOS:** número médio de superfícies dos dentes permanentes cariadas perdidas e obturadas por cárie; **cpo:** número médio de superfícies dos dentes decíduos cariadas perdidas e obturadas por cárie; **CS:** Superfícies cariadas de dentes permanentes; **cs:** superfícies cariadas de dentes decíduos; **CS*:** Centro de Saúde; **DD:** Dentição decídua; **DP:** Dentição permanente; **dp:** desvio-padrão **F (6):** Follow-up de 6 meses; **IMC:** Índice de massa corporal; **MD:** Medicina dentária; **R:** Rural; **SU:** Suburbana; **U:** Urbana;

(%): percentagem;

1ºs MP: Primeiros molares permanentes.

iii. Estudos em crianças com necessidades especiais de saúde

Relativamente às crianças com necessidades especiais de saúde geralmente os estudos de cárie residem na comparação da prevalência e/ou experiência da cárie dentária nestas crianças com um grupo controlo de crianças saudáveis. Os estudos de cárie dentária realizados em Portugal incluem crianças com síndrome de Down e com diabetes *mellitus* tipo 1.

Areias e os seus colaboradores, com o objetivo de comparar a prevalência de cárie em crianças com síndrome de Down e os seus respetivos irmãos sem a síndrome, verificaram na amostra do seu estudo (n=90 participantes: 45 com a síndrome e 45 grupo controlo) que 78% das crianças com síndrome de Down estavam isentas de cárie, no momento da avaliação, comparativamente com 58% das crianças do grupo controlo ⁽²⁰⁴⁾. As crianças com síndrome de Down apresentavam um índice cpod/CPOD de 1,02 (dp: 2,42) comparativamente com um índice cpod/CPOD de 1,84 (dp: 3,13) nos seus irmãos. Os autores reportaram que esta diferença estatisticamente significativa encontrada entre os dois grupos (com idade entre os 6 e os 18 anos, cuja idade média das crianças foi de 13 anos de idade), devia-se sobretudo à maior preocupação dos pais com os filhos que necessitavam de cuidados especiais de saúde. Nesse sentido, advém o facto das crianças com síndrome realizarem consultas de medicina dentária em idade mais jovem do que os seus irmãos ⁽²⁰⁵⁾, assim como, a elevada frequência do bruxismo e um atraso significativo na erupção dentária nestas crianças, comparativamente com os seus irmãos sem síndrome ⁽²⁰⁴⁾.

Com enfoque também neste grupo de crianças com necessidades especiais de saúde, Macho e os seus colaboradores observaram que 72% das crianças com síndrome de Down estavam isentas de cárie, enquanto que a percentagem verificada nos seus irmãos foi de 46% ⁽²⁰⁶⁾. Os resultados deste estudo corroboram os resultados já observados por Areias e os seus colaboradores (2011) ⁽²⁰⁴⁾.

Relativamente a um outro grupo de crianças com necessidades especiais de saúde, entre 2009 e 2010 foi realizado um estudo com o objetivo de identificar potenciais determinantes da diabetes *mellitus* tipo 1 na saúde oral das crianças. Foram observadas 133 crianças diabéticas seguidas na consulta da Unidade de Endocrinologia Pediátrica do

Hospital Pediátrico de Coimbra e 72 crianças não diabéticas seguidas na consulta de Odontopediatria do Mestrado Integrado em Medicina Dentária da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. As crianças tinham idades compreendidas entre os 5 e os 15 anos de idade e verificou-se que apenas 12,5% das crianças não diabéticas e 23,3% das diabéticas não apresentavam experiência de cárie dentária tanto na dentição decídua como na permanente. Nas crianças diabéticas observou-se um valor médio de cpod/CPOD de 1,79 (dp: 1,90) / 1,25 (dp: 1,70), enquanto que nas crianças não diabéticas o valor médio de cpod/CPOD foi de 3,52 (dp: 2,53)/1,91 (dp: 2,23) ⁽²⁰⁷⁾.

Ainda sobre as crianças diabéticas, Coelho e os seus colaboradores elaboraram um estudo na Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto (FMDUP) com o objetivo de realizar uma avaliação paramétrica da saúde oral de uma amostra de crianças portuguesas com diabetes *mellitus* tipo 1. A idade média das crianças em ambos os grupos foi de 13 anos e, relativamente à prevalência de cárie dentária, neste estudo não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as crianças diabéticas e o grupo controlo (crianças não diabéticas). Os autores verificaram diferenças estatisticamente significativas apenas entre os grupos relativamente ao número de dentes obturados por cárie. O grupo controlo apresentava uma média de 1,56 dentes obturados enquanto que o grupo de crianças diabéticas apresentava uma média de 2,72 dentes obturados por cárie. Os autores reportaram ainda que a ausência de diferenças estatisticamente significativas relativamente à prevalência de cárie estava relacionada com o facto de crianças com doenças crónicas serem mais protegidas pelos pais e, apesar das crianças diabéticas terem um maior número de refeições por dia, geralmente também apresentam maiores restrições na ingestão de hidratos de carbono ⁽²⁰⁸⁾.

1.6 Prevenção da cárie dentária

1.6.1 Importância da prevenção precoce

Reconhecendo que a cárie dentária na infância é uma doença com um impacto significativo que resulta de um desequilíbrio de múltiplos fatores de risco e proteção ⁽¹⁹⁾, no período pré-natal e/ou até a erupção do primeiro dente da criança, os seus responsáveis devem ser devidamente informados sobre os fatores que estão na base etiológica desta doença. Nesse sentido, a importância da restrição da ingestão de açúcar, assim como, a

adoção de medidas de higiene oral ajustadas a cada período do crescimento e desenvolvimento da criança devem ser enfatizadas junto dos responsáveis ⁽²⁰⁹⁾.

Neste contexto, evidencia-se que a primeira consulta de medicina dentária da criança ocorra aquando da erupção do primeiro dente ou durante o seu primeiro ano de vida. Nesta consulta deve ser realizada uma avaliação do risco de cárie da criança que permita a programação de um esquema preventivo adequado, no qual se inclui a periodicidade das consultas médico-dentárias de rotina. Por outro lado, nesta primeira consulta devem ser dadas orientações aos responsáveis sobre cuidados antecipatórios relativamente à prevenção e controlo das principais doenças orais. O objetivo primordial desta consulta consiste, sobretudo, em promover a implementação de comportamentos e atitudes favoráveis à saúde oral da criança tendo em consideração a importância da aquisição de hábitos saudáveis em idades precoces ⁽²¹⁰⁾.

No que concerne ao controlo da dieta, salvaguarda-se o cuidado a ter com: a amamentação *ad libitum* depois da erupção do primeiro dente decíduo; a ingestão de bebidas adoçadas com açúcares livres através do biberão ou “copos de transição”; a utilização da chupeta depois dos 12 ou 18 meses; e com a introdução dos hidratos de carbono após os 6 meses de idade ⁽²¹¹⁾. Sobre esta temática, tal como reportado previamente, os cuidadores devem ser orientados no sentido de promoverem uma redução na ingestão de açúcares nos primeiros anos de vida, não devendo mesmo os açúcares livres serem introduzidos na dieta da criança antes dos 2 anos de idade ⁽²¹²⁾. Nas crianças que realizam medicação por rotina sob a forma de suspensão oral, deve ser dada prioridade à toma do fármaco imediatamente após a refeição ou antes da escovagem dentária. Sempre que possível, as alternativas farmacológicas com substitutos de açúcares devem ser consideradas como os fármacos de eleição ⁽¹⁹⁾.

Relativamente ao controlo da placa bacteriana é fundamental que medidas de higiene oral sejam implementadas precocemente, sendo a medida de excelência a realização da escovagem dentária 2 vezes por dia com pasta dentífrica fluoretada ⁽²¹³⁾. Os responsáveis pelas crianças devem ser instruídos a realizar e apoiar a higiene oral até que a criança desenvolva destreza manual que lhe permita realizá-la de forma correta e independente ⁽²⁰⁹⁾.

Uma revisão sistemática, publicada em 2010 sobre programas preventivos pré-natais, reportou que a educação dos pais sobre a natureza etiológica da cárie dentária, assim como, o seu conhecimento sobre recomendações para controlo da dieta e para a adoção de medidas de higiene oral reduzem significativamente a incidência de cárie em crianças pequenas⁽²¹⁴⁾. Contudo, um número considerável de pais ainda não estava consciente dos procedimentos preventivos-padrão, especialmente sobre a necessidade de realizarem a escovagem dentária a partir da erupção do primeiro dente decíduo⁽¹³⁶⁾.

1.6.2 Fluoretos

Os benefícios e as potencialidades cariostáticas do flúor foram reconhecidas na década de 1930. Contudo, atualmente, os fluoretos continuam a representar uma das principais estratégias para a prevenção da cárie dentária em ambas as dentições, sendo que uma maior escassez de dados é constatada para a dentição decídua^(103,136).

As recomendações para a utilização de pastas dentífricas fluoretadas em bebés e crianças têm vindo a ser modificadas num esforço de maximizar o seu efeito preventivo e minimizar o risco de fluorose dentária⁽²¹⁵⁾. Este método de aplicação tópica de flúor acrescenta a vantagem de, simultaneamente, permitir a desorganização mecânica da placa bacteriana, daí que esta formulação apresente mais vantagens relativamente às restantes formas de aplicação de fluoretos⁽²¹⁶⁾.

A formulação e a concentração de fluoretos nas pastas dentífricas são diversas, com uma variedade de compostos fluoretados usados isoladamente e/ou em combinação (fluoreto de sódio, monofluorofosfato de sódio, fluoretos de amina e fluoreto de estanho). De acordo com as especificações de cada fabricante, estes devem ser compatíveis com outros compostos básicos constituintes das pastas dentífricas, especialmente os sistemas abrasivos. A concentração usual de flúor na pasta dentífrica varia de 1000 a 1500 partes por milhão (ppm). Pastas dentífricas com concentrações de flúor superiores e inferiores às convencionais estão disponíveis em muitos países, no entanto, concentrações muito mais elevadas raramente estão disponíveis comercialmente porque são classificadas como um medicamento e exigem prescrição médica⁽¹³⁶⁾.

Muitos investigadores têm verificado que a escovagem com pasta dentífrica fluoretada reduz a prevalência de cárie dentária nas crianças em idade escolar. Por outro lado, a utilização de pastas dentífricas em idades muito jovens pode associar-se a fluorose dentária ⁽²¹⁷⁾, sendo de salientar que as crianças com idade inferior a 5 anos tendencialmente ingerem a pasta dentífrica durante a escovagem, enquanto que as crianças mais velhas têm a capacidade de expelir corretamente o dentífrico ^(217,218).

Poucos estudos têm abordado os efeitos da escovagem dentária com pastas fluoretadas em crianças com idade inferior a 6 anos ⁽²¹⁵⁾. A falta de informação relativamente à segurança e eficácia destas pastas, nesta faixa etária, tem resultado em informações inconsistentes entre a comunidade médica relativamente às recomendações quanto à concentração e quantidade de pasta dentífrica fluoretada indicada para as crianças mais jovens ⁽²¹⁵⁾. Mesmo nas diretrizes das entidades de referência na área da medicina dentária existem disparidades relacionadas, por exemplo, com a quantidade de pasta dentífrica a ser utilizada.

Segundo as referências da *Food and Drug Administration* (FDA) relativamente à utilização de pasta dentífrica fluoretada, nos Estados Unidos da América (EUA) está determinado que para crianças com idade inferior a 6 anos deve ser utilizada uma quantidade semelhante ao tamanho de uma ervilha e, para crianças mais jovens, com menos de 2 anos de idade, o médico dentista deve ser especificamente consultado para uma recomendação mais ajustada. Atualmente, muitas sociedades científicas recomendam a utilização de uma quantidade equivalente ao tamanho de um grão de arroz (*smear*) para crianças com idade inferior a 2 anos e, posteriormente, ao tamanho de uma ervilha para crianças a partir dos 2 anos de idade ⁽²¹³⁾.

A *American Dental Association* recomenda, atualmente, escovar os dentes apenas com água nas crianças com menos de 2 anos e com uma quantidade de pasta equivalente a uma ervilha entre os 2 e os 6 anos de idade. Devido a esta divergência de recomendações, quer os profissionais de saúde quer os cuidadores das crianças, recebem recomendações com inconsistências que geram controvérsia relativamente à utilização das pastas dentífricas fluoretadas ⁽²¹⁵⁾.

De acordo com as diretrizes da AAPD, recentemente atualizadas, desde a erupção do

primeiro dente, estes devem ser escovados pelos responsáveis diariamente com pasta dentífrica fluoretada. Na ausência de outras fontes relevantes de flúor, especialmente água potável fluoretada, a pasta deve conter uma concentração igual ou superior a 1000 ppm de flúor ⁽²¹³⁾.

Relativamente à quantidade de pasta dentífrica para uma criança com menos de 3 anos, deve ser utilizada uma porção semelhante a um grão de arroz (aproximadamente 0,1 miligrama (mg)), enquanto que um tamanho semelhante a uma ervilha (aproximadamente 0,25mg) é apropriado para crianças de 3 a 6 anos de idade. De salientar que os responsáveis devem colocar a pasta numa escova dentária de cerdas de consistência macia e de tamanho apropriado para a idade da criança, realizando ou auxiliando este processo em crianças de idade pré-escolar ⁽²¹⁰⁾. Para maximizar o efeito do flúor da pasta dentífrica, o bochecho com água após a escovagem dentária deve ser evitado ou totalmente eliminado ⁽¹⁹⁾.

Apesar da falta de uniformidade verificada entre as entidades, é inquestionável a importância da utilização generalizada das pastas dentífricas fluoretadas o que, face à luz do conhecimento atual, corresponde à medida com maior influência no controlo da cárie dentária ^(135,136).

Paralelamente à utilização das pastas dentífricas existem outros métodos para a disponibilização tópica de fluoretos, tais como, as soluções fluoretadas para bochecho (uso no domicílio ou em programas escolares) e a aplicação de géis e vernizes que pelas concentrações elevadas da molécula fluoretada exigem a aplicação por um profissional de saúde ^(213,219).

Nesta perspetiva, a AAPD em 2020 reforçou que as aplicações de vernizes de flúor são eficazes na obtenção de uma relação custo-benefício positiva para grupos ou populações com elevada prevalência de cárie ^(213,219,220). Mesmo nas crianças mais jovens, consideradas de elevado risco para o desenvolvimento de cárie, as aplicações devem ser realizadas entre 2 a 4 vezes por ano ⁽²⁰⁹⁾. Entre os agentes mais amplamente disponibilizados sob esta formulação destacam-se o fluoreto de sódio e o fluoreto de fosfato acidulado ⁽²¹³⁾.

Ainda sobre os fluoretos na dentição decídua, numa ótica preventivo-terapêutica pertencente a um patamar mais avançado do processo cariogénico, o fluoreto de diamina de prata foi recentemente aprovado pela FDA e, atualmente, pode ser utilizado nas lesões de dentina sem envolvimento pulpar. Este agente interceta o processo de cárie através da ação antibacteriana da prata. Porém, não deve ser descurada a coloração preta da dentina cariada como efeito colateral da sua aplicação ⁽²²¹⁾.

No que concerne às vias de exposição aos fluoretos, atualmente sabe-se que designar o flúor apenas como um método tópico ou sistémico é uma designação excessivamente simplista. O flúor ingerido através de água fluoretada e suplementos pode contribuir para um efeito tópico nos dentes erupcionados. Da mesma forma, o flúor tópico ingerido pode ter um efeito sistémico ⁽²¹³⁾.

Sob a típica denominação de métodos sistémicos, as decisões relativas à administração de flúor são baseadas nas necessidades únicas de cada indivíduo, incluindo a avaliação dos riscos e dos benefícios. A fluoretação da água potável é o método mais equitativo e económico de aportar flúor a todos os membros de uma comunidade ⁽²¹³⁾. Outros métodos de fluoretação incluem o sal e o leite, atualmente, menos preconizados. Relativamente aos suplementos de flúor, estes devem ser considerados apenas para crianças com elevado risco de cárie após a avaliação de todas as fontes de fluoretos a que a criança possa estar exposta ⁽²²²⁾. Salienta-se, no entanto, que em Portugal e segundo a DGS, a administração de suplementos sistémicos não está recomendada para nenhuma faixa etária, porém, excecionalmente, as crianças a partir dos 3 anos de idade com elevado risco para o desenvolvimento de cárie dentária podem beneficiar da toma diária de um comprimido de fluoreto de sódio 0,25mg ⁽¹⁸⁰⁾.

Para além do uso disseminado dos fluoretos, algumas intervenções alternativas têm sido sugeridas de forma a complementar o plano preventivo estipulado individualmente para cada indivíduo e que podem contemplar a utilização de agentes antimicrobianos, a aplicação de outros agentes com capacidade remineralizadora (sobretudo agentes à base de cálcio) e a aplicação de selantes de sulcos e fissuras ^(223,224).

1.6.3 Selantes de sulcos e fissuras

As superfícies oclusais, especialmente dos molares permanentes, apresentam sulcos e fissuras que favorecem a retenção de resíduos alimentares e micro-organismos, situação que contribui, invariavelmente, para um maior risco de desenvolvimento de cárie dentária ⁽²²⁵⁾. Adicionalmente, o flúor é menos eficaz na prevenção da cárie nestas superfícies dentárias isoladas comparativamente com as superfícies lisas ⁽²²⁶⁾, assim como, o controlo mecânico da placa bacteriana encontra-se dificultado nestas superfícies dentárias posteriores. Razões pelas quais, desproporcionalmente, cerca de 90% de todas as lesões de cárie diagnosticadas em crianças em idade escolar localizam-se, especificamente, nestas áreas anatómicas ⁽²²⁵⁾.

Os selantes de fissuras atuam como uma barreira física entre o esmalte e o ambiente oral contra ácidos e a subsequente perda mineral do dente. Podem ser aplicados em dentes posteriores isentos de cárie ou em dentes com lesões de cárie incipientes para prevenir a sua progressão para uma lesão cavitada ⁽²²⁷⁾.

A literatura mais recente sobre esta temática evidencia que os selantes de fissuras são eficazes e seguros, tanto na dentição permanente como na decídua, para prevenir ou evitar a progressão de lesões de cárie não cavitadas comparativamente com dentes sem selantes ⁽²²⁸⁾, sendo verificado que apresentam um efeito preventivo igual ou superior aos vernizes fluoretados ⁽²²⁶⁾. Contudo, relativamente à sua eficácia nos molares decíduos, este assunto requer investigações adicionais uma vez que existem, neste contexto, vários fatores relacionados, por exemplo, com a morfologia oclusal menos proeminente dos molares decíduos e com o comportamento menos colaborante das crianças mais pequenas que podem condicionar o sucesso desta intervenção ⁽²²⁹⁾.

CAPÍTULO II

– Enquadramento teórico – Secção II: Vitamina D e cárie dentária

II – Enquadramento teórico

Secção II: Vitamina D e as estruturas da cavidade oral

1. Vitamina D

O termo vitamina D (calciferol) refere-se a um grupo de secoesteróides lipossolúveis com função endócrina, nomeadamente, com um papel crucial no metabolismo fosfo-cálcico e na saúde óssea ⁽²³⁰⁾. As suas duas formas principais são a vitamina D₂ (ergocalciferol) e a vitamina D₃ (colecalfiferol). A vitamina D₃ apresenta-se como a forma de vitamina D de maior importância, quer ao nível do desempenho de funções biológicas quer de nutrição, embora esta relevância continue a ser controversa ⁽²³¹⁾.

1.1 Exposição solar e fontes nutricionais

A vitamina D é obtida através de três tipos de fontes: da exposição solar, da dieta e da suplementação. O nível de vitamina D nos humanos depende maioritariamente da exposição solar, no entanto, depende também embora em parte residual, do suprimento oral. A pele humana pode produzir vitamina D por exposição à radiação solar ultravioleta B (UVB), convertendo o 7-deidrocolesterol (7-DHC) ou pró-vitamina D₃ (presente de forma natural em elevadas concentrações na pele humana) em vitamina D₃ (Figura 4). A sua produção depende da quantidade de radiação UVB que atinge a pele, sendo influenciada pela pigmentação da pele, uso de protetor solar, tipo de roupa, estação do ano e latitude geográfica ^(232,233). A quantidade de exposição solar pode variar consideravelmente a nível individual e, por isso, determinar as necessidades dietéticas de vitamina D é um processo extremamente difícil ⁽²³⁰⁾. Deve ainda ser realçado que, neste contexto e segundo um ensaio clínico realizado em 2012, a produção de vitamina D pode ser totalmente “anulada” quando se utiliza a quantidade e o fator de proteção dos filtros de proteção solar preconizados pela OMS ⁽²³⁴⁾.

As fontes dietéticas de vitamina D são escassas e encontram-se principalmente nos peixes gordos (salmão selvagem, cavala, enguia, anchova, sardinha, peixe-espada, atum), nos

óleos de peixe (por exemplo, o óleo de fígado de bacalhau) e, em menor grau, na gema de ovo e em alguns fungos ^(235–237).

Em alguns países europeus, existem certos alimentos que são fortificados com vitamina D, tais como o leite, os laticínios, a margarina, os cereais do pequeno-almoço e os sumos de frutas. A fortificação das fórmulas infantis com vitamina D está bem estabelecida. De acordo com a Diretiva 2006/141/EC da Comissão Europeia, a dose de vitamina D deve ser de 40 a 100 UI (Unidades Internacionais)/100 kcal nas fórmulas infantis e de 40 a 120 UI/100 kcal nas fórmulas de continuação ⁽²³⁸⁾. Além disso, todos os países europeus recomendam a suplementação oral de vitamina D durante a infância, existindo ainda alguns países que a recomendam também em crianças mais velhas ^(236,239–241).

1.2 Absorção, metabolismo e armazenamento

As vitaminas D₂ e D₃ são produzidas por fotólise com radiação solar UVB a partir de precursores de esterol. Existem determinadas plantas e fungos que produzem vitamina D₂, enquanto que a vitamina D₃ é sintetizada por animais (por exemplo, peixes e pássaros) e pela pele humana. As vitaminas D₂ e D₃ resultantes da dieta são absorvidas no intestino delgado, sendo este processo dependente da presença de gorduras alimentares neste órgão de forma a estimular a produção de lipase pancreática e ácidos biliares ⁽²⁴²⁾. A 1,25-dihidroxitamina D (1,25(OH)₂ D), conhecida como calcitriol, estimula a absorção intestinal do cálcio, todavia, sem vitamina D, apenas 10-15% do cálcio da dieta e cerca de 60% do fósforo são absorvidos. A suficiência de vitamina D aumenta a absorção de cálcio e fósforo em 30-40% e em 80%, respetivamente ⁽²⁴³⁾.

A excreção dos metabolitos da vitamina D ocorre principalmente por meio da bília e, em muito menor quantidade, pela urina. As vitaminas D₂ e D₃ são pró-hormonas inativas que na circulação ligam-se à proteína de ligação à vitamina D (VDBP) para serem transportadas para o fígado, onde são convertidas em 25-hidroxitamina D (calcidiol) (25(OH) D) pela enzima 25-hidroxilase. A 25(OH) D sofre uma hidroxilação adicional pela enzima 1 α -hidroxilase nos rins para se tornar no metabolito ativo: 1,25(OH)₂ D). Esta segunda etapa de hidroxilação é regulada pelas concentrações de cálcio e fosfato via PTH. A 1,25(OH)₂ D é o metabolito ativo que está envolvido em muitos processos

fisiológicos, principalmente mas não exclusivamente, no metabolismo do cálcio e do fósforo ⁽²³⁰⁾ (Figura 4).

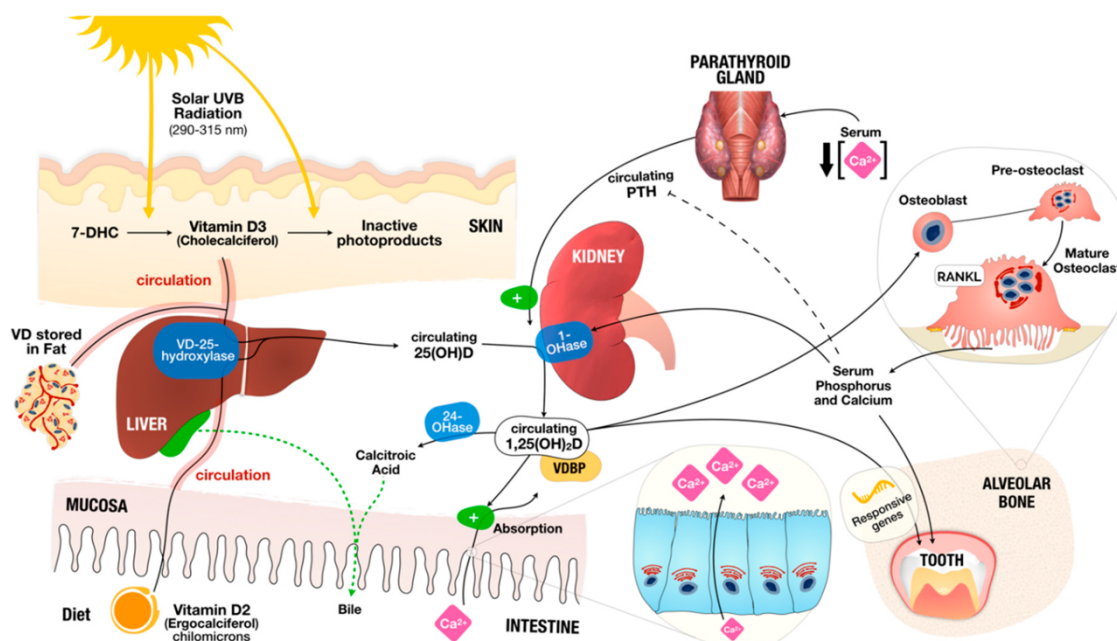


Figura 4. Vitamina D, cálcio, fósforo e metabolismo ósseo. A vitamina D é obtida principalmente pela exposição à luz solar (vitamina D₃) e pela dieta (vitamina D₂). Em contacto com a radiação solar UVB, o 7-DHC presente na pele é imediatamente convertido em vitamina D₃ num processo dependente do calor. A exposição excessiva à luz solar pode destruir a vitamina D₃ e convertê-la em fotoprodutos inativos. A vitamina D₂ da dieta é absorvida na forma de quilomicrons. A vitamina D na circulação liga-se a VDBP, que a transporta para o fígado. Neste órgão, a vitamina D é convertida pela 25-hidroxilase em 25(OH) D. Em seguida, a 25(OH) D circula, atingindo os rins onde é ativada pela 1α-hidroxilase em 1,25(OH)₂ D. O fósforo ou cálcio sérico podem afetar a produção renal de 1,25(OH)₂ D. A 1,25(OH)₂ D promove um *feedback* negativo da PTH pelas glândulas paratireóides. A 1,25(OH)₂ D aumenta a expressão da 24-hidroxilase (24-OHase), mantendo sua excreção na biles. A 1,25(OH)₂ D é reconhecida nos osteoblastos, causando a indução de osteoclastos maduros por meio da expressão do recetor ativador do fator nuclear-κB ligante (RANKL). Osteoclastos maduros removem cálcio e fósforo do osso, mantendo os níveis séricos de cálcio e fósforo (Adaptado de ⁽²⁴²⁾ (Anexo 1)).

A vitamina D é armazenada no tecido adiposo, contudo, foi sugerido que as reservas de vitamina D neste tecido podem não estar prontamente disponíveis quando necessárias ⁽²⁴⁴⁾. Crianças, adolescentes e adultos obesos apresentam concentrações séricas de 25(OH) D mais baixas do que os indivíduos com índice de massa corporal (IMC) normal, provavelmente devido à retenção de vitamina D no tecido adiposo em excesso. Neste sentido, os obesos podem necessitar de maiores quantidades de vitamina D para atingir a concentração sérica normal de 25(OH) D ^(245,246). No entanto, outros estudos reportaram

que a gordura e a massa magra não foram, independentemente, associadas aos níveis de vitamina D em crianças e adolescentes saudáveis ⁽²⁴⁷⁾. O estilo de vida pode ser outro fator que influencia a associação entre a obesidade e a concentração sérica de 25(OH) D. Atualmente, não há evidências de que a deficiência de vitamina D associada ao aumento da gordura corporal tenha consequências negativas na densidade mineral óssea e na saúde óssea na faixa etária pediátrica ^(245,248).

1.3 Mecanismos de ação da vitamina D

A vitamina D atua primordialmente como uma hormona e a sua atividade endócrina promove a homeostasia sérica do cálcio e fósforo por meio da regulação da absorção intestinal ^(237,249,250) (Figura 4). A vitamina D atua igualmente como um agente autócrino e parácrino, regulando a diferenciação celular, a maturação celular e o sistema imunológico inato ^(251,252). Em detalhe, as ações celulares da vitamina D são mediadas pelo recetor da vitamina D (VDR), que é uma molécula recetora que se liga à forma ativa da vitamina D ^(251–253). Como tal, as ações da vitamina D dependem da regulação do VDR para os seus efeitos genómicos e de uma membrana associada a proteínas para efeitos não genómicos (como vias de sinalização). A vasta amplitude de ação da vitamina D deve-se ao facto desta modular a expressão de um número considerável de genes, estimando-se que o faça em 5 a 10% de todo o genoma ^(242,251), o que pode justificar muitos dos benefícios pleiotrópicos na saúde que lhe estão associados ⁽²⁴³⁾.

1.4 Doseamento de vitamina D

A forma ativa da vitamina D, a 1,25(OH)₂ D, não fornece informação fidedigna sobre o conteúdo corporal de vitamina D dado que, na presença de défice desta vitamina, há elevação da PTH, o que irá aumentar a atividade renal da 1 α -hidroxilase, promovendo a conversão da 25(OH) D em 1,25(OH)₂ D. Como a primeira existe em maior concentração que a segunda, com o aumento da conversão, a 1,25(OH)₂ D pode ser normal mesmo em situação de défice de vitamina D ⁽²⁵⁴⁾.

Adicionalmente, as concentrações de 1,25(OH)₂ D são extremamente baixas, apresentam uma semi-vida curta (aproximadamente 24 horas, enquanto a 25(OH) D apresenta uma semi-vida de cerca de 2 a 3 semanas) e os seus níveis dependem da exposição à luz solar

e da ingestão de vitamina D recentes ⁽²⁵⁵⁾. O nível sérico de 25(OH) D é o melhor indicador do conteúdo corporal de vitamina D ao refletir a vitamina obtida a partir da ingestão alimentar e da exposição à luz solar, bem como, a conversão de vitamina D a partir dos depósitos adiposos no fígado ⁽²⁵⁶⁾.

Embora existam vários métodos para dosear a 25(OH) D (por radioimunoensaio, ensaios enzimáticos e cromatografia líquida com espectrometria de massa), a precisão e exatidão destes testes continua a ser problemática ⁽²⁵⁷⁾. A avaliação laboratorial da 25(OH) D tem vindo a demonstrar alguns problemas ao longo do tempo, com uma variabilidade marcada de métodos e resultados diferentes entre laboratórios. Apesar da melhoria dos ensaios da 25(OH) D, a variabilidade dos resultados laboratoriais está sempre presente ⁽²⁵⁴⁾. Alguns imunoensaios são equipotentes na medição de 25(OH) D₂ e 25(OH) D₃, enquanto outros detetam preferencialmente uma das formas. Assim, alguns imunoensaios podem levar a erros de interpretação e de classificação clínica ⁽²⁵⁷⁾.

Atualmente, os imunoensaios apresentam-se como os métodos mais comuns no doseamento de 25(OH) D, existindo uma grande diversidade de imunoensaios disponíveis tendo por base várias metodologias, destacando-se os que utilizam substâncias quimioluminescentes e os radioimunoensaios ^(258–260). Alguns ensaios que utilizam ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) estão também disponíveis ⁽²⁵⁸⁾. Com o decorrer dos anos, para ultrapassar os problemas relacionados com o uso de radioatividade, bem como, com a conservação limitada inerente aos marcadores radioativos, estes têm vindo a ser progressivamente substituídos por imunoensaios que utilizam substâncias quimioluminescentes ou enzimas ^(243,258,260,261).

Com o aumento das solicitações para o doseamento de 25(OH) D, as técnicas manuais foram progressivamente substituídas por métodos incorporados a plataformas automatizadas como ELISA, quimioluminescência e eletroquimioluminescência ^(243,258,260,261). Destes métodos, o que tem vindo a ser incorporado em mais testes automatizados é a quimioluminescência. Os imunoensaios que utilizam substâncias quimioluminescentes são ensaios diretos, competitivos e que se baseiam na determinação quantitativa de 25(OH) D ^(243,258,260).

Os métodos quimioluminescentes, eletroquimioluminescentes e ELISA são

extremamente úteis, mesmo apresentando algumas desvantagens entre as quais se destacam a maior suscetibilidade a interferentes e uma maior imprecisão (variabilidade entre os ensaios). Por outro lado, estes ensaios podem ser facilmente automatizados, apresentando grande capacidade produtiva, reduzindo os custos e o tempo para realização do doseamento. Por este motivo, têm sido frequentemente adotados em grandes estudos populacionais e na rotina dos laboratórios clínicos ⁽²⁵⁸⁻²⁶⁰⁾.

Apesar da utilização frequente de imunoensaios no doseamento de 25(OH) D, os métodos diretos de deteção apresentam-se como ensaios mais fidedignos. Os métodos diretos de deteção de 25(OH) D incluem a cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), sendo o método mais comum a HPLC de fase reversa associada à deteção ultravioleta com eluição isocrática ou em gradiente e a cromatografia líquida associada a espectrometria de massa (LC-MS/MS). Alguns métodos que utilizam cromatografia gasosa associada a espectrometria de massa também foram descritos mas em muito menor número ^(258,260,261).

Os métodos de HPLC permitem separar e quantificar individualmente os dois principais metabolitos de 25(OH) D circulantes, ou seja, 25(OH) D₂ e 25(OH) D₃ ^(255,258,260,261). Apesar de ser considerada uma técnica de eleição, esta apresenta inúmeras limitações que, por vezes, restringem a sua utilização ^(255,258,260,261). Estes métodos requerem um volume de amostra relativamente grande, bem como, um padrão interno de natureza radioativa. Além disso, possuem um baixo ritmo de amostragem e necessitam de ser executados por técnicos experientes para a obtenção de resultados precisos. Assim, este método não é considerado adequado para um laboratório clínico de alta capacidade ⁽²⁵⁸⁾.

A cromatografia líquida associada à espectrometria de massa (LC-MS/MS) constitui uma alternativa viável ao HPLC na avaliação de 25(OH) D em circulação ^(258,261). É descrita como uma técnica altamente sensível e considerada o método de eleição na deteção e quantificação de 25(OH) D. Tal como na HPLC, permite quantificar separadamente as duas isoformas da vitamina 25(OH) D, é um método preciso, sendo comparável com a técnica de radioimunoensaio ^(258,260,261).

À medida que se procura compreender com maior precisão as funções inerentes à vitamina D, a sua medição torna-se essencial e imperiosa. É necessária uma maior concordância entre os métodos de doseamento, não só no contexto de investigação mas

também sob a perspetiva clínica, de modo a que exista um maior acordo e exatidão sobre os objetivos mínimos adequados a uma terapêutica ideal com vitamina D.

1.5 Insuficiência e/ou deficiência de vitamina D

Na última década assistiu-se a avanços notáveis na compreensão da vitamina D e dos seus potenciais efeitos na saúde humana, fundamentados num aumento exponencial de investigações abrangendo a biologia básica da vitamina D e o impacto clínico da sua deficiência e da sua suplementação. Previsivelmente, esta rápida expansão da pesquisa da vitamina D tem levado a que vários investigadores apresentem visões díspares sobre os seus benefícios para a saúde humana. Como consequência desta discordância, os últimos anos foram caracterizados pelo advento de painéis de especialistas visando a melhor tradução da pesquisa em vitamina D, por meio da publicação de diretrizes formais.

A primeira diretriz foi elaborada pelo *Institute of Medicine* (IOM) (agora denominado *National Academy of Medicine*), uma organização não governamental sem fins lucrativos com sede nos EUA. Em 2010, o IOM publicou um longo e detalhado “*Report on Dietary Reference intakes for vitamin D and calcium*” ⁽²⁵⁶⁾ que, entre muitos outros aspetos, apoiou uma concentração ideal de 25(OH) D sérica de 50 nmol/L (nanomoles por litro) (20 ng/ml (nanogramas por mililitro), 1 ng/ml = 2,5 nmol/L). O painel do IOM enfatizou que esta recomendação foi baseada exclusivamente nas ações esqueléticas da vitamina D, para as quais dados significativos de ensaios clínicos controlados randomizados estavam disponíveis ⁽²⁵⁶⁾.

Esta consistência na evidência dos trabalhos publicados sobre as ações da vitamina D no esqueleto ⁽²⁶²⁾ contrastou com a ampla diversidade de estudos, não tão bem sustentados, sobre as ações extra-esqueléticas da vitamina D. Em muitos desses casos, outras evidências, maioritariamente resultantes de estudos de associação com determinadas doenças, endossavam um nível-alvo mais elevado de 25(OH) D como ideal e que diferia das recomendações do IOM ⁽²⁶²⁾.

Em 2011, em resposta a esta posição, outro painel de especialistas da *Endocrine Society* que incluía representantes dos EUA, Canadá e Europa, publicou um conjunto alternativo de recomendações intitulado “*Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D*

Deficiency: an Endocrine Society Practice Guideline”, no qual considerava valores suficientes de vitamina D uma concentração sérica de 25(OH) D >30 ng/ml (75 nmol/L) ⁽²⁶²⁾.

Em 2016, um grupo de peritos nas áreas da endocrinologia pediátrica, pediatria, nutrição, epidemiologia, saúde pública e economia da saúde, que representam 11 organizações científicas internacionais, estabeleceram um consenso baseado na evidência no que diz respeito à definição, diagnóstico, tratamento e prevenção do raquitismo nutricional para a população pediátrica. Este painel classificou os níveis de vitamina D, no contexto da mineralização esquelética e do metabolismo dos iões minerais para a prevenção do raquitismo nutricional. Considerou suficiência de vitamina as concentrações de 25(OH) D superiores a 50 nmol/L (20 ng/ml), insuficiência de vitamina D as concentrações de 25(OH) D entre os 30 e os 50 nmol/L (12 ng/ml e os 20 ng/ml) e deficiência de vitamina D os níveis de 25(OH) D inferiores a 30 nmol/L (12 ng/ml) ⁽²⁶³⁾.

Esta definição dos valores de referência de vitamina D é consistente com os estipulados pelo IOM ^(256,264), os quais são também corroborados pelo Comité de Nutrição da ESPGHAN (*European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition*) ⁽²⁶⁴⁾ e, mais recentemente, pelo *Australasian Paediatric Endocrine Group* ⁽²⁶⁵⁾.

A maioria das crianças com deficiência de vitamina D é assintomática, destacando-se a interação entre o nível sérico de 25(OH) D e a ingestão de cálcio na dieta para a manutenção das concentrações séricas de cálcio e da integridade óssea ⁽²⁶³⁾ (Figura 5).

As concentrações de vitamina D podem ser confundidas pela ingestão de cálcio ⁽²⁶⁶⁾. Neste sentido, para que ocorra uma diferenciação e mineralização do osteóide e da placa de crescimento sem alterações, são necessários não só níveis suficientes de vitamina D, mas também uma correta ingestão de cálcio. Apesar de atualmente as recomendações relativamente aos valores de referência de vitamina D, em idade pediátrica, parecerem estar a convergir para o uso pragmático de concentrações séricas superiores a 50 nmol/L, como valor de corte para a indicação de suficiência de vitamina D, é de salientar que estas recomendações são baseadas exclusivamente na ação esquelética que a vitamina D desempenha, sobretudo, na prevenção do raquitismo nutricional ⁽²⁶²⁾.

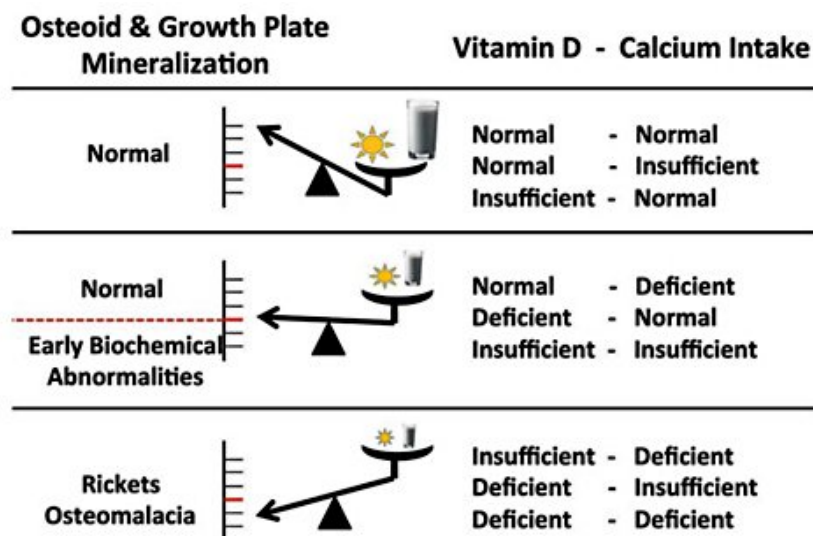


Figura 5. Perturbações bioquímicas na patogénese do raquitismo com base numa classificação de três estágios do estado da vitamina D (simbolizado pelo sol) e ingestão de cálcio (simbolizado por um copo de leite). (Adaptado de ⁽²⁶³⁾ (Anexo 1)).

Todavia, não deve ser ignorada a associação verificada entre a deficiência de vitamina D com uma miríade de doenças agudas e crónicas, incluindo pré-eclâmpsia, cárie dentária na idade pediátrica, periodontite, doenças autoimunes, doenças infecciosas, doenças cardiovasculares, cancro, diabetes *mellitus* tipo 2 e distúrbios neurológicos ⁽²⁶⁷⁾, para as quais um valor limiar ótimo de vitamina D não é reportado. Assim, torna-se difícil definir um único limite estrito e confiável das concentrações de 25(OH) D quando se pretende a otimização da sua utilização em funções extra-esqueléticas, sendo este um assunto que atualmente continua a suscitar uma grande controvérsia.

1.6 Prevalência da insuficiência e/ou deficiência de vitamina D

A deficiência em vitamina D que aumentou com a mudança de hábitos alimentares decorrentes da revolução agrícola e que se tornou rara no século XX, é novamente uma preocupação mundial de saúde pública no século XXI. A deficiência e a insuficiência de vitamina D são um problema global de saúde que afeta mais de um bilião de crianças e adultos em todo o mundo ⁽²⁶⁷⁾.

As principais causas atribuídas a esse défice nutricional nas crianças incluem a exposição solar insuficiente (vida mais sedentária, menor exposição solar devido às campanhas de prevenção do cancro cutâneo, uso excessivo de protetor solar com filtro de proteção

elevado, uso de roupas cobrindo a maior parte da pele, viver em latitudes setentrionais durante o inverno), os regimes alimentares com menor aporte de vitamina D, a pele hiperpigmentada, a obesidade ⁽²³⁰⁾, as doenças crónicas (fígado, intestino, rim) ⁽²⁶⁸⁾ e a toma de determinados medicamentos, como antiepiléticos (fenitoína e carbamazepina) e glicocorticóides sistémicos ^(269,270).

Entre os fatores acima reportados destaca-se a falta de exposição à luz solar UVB como a causa *major* na etiologia da deficiência de vitamina D. Todavia, esta carência também pode surgir de um défice nutricional resultante da mudança de hábitos alimentares das atuais gerações (redução do consumo de leite, escassez no consumo de peixes gordos como o salmão, cogumelos expostos ao sol, óleo de fígado de bacalhau e, também, carnes vermelhas como a de vaca e porco). As deficiências de vitamina D também podem ser resultantes de distúrbios hereditários de absorção e conversão metabólica ⁽²³⁷⁾. Dados limitados sobre as concentrações e deficiência de vitamina D entre a população pediátrica europeia estão disponíveis para vários países, incluindo Dinamarca, Inglaterra, Finlândia, França, Alemanha, Grécia, Irlanda, Itália, Holanda, Polónia, Espanha, Suíça e Turquia ⁽²³⁰⁾.

Num estudo abrangente que incluiu dados de 55844 indivíduos de diferentes países europeus foi verificado que, independentemente da faixa etária, da etnia e da latitude das populações em estudo, 13% dos indivíduos apresentavam, em média, concentrações séricas de 25(OH) D de 30 nmol/L ⁽²⁷¹⁾. De salientar que essa prevalência de deficiência de vitamina D foi maior nos indivíduos testados no inverno (17,7%) comparativamente com os testados no verão (8,2%). É de salientar também que os subgrupos de pele escura apresentaram uma prevalência de deficiência de vitamina D muito maior em comparação com os indivíduos de raça branca. Os autores salientaram ainda que, ao usar a definição dos valores de referência da *Endocrine Society*, a prevalência de deficiência de vitamina D (<50 nmol/L) para a totalidade dos participantes foi de 40,4% ⁽²⁷¹⁾.

Numa revisão sistemática recente, de 2018, foram analisados os dados disponíveis sobre as concentrações séricas médias de 25(OH) D, bem como, as estimativas da prevalência de baixos níveis de vitamina D de indivíduos de várias faixas etárias dos países do sul da Europa (incluindo os países de leste do Mediterrâneo). Os dados foram analisados

considerando o género, idade e raça dos participantes, assim como, a estação do ano em que os níveis de vitamina D foram recolhidos. As concentrações séricas médias de 25(OH) D em recém-nascidos e bebés de países do sul da Europa variam consideravelmente entre níveis muito baixos (14,2 nmol/L) na Turquia (em bebés com idade gestacional normal) e níveis ótimos (101 nmol/L) numa cidade no norte de Espanha (em recém-nascidos e bebés entre os 0 a 12 meses de idade). As taxas de prevalência de deficiência e insuficiência de vitamina D (25(OH) D <25 e <50 nmol/L, respetivamente) foram mais elevadas em recém-nascidos italianos migrantes e mais baixas em bebés espanhóis. Em Itália, a prevalência de deficiência de vitamina D foi quase duas vezes maior em recém-nascidos/bebés e mães migrantes em comparação com os italianos nativos ⁽²⁷²⁾.

Relativamente à menor concentração sérica de 25(OH) D materna (10,7 nmol/L), avaliada a partir de amostras de sangue do cordão umbilical, esta foi também registada em mães turcas, as quais apresentavam as maiores taxas de prevalência de deficiência e insuficiência de vitamina D (94,8% e 100%, respetivamente) ⁽²⁷²⁾.

Comparativamente com países como a Grécia, Espanha e Itália, onde a prevalência de níveis baixos de vitamina D (<50 nmol/L) variou aproximadamente de 7 a 78% para recém-nascidos/bebés e de 20 a 67% para as mães, a prevalência na Turquia foi de 90 a 100% entre as mães e/ou os recém-nascidos/bebés. Por outro lado, a maior concentração média sérica de 25(OH) D (73,4 nmol/L) foi reportada para mães que viviam nas regiões do norte e do leste de Espanha ⁽²⁷²⁾.

Dos estudos que relatam estimativas de prevalência das concentrações séricas de 25(OH) D <25 nmol/L em recém-nascidos/bebés para todas as estações do ano, a prevalência média de deficiência de vitamina D foi de aproximadamente 20%. Nas crianças e adolescentes, a concentração sérica média mais baixa de 25(OH) D (21,7 nmol/L), avaliada durante os meses de inverno/primavera, foi registada nos participantes do género feminino entre os 4 e os 16 anos de Ancara, na Turquia. Por outro lado, a concentração média mais elevada de 25(OH) D (94,4 nmol/L) foi observada em crianças, adolescentes e jovens adultos, entre os 8 e os 24 anos, na cidade de Florença, em Itália, durante o verão ⁽²⁷²⁾.

Em consonância com esses dados, a maior prevalência de insuficiência de vitamina D (25(OH) D <50 nmol/L) foi observada em 98,2% de meninas turcas em Ancara. Por outro lado, quando considerado o valor limiar de deficiência de vitamina D (25(OH) D <25 nmol/L), verificou-se que, em média, 38% das crianças/adolescentes na Turquia apresentavam níveis de deficiência em vitamina D. Na maioria dos estudos que reportam dados em crianças de ambos os géneros, as concentrações séricas médias de 25(OH) D foram consistentemente mais baixas em participantes do género feminino comparativamente com as do género masculino ⁽²⁷²⁾.

Apesar da abundância de radiação solar UVB no sul da Europa e na região leste do Mediterrâneo, mais de um terço dos estudos identificados na revisão sistemática de Manios e os seus colaboradores (2018) reportaram níveis médios de 25(OH) D abaixo de 50 nmol/L. Esta revisão abrangente destacou que a deficiência de vitamina D foi evidente em todos os subgrupos da população, porém, foram maiores nos recém-nascidos/bebés e nos adolescentes, idades que correspondem a períodos críticos do crescimento ósseo e desenvolvimento geral dos indivíduos ⁽²⁷²⁾.

Os bebés, principalmente os recém-nascidos, são suscetíveis à deficiência de vitamina D, já que geralmente não são expostos à luz solar e, como as práticas de alimentação infantis e as políticas de suplementação variam entre os países, o risco é maior entre aqueles que são exclusivamente amamentados sem suplementação ^(273,274).

Em Portugal, foi recentemente publicado um estudo nacional de base populacional que incluiu 3092 indivíduos adultos (≥ 18 anos de idade e não institucionalizados) de todo o país, incluindo os arquipélagos da Madeira e dos Açores. Os autores verificaram que a deficiência/insuficiência de vitamina D (25(OH) D <20 ng/ml) é altamente prevalente em Portugal, afetando mais de 60% dos indivíduos e apresentando uma ampla variação geográfica e sazonal ⁽²⁷⁵⁾.

Um outro estudo realizado em Portugal, considerando um grupo populacional com mais de 65 anos, abordou indivíduos saudáveis e demonstrou que 69% dos participantes apresentava níveis de vitamina D inferiores a 20 ng/ml, salientando que 39,6% dos indivíduos apresentavam níveis inferiores a 12 ng/ml ⁽²⁷⁶⁾.

Relativamente a crianças e adolescentes, em 2016, foi publicado um estudo português que reportou uma prevalência de deficiência de vitamina D ($25(\text{OH}) \text{ D} < 20 \text{ ng/ml}$) de 47,8% em crianças e adolescentes saudáveis entre os 5 e os 18 anos de idade da região do Porto, independentemente, do estado de nutrição e do padrão de atividade física ⁽²⁷⁷⁾. Previamente, em 2009, também na região do Grande Porto, foi realizado um estudo que, embora tenha contemplado uma amostra dimensionalmente pequena e considerado crianças de classe social média-alta, demonstrou que 26% das crianças avaliadas entre os 2,5 e os 16 anos de idade apresentavam níveis insuficientes de vitamina D ($< 75 \text{ nmol/L}$) ⁽²⁷⁸⁾.

Num trabalho realizado com adolescentes de 13 anos de idade, também da região do Porto (coorte EPITeen), com o objetivo de compreender a relação entre a ingestão de vitamina D e os níveis séricos de $25(\text{OH}) \text{ D}$, foi verificado que a concentração média da vitamina sérica foi de $16,5 \text{ ng/ml}$ (dp: 5,7), apresentando valores superiores no verão ($17,3 \text{ ng/ml}$ (dp: 5,9) comparativamente com os registados no inverno ($14,8 \text{ ng/ml}$ (dp: 4,6) ⁽²⁷⁹⁾.

Contrariando as expectativas, verifica-se que a deficiência e/ou insuficiência de vitamina D é uma condição evidente em toda a população europeia, com taxas de prevalência preocupantes e que requerem medidas não só sob a perspetiva clínica mas também da saúde pública ⁽²⁷¹⁾.

1.7 Toxicidade da vitamina D

Apesar da vitamina D quando ingerida em doses adequadas não apresentar qualquer tipo de toxicidade, se ingerida em quantidades elevadas pode ser tóxica, no entanto, a intoxicação por vitamina D é considerada uma condição extremamente rara ⁽²⁸⁰⁾, que geralmente resulta da ingestão não intencional ou intencional de quantidades excessivamente altas por um período prolongado de tempo ^(281,282). A vitamina D não pode tornar-se tóxica por uma exposição solar ilimitada, uma vez que o seu excesso na pele é “destruído” pelo sol ⁽²⁸⁰⁾.

Atualmente, não existe consenso sobre a quantidade de vitamina D que causa toxicidade. Porém, especula-se que nos adultos a toxicidade resulte da ingestão de doses de

vitamina D muito superiores a 10000 UI/dia. As concentrações séricas de vitamina D resultantes desses valores de suplementação são superiores a 375 nmol/L, os quais estão associados a hipercalcemia aguda e hiperfosfatemia ^(249,283).

Historicamente, na Grã-Bretanha, no início da década de 50, foram relatados vários casos de bebés com malformações da face, estenose aórtica supra-valvular, atraso mental e hipercalcemia ⁽²⁸⁴⁾. À data, o *Royal College of Physicians* e a *British Pediatric Association*, após um exame cuidadoso da literatura e pesquisas sobre a ingestão alimentar, concluíram que as causas mais prováveis para estas manifestações clínicas residiam no excesso de fortificação não regulamentado do leite com vitamina D e/ou ingestão excessiva de vários alimentos fortificados e naturalmente contendo vitamina D (leite em pó e óleo de fígado de bacalhau) ^(285,286). Embora a *Royal Academy of Physicians* admitisse não ter nenhuma evidência direta para esta conclusão, esta ilação foi baseada em estudos realizados em roedores ⁽²⁸⁷⁾. No seguimento destes resultados, a legislação instituída na Grã-Bretanha proibiu a fortificação de qualquer alimento ou produtos alimentares. Essa preocupação com a toxicidade da vitamina D em crianças levou a que vários países da Europa, Médio Oriente, Ásia, África e América do Sul proibissem a fortificação do leite com vitamina D. Apenas os EUA, Canadá e alguns países europeus continuaram a permitir que o leite fosse fortificado com esta vitamina ⁽²⁸⁸⁾. No entanto, em retrospectiva, é provável que esses bebés sofressem de uma doença genética rara, como o caso da Síndrome de Williams, e que a presença das anomalias faciais, de estenose aórtica supra-valvular, de atraso mental, de hipercalcemia fossem devido a uma hipersensibilidade à vitamina D, ou de outros distúrbios de hipersensibilidade à vitamina D, incluindo sarcoidose e a deficiência de 24-hidroxilase ^(289–291).

De acordo com o consenso global realizado em 2016, a intoxicação por vitamina D em bebés e crianças pequenas é, predominantemente, observada após a exposição a doses extremamente elevadas de vitamina D (240000-4500000 UI) ^(292–294). Estas concentrações de 25(OH) D podem causar hipercalcemia, hipercalciúria e, se prolongada, nefrocalcinose e insuficiência renal. Para permitir uma grande margem de segurança, este grupo considerou prudente usar a concentração de 250 nmol/L como o limite superior recomendado de 25(OH) D sérico, mesmo que a toxicidade sintomática em ensaios

clínicos controlados randomizados tenha sido reportada apenas com níveis séricos superiores a 500 nmol/L ⁽²⁹²⁾.

Segundo a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos, o limite superior de segurança é definido em 1000 UI/dia para bebés, 2000 UI/dia para crianças de 1 a 10 anos e 4000 UI/dia para crianças e adolescentes de 11 a 17 anos de idade ⁽²⁹⁵⁾. Os limites superiores definidos pelo IOM diferem ligeiramente, apresentando valores relativamente mais baixos para cada faixa etária ⁽²⁶⁴⁾.

Nos últimos anos, observa-se uma grande preocupação com o potencial aumento do uso generalizado de vitamina D. Contudo, a evidência parece clara de que a toxicidade da vitamina D é uma das condições médicas mais raras e que, de uma forma geral, deve-se à ingestão intencional ou inadvertida de doses extremamente altas de vitamina D durante meses e anos ⁽²⁸⁸⁾.

1.8 Recomendações para a prevenção da deficiência de vitamina D

A maioria dos países europeus, bem como os EUA e o Canadá, de acordo com os relatórios recentes da Academia Americana de Pediatria, do IOM e do Comité de Nutrição da ESPGHAN recomendam uma ingestão diária de vitamina D de pelo menos 400 UI/dia (10µg) para bebés durante o primeiro ano de vida ^(239,264). Está estipulado que essa dose permitirá que a maioria dos bebés obtenha uma concentração de 25(OH) D de 50 nmol/L, prevenindo doenças associadas à deficiência de vitamina D ⁽²⁶⁴⁾. Esta indicação foi, em 2016, corroborada pelo grupo responsável pelo consenso global, no qual foi reforçada esta recomendação independentemente do modo de alimentação do bebé ⁽²⁶³⁾.

A suplementação durante o primeiro ano de vida deve ser universal. Porém, o Comité de Nutrição da Sociedade Francesa de Pediatria preconiza nas suas recomendações doses mais elevadas de suplementação. Nesse sentido, bebés amamentados devem fazer suplemento de 1000–1200 UI/dia; as crianças com menos de 18 meses de idade alimentadas com leite suplementado com vitamina D: 600–800 UI/dia; e as crianças com menos de 18 meses de idade alimentadas com leite não suplementado com vitamina D: 1000–1200 UI/dia ⁽²⁴⁰⁾.

Contudo, existe evidência de que muitos lactentes não recebem a suplementação recomendada ^(296,297). Desse modo, é importante que os pediatras e outros profissionais de saúde garantam que esta estratégia preventiva comprovada seja “operacionalizada” de modo a que todos os bebés na Europa recebam suplementos diários de vitamina D adequados para sua idade ⁽²³⁰⁾.

Um suprimento diário de 400 UI de vitamina D pode não ser suficiente para crianças com mais de 12 meses de idade, pelo que o IOM decidiu aumentar as necessidades médias estimadas para crianças a partir de 1 ano de idade e adultos, recomendando uma ingestão diária de 600 UI/dia (15µg) de vitamina D através da dieta e/ou suplementação ⁽²⁹⁸⁾. Todavia, crianças saudáveis com risco aumentado de deficiência de vitamina D podem necessitar de doses superiores a 600 UI/dia de vitamina D para atingir um limiar de 25(OH) D de 50 nmol/L ^(231,299). O aumento do risco de deficiência de vitamina D está associado, sobretudo, aos fatores já previamente reportados (pele hiperpigmentada, falta de exposição solar adequada e obesidade) ⁽²³⁰⁾.

O Comité de Nutrição da Sociedade Francesa de Pediatria recomenda, não só para os bebés, mas também para as crianças até aos 5 anos de idade e adolescentes dos 10 aos 18 anos, a suplementação oral com doses mais elevadas de vitamina D (duas doses de 80000 a 100000 UI, todos os invernos, em novembro e fevereiro) ⁽²⁴⁰⁾.

Para bebés e crianças com níveis de 25(OH) D inferiores a 50 nmol/L, para os quais as dosagens-padrão de suplementação diária de vitamina D podem não ser ideais, doses mais elevadas intermitentes de 50000 a 100000 UI ingeridas trimestralmente parecem ser uma opção promissora. Contudo, um entendimento mais abrangente da segurança e eficácia desta abordagem permanece sob estudo ⁽²³⁰⁾.

O Comité de Nutrição ESPGHAN assume que, embora as evidências disponíveis mostrem uma baixa ingestão de vitamina D entre crianças e adolescentes europeus, bem como, uma elevada prevalência de baixas concentrações séricas de vitamina D (sem sintomas clínicos), as evidências disponíveis para apoiar a suplementação de vitamina D após a infância não são robustas, com incertezas quanto aos valores de referência para a definição de deficiência de vitamina D ⁽²³⁰⁾.

Contudo, o consenso global de 2016 recomenda que, na ausência de fortificação alimentar, a suplementação de vitamina D deve ser indicada para crianças com idade superior a 12 meses com histórico de deficiência sintomática de vitamina D que requer tratamento; para crianças e adultos com elevado risco de deficiência de vitamina D com fatores ou condições que reduzem a síntese ou ingestão de vitamina D; e em grávidas. Existem evidências sólidas e de elevada qualidade de que a suplementação de vitamina D deve ser fornecida para grupos de risco. Todos os grupos de risco, já previamente mencionados, são especificamente vulneráveis e, na ausência de fortificação de alimentos, requerem suplementação ⁽²⁶³⁾.

A fortificação das fórmulas infantis com vitamina D está bem estabelecida e é recomendada por todos os países europeus, Austrália, Nova Zelândia e também pela Academia Americana de Pediatria ⁽²³⁰⁾. A fortificação do leite com vitamina D é obrigatória no Canadá e o “leite enriquecido” é fortificado voluntariamente nos EUA ⁽³⁰⁰⁾.

Durante a gravidez, a deficiência materna de vitamina D deve ser evitada, garantido que as gestantes recebem 600 UI/dia de vitamina D, preferencialmente sob a forma de suplemento combinado com outros micronutrientes como o ferro e o ácido fólico. Esta dosagem deverá assegurar níveis de 25(OH) D adequados para prevenir um aumento da fosfatase alcalina no cordão umbilical, o aumento do tamanho das fontanelas, hipocalcemia neonatal e raquitismo congénito e, por outro lado, para melhorar a formação do esmalte dentário. Existem poucas evidências de que a suplementação específica com vitamina D durante a gravidez proteja ou melhore os padrões antropométricos da criança, assim como, proteja ou melhore o crescimento ou aumento de massa óssea a curto ou longo prazo ⁽²⁶³⁾. As lactantes devem garantir que atendem às recomendações dietéticas de vitamina D (600 UI/dia) para as suas próprias necessidades, por isso, não devem ingerir grandes quantidades de vitamina D como meio de suplementar os seus bebés ⁽²⁶³⁾.

Em Portugal, de acordo com a norma nº004/2019 de 14/08/2019, a suplementação vitamínica D só deve ser prescrita em idade pediátrica nas crianças saudáveis até aos 12 meses de vida. Independentemente do tipo de alimentação, está recomendado um suplemento de vitamina D diário de 400 UI (10µg) por via oral. Na terapêutica do raquitismo infantil de causa nutricional para uma criança com idade igual ou superior a 12 meses e inferior a 10 anos, deverá ser prescrito um suplemento de vitamina D diário

de 2000 UI (50µg), por via oral, durante pelo menos três meses. Nas crianças com idade superior a 10 anos e no adulto, a prescrição de vitamina D deve ser realizada nas situações descritas no ponto 3⁽¹⁾ desta norma, após confirmação laboratorial e/ou clínica de deficiência de vitamina D e após assegurar as necessidades diárias de cálcio. Especificamente nas grávidas e lactantes, a utilização de suplementação vitamínica D só terá justificação para assegurar as suas próprias necessidades. A ser considerada a prescrição de vitamina D isolada na grávida e na lactante, em caso de deficiência, a dose deverá ser de 600 a 800 UI/dia, ingerida por via oral ⁽³⁰¹⁾.

Paralelamente às recomendações de suplementação de vitamina D preconizadas, as crianças e os adolescentes devem ser encorajados a seguir um estilo de vida saudável, associado a um IMC normal com uma dieta rica em alimentos contendo vitamina D e à prática de atividades ao ar livre com uma adequada exposição solar ⁽²³⁰⁾.

O Comité de Nutrição da ESPGHAN recomenda que as autoridades nacionais adotem políticas destinadas a melhorar os níveis da vitamina D usando medidas como recomendações dietéticas, fortificação de alimentos, suplementação de vitamina D e exposição criteriosa ao sol, dependendo das circunstâncias locais ⁽²³⁰⁾.

1.9 Rastreio dos níveis de vitamina D

A determinação do nível sérico de 25(OH) D não deve ser efetuada por rotina. Não existe evidência científica de algum benefício desse doseamento no rastreio e prevenção primária da deficiência de vitamina D. Em crianças saudáveis, o rastreio de 25(OH) D por rotina também não está recomendado. Monitorizar as concentrações de 25(OH) D como uma política de saúde pública seria uma medida impraticável, contudo, os grupos de alto risco podem ser facilmente identificados com base no seu perfil clínico ⁽²⁶³⁾.

⁽¹⁾ **Norma nº 004/2019 de 14/08/2019: 3.** a) Pessoas com idade superior a 65 anos a viver em unidades de internamento de cuidados continuados de longa duração e manutenção (superior a 90 dias), com exposição solar limitada. b) Pessoas com fatores de risco documentados para deficiência e insuficiência de vitamina D: i) exposição solar muito limitada; ii) síndromas de malabsorção intestinal; iii) pessoas com insuficiência renal crónica. c) Pessoas com história conhecida de alterações metabólicas congénitas ou adquiridas do metabolismo do cálcio e vitamina D. d) Pessoas com história prévia, conhecida, de deficiências de vitamina D. e) Pessoas com condições de saúde ou exames sugestivos de deficiência de vitamina D: i) baixa excreção urinária de cálcio em urina 24h; ii) níveis elevados de PTH ou fosfatase alcalina óssea; iii) hipocalcemia e/ou hipofosfatemia; iv) osteoporose; v) fraturas não traumáticas.

Em Portugal, a determinação dos níveis séricos de vitamina D deve ser considerada no adulto desde que devidamente fundamentada nas situações indicadas no ponto 3 da norma nº004/2019 de 14/08/2019, como anteriormente referido ⁽³⁰¹⁾.

2. Vitamina D e o desenvolvimento das estruturas orais

Os dentes são órgãos mineralizados compostos por três tecidos duros, o esmalte, dentina e cemento, os quais estão ligados pelo ligamento periodontal (não mineralizado) ao osso alveolar envolvente. Apesar do processo da formação dentária, ou odontogénese, diferir da osteogénese em vários aspetos, a biomineralização dentária ocorre mediante processos paralelos à mineralização do esqueleto, sendo empregue um “*tool kit*” de sinais moleculares, proteínas da matriz extracelular e moléculas reguladoras. A odontogénese é suscetível a tipos de falhas semelhantes às do osso quando o metabolismo mineral é perturbado. Adicionalmente aos distúrbios na função e forma do esqueleto, os indivíduos que sofrem de desordens relacionadas com a vitamina D, apresentam alterações de desenvolvimento em ambas as estruturas, ossos e dentes ^(302,303).

A deficiência de vitamina D tem sido associada a hipoplasia dentária, atraso na erupção, cárie dentária e problemas periodontais, variando desde hemorragia gengival a perda óssea. O nível de evidência que suporta a causalidade destas associações varia consideravelmente. Relativamente à hipoplasia dentária e ao atraso na erupção dentária a evidência é robusta e amplamente reconhecida por entidades de referência como a OMS. Por outro lado, evidência inequívoca resultante de ensaios clínicos é escassa, sendo necessária de modo a perceber-se se a suplementação com vitamina D pode diminuir o risco de cárie dentária. A deficiência em vitamina D pode, também, conduzir a um crescimento craniofacial alterado e contribuir para consequências que podem variar desde alterações frontais e occipitais discretas a consequências ósseas mais impactantes ^(302,303).

2.1 História da vitamina D e os tecidos orais

Embora relatos precoces de deformidades ósseas parecidas com raquitismo sejam atribuídos a médicos dos séculos I e II d.C. ⁽³⁰⁴⁾, a primeira descrição detalhada desta condição foi publicada em 1950 por Glisson e seus colaboradores num tratado médico

publicado em Inglaterra ⁽³⁰⁵⁾. Os autores destacaram sinais clínicos, incluindo malformações nos membros e articulações alargadas nos punhos e tornozelos. As alterações na dentição foram, à data, também reportadas ⁽³⁰²⁾.

O raquitismo surge durante o período de desenvolvimento ósseo nas crianças e caracteriza-se por um defeito na mineralização e alargamento das placas epifisárias (ou placas de crescimento), enquanto que a osteomalacia é um defeito na mineralização da matriz óssea. De uma forma geral, tanto o raquitismo quanto a osteomalacia ocorrem concomitantemente em crianças. O raquitismo ocorre exclusivamente em crianças, enquanto os adultos desenvolvem osteomalacia após a fusão da placa epifisária ⁽³⁰³⁾.

O osso que está a modelar-se e a remodelar-se rapidamente durante os períodos iniciais de crescimento, no raquitismo, permanece como um osteóide hipomineralizado como resultado da interrupção do metabolismo mineral, deixando-o mecanicamente frágil e sujeito a fraturas. A combinação de excesso de osteóide e carga crescente (por exemplo, ganho de peso e início da caminhada em crianças) leva ao arqueamento raquítico das pernas. O raquitismo, também se manifesta com ruturas em áreas de rápido crescimento esquelético, incluindo placas de crescimento epifisário em ossos longos e junções costochondrais, e pode causar baixa estatura, suturas cranianas e fontanelas aumentadas, atraso no fecho das fontanelas e malformações do crânio, incluindo achatamento parietal e occipital ^(306,307).

Todavia, os efeitos destrutivos do raquitismo na dentição foram melhor reconhecidos em 1883 devido a uma publicação no *British Journal of Dental Sciences*, na qual foi verificado que: « *The evolution of the teeth is retarded or if commenced interrupted and when the teeth do appear they are carious black and soon fall from their sockets* » ⁽³⁰⁸⁾ *cit in.* ⁽³⁰²⁾.

Mais tarde, no início do século XX, estudos experimentais no âmbito da nutrição conduzidos por Elmer McCollum, Sir Edward Mellanby e outros autores revelaram que a etiologia do raquitismo residia na falta de um fator anti-raquítico, a vitamina D. Estudos em modelos animais raquíticos, ao longo do século passado, elucidaram o papel da 1,25(OH)₂ D na mineralização do esqueleto. Nesses estudos, o raquitismo foi induzido experimentalmente usando dietas deficientes em vitamina D, cálcio e fosfato inorgânico, ou alguma combinação dos anteriores ⁽³⁰⁹⁾.

A influência da dieta no desenvolvimento dentário foi pouco valorizada na época da descoberta da vitamina D. Desde 1918 em diante, May Mellanby, esposa de Edward Mellanby, realizou um número impressionante de estudos experimentais de âmbito dietético usando ratos, coelhos e cães e foi a primeira investigadora a apresentar dados e opiniões críticas sobre o papel da $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ na mineralização dentária ⁽³¹⁰⁾*cit in.*⁽³⁰²⁾. *Lady* Mellanby concluiu que dietas deficientes em gorduras contendo vitamina D causavam um esmalte gravemente hipoplásico e defeitos na dentina, incluindo uma dentina pouco calcificada e interglobular. A autora reconheceu ainda a influência “calcificante” da $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ e a sua necessidade para o “uso ótimo” de cálcio ou fosfato inorgânico na mineralização dentária com uma associação particularmente forte entre a vitamina D, o cálcio e a qualidade do esmalte dentário. Notavelmente, essas constatações precederam a compreensão de que a vitamina D aumentava a eficiência da absorção de cálcio e fosfato inorgânico no intestino e interagia com a PTH para controlar a homeostasia dos iões minerais ⁽³⁰²⁾.

As percepções de May Mellanby parecem prescientes à luz de trabalhos experimentais no âmbito dietético realizados posteriormente. Harrand e Hartles alteraram a razão cálcio/fosfato inorgânico na presença e ausência de $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$, observando que os dentes eram mais sensíveis do que o osso à privação de cálcio, provavelmente um resultado consequente de mudanças não reconhecidas na atividade da PTH ⁽³¹¹⁾*cit in.*⁽³⁰²⁾.

Foram realizados numerosos estudos experimentais subsequentes de raquitismo nutricional que identificaram a formação perturbada da estrutura do esmalte, a dentina hipomineralizada e as relações minerais alteradas nos tecidos dentários. Estudos experimentais realizados por Berdal e os seus colaboradores demonstraram que ratos com deficiência de vitamina D apresentavam um órgão de esmalte e odontoblastos dismórficos, com defeitos na secreção e na mineralização da matriz de esmalte e de dentina ^(312,313).

2.2 Células e tecidos dentários e alveolares

2.2.1 Desenvolvimento inicial do dente

O desenvolvimento do dente pode ser dividido em três fases que se sobrepõem: iniciação, morfogénese e histogénese. Durante a iniciação, os lugares dos futuros dentes são

estabelecidos com o aparecimento dos gérmenes dentários ao longo de uma invaginação do epitélio oral designada por lâmina dentária. Durante a morfogénese, a forma do dente é determinada por uma combinação de proliferação celular e de movimento celular. Durante a histogénese, a diferenciação (que se inicia durante a morfogénese) ocorre para dar origem aos tecidos dentários mineralizados e não mineralizados. O desenvolvimento do dente é caracterizado por interações complexas entre o epitélio oral e os tecidos mesenquimais ⁽³¹⁴⁾.

A formação da coroa dentária é frequentemente discutida em função de vários estágios que são definidos por mudanças progressivas na sua morfologia. Estes estágios incluem a fase da lâmina dentária, fase de botão, fase de capuz, fase de campânula e, posteriormente, o desenvolvimento radicular ⁽³⁰³⁾ (Figura 6).

No primeiro sinal da formação dentária, uma faixa espessa de células epiteliais, a lâmina dentária, forma-se nos futuros locais das arcadas dentárias maxilar e mandibular. O desenvolvimento subsequente da lâmina dentária caracteriza-se por um aumento no seu comprimento, embora não se saiba se este processo seja resultado de invaginação ativa da lâmina ou proliferação sobre o mesênquima. Esta lâmina surge como uma faixa de tecido em forma de arco, em que na sua parte mais profunda desenvolve-se uma série de proeminências (gérmenes dentários). Cada proeminência epitelial é completamente circundada por uma condensação mesenquimal ⁽³¹⁴⁾.

No estágio de botão, as células epiteliais invaginam no ectomesênquima subjacente e são circundadas por condensações de células ectomesênquimais em proliferação (Figura 6.A). Esta condensação epitelial simples, esférica ou ovoide é pouco morfodiferenciada e histodiferenciada ⁽³⁰²⁾.

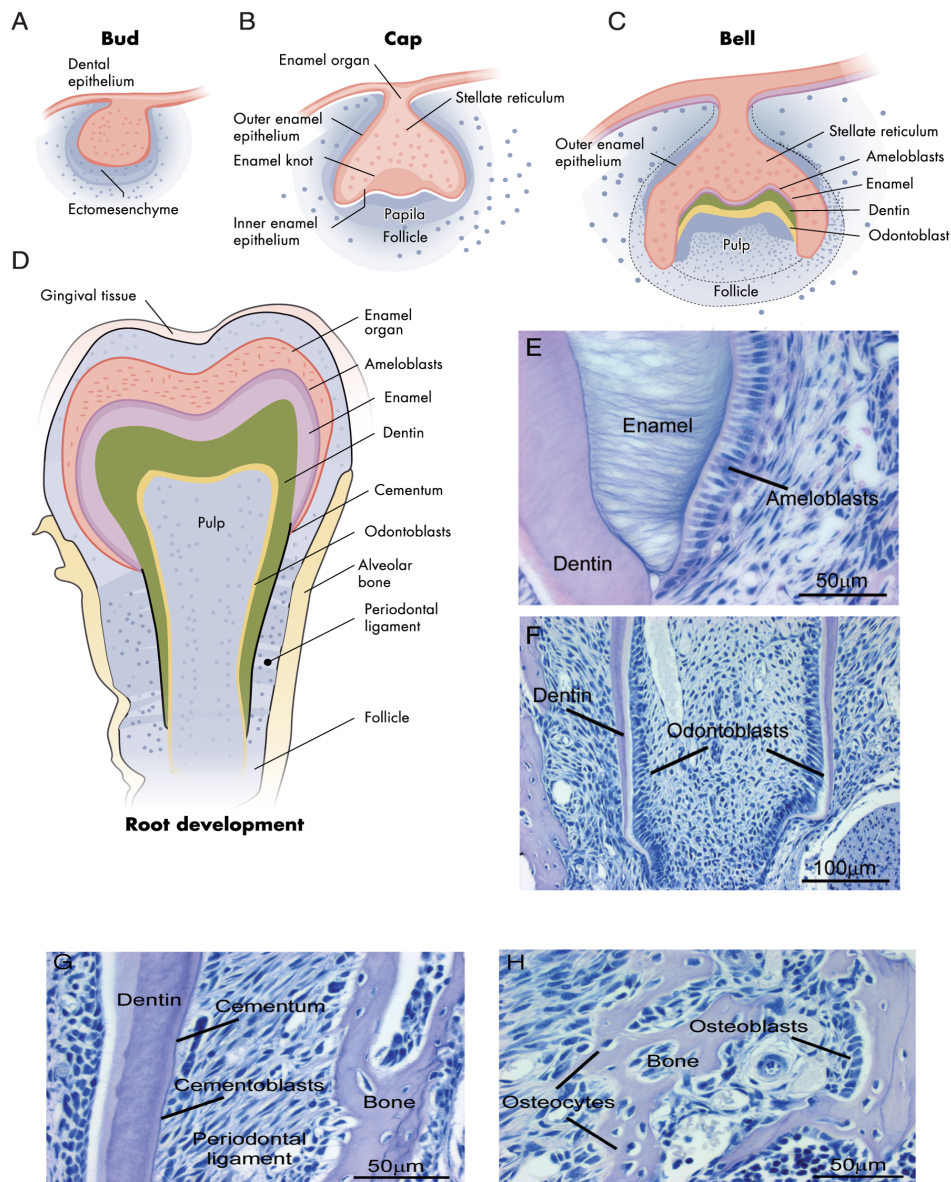


Figura 6. Estágios do desenvolvimento dentário, células e tecidos do complexo dentoalveolar. O desenvolvimento do dente surge das interações entre o epitélio dentário e o ectomesênquima derivado de células da crista neural. Na figura são apresentados os quatro estágios primários da odontogénese usando um molar de camundongo como modelo. (A) No estágio de botão, as condensações de células epiteliais invaginam no ectomesênquima subjacente e ficam rodeadas por condensações de células ectomesênquimais em proliferação. (B) No estágio de capuz, o botão epitelial aumenta para uma superfície semelhante a um capuz convexo e as células epiteliais diferenciam-se em camadas celulares distintas para originarem o órgão do esmalte, incluindo o epitélio interno e externo do esmalte ao redor do retículo estrelado e o nó do esmalte, um centro de sinalização. O capuz epitelial segrega o ectomesênquima na papila dentária (futuro complexo dentinário-pulpar) e no folículo dentário (futuro complexo periodontal). (C) No estágio de campânula, a forma tridimensional da coroa torna-se aparente e a diferenciação terminal de ameloblastos e odontoblastos é alcançada, preparando o estágio para a secreção de esmalte e dentina e continuação do desenvolvimento do dente até a formação da raiz. (D) Após a formação da coroa, a raiz do dente alonga-se e o periodonto desenvolve-se e organiza-se, incluindo o cimento, o ligamento periodontal e o osso alveolar. Os dentes e tecidos de suporte são o “lar” de quatro tecidos mineralizados exclusivos, destacados nas figuras E–H. (E) O esmalte (apresentado no estágio secretor, ainda com a matriz extracelular do esmalte não mineralizada)

é o produto das células ameloblásticas do órgão epitelial do esmalte. (F) A dentina que forma a maior parte da coroa e da raiz do dente é produzida por odontoblastos. (G) O cimento da raiz do dente é produzido por cementoblastos e alberga o ligamento periodontal na superfície da raiz dentária. (H) O osso alveolar circundante é sintetizado por osteoblastos, abriga os osteócitos e suporta e anexa o dente ao osso maxilar. As imagens histológicas são do primeiro molar de camundongo corado com hematoxilina e eosina (H&E) 14 dias pós-natal, onde a morfologia da coroa está madura e o alongamento da raiz e a erupção do dente estão em curso (Adaptado de ⁽³⁰³⁾ (Anexo 1) – *Copyright Endocrine Society*, reproduzido com permissão).

No estágio seguinte, de capuz, o botão epitelial aumenta por divisão celular assimétrica nos bordos para assumir uma forma convexa como a de um capuz (Figura 6.B). Durante este estágio, o órgão de esmalte é gerado à medida que as células epiteliais se diferenciam em várias camadas celulares distintas, incluindo o epitélio do esmalte interno e externo, em torno do retículo estrelado. As células do epitélio externo do órgão de esmalte permanecem cúbicas, enquanto que as do epitélio interno tornam-se mais colunares ⁽³¹⁴⁾. Um centro de sinalização dentro do órgão de esmalte, o nó primário do esmalte, direciona a proliferação celular nas células circundantes. O ectomesênquima subjacente torna-se segregado pelo capuz, com a papila dentária confinada dentro do capuz e o folículo dentário (futuro periodonto, bem como células foliculares pericoronais em dentes não erupcionados) em torno do capuz ⁽³⁰²⁾.

No estágio de campânula precoce, o órgão de esmalte apresenta quatro camadas distintas: o epitélio externo, o retículo estrelado, o estrato intermédio e o epitélio interno. O epitélio externo parece estar envolvido na manutenção da forma do órgão de esmalte e na troca de substâncias entre o mesmo e o ambiente; o retículo estrelado alberga uma função protetora, relacionada com a proteção dos tecidos dentários subjacentes contra perturbações físicas e a manutenção da forma do dente; o estrato intermédio está relacionado com a síntese de proteínas, com o transporte de materiais para e das células formadoras do esmalte no epitélio interno (os ameloblastos) e/ou com as concentrações dos materiais. Durante este estágio, defeitos de reabsorção óssea que são restritos ao espaço de desenvolvimento dos gérmes dentários estão associados com um padrão aumentado de pregueamento do epitélio interno do órgão do esmalte, levando a mudanças na forma dentária. Consequentemente, a restrição espacial e forças mecânicas em modificação que podem ocorrer podem ser um cofator na morfogénese dentária. É durante a fase de campânula que a lâmina dentária rompe e o órgão do esmalte perde a

conexão com o epitélio oral. Ao mesmo tempo, a lâmina dentária entre gérmes também degenera. Os remanescentes da lâmina dentária podem permanecer na mucosa adulta como aglomerados de células em repouso (pérolas epiteliais de Serres) que podem conter queratina e podem estar envolvidos na etiologia de quistos. Os nós secundários de esmalte influenciam o número e a forma das futuras cúspides da coroa dentária, desempenhando um papel importante na determinação do tipo de dente: incisivo, canino, pré-molar ou molar. A forma tridimensional da coroa do dente adquire a sua estrutura e é preenchida por células secretoras altamente especializadas: ameloblastos que formam o esmalte e odontoblastos que formam a dentina ⁽³⁰²⁾ (Figura 6.C).

O estágio de campânula tardio (estágio aposicional) está associado com a formação dos tecidos dentários, conduzindo ao desenvolvimento da raiz do dente, as matrizes de esmalte e dentina são elaboradas e amadurecidas para se prepararem para a erupção da coroa dentária na cavidade oral ⁽³⁰²⁾ (Figura 6.D).

2.2.2 Amelogénese

Os ameloblastos altamente colunares são derivados do epitélio interno do esmalte e sintetizam o esmalte, um tecido epitelial mineralizado único que é o tecido mais duro do corpo humano ^(315,316) (Figura 6.E). À medida que os ameloblastos se diferenciam, organizam-se e polarizam-se na fase pré-secretora, seguindo-se para a fase secretora, onde é sintetizada uma matriz orgânica de esmalte parcialmente mineralizada. Um conjunto de proteínas semi-específicas de ameloblastos, incluindo amelogenina (AMELX), ameloblastina (AMBN) e enamelin (ENAM), regula os aspetos da amelogénese, incluindo guiar a deposição de cristais de hidroxiapatite para formar hastes longas e finas de esmalte. A enamelinase ou metaloproteinase-20 da matriz (MMP20) pode quebrar AMELX, AMBN e ENAM e é expressa por ameloblastos na fase de secreção tardia e maturação precoce ⁽³¹⁷⁾.

Na fase de maturação, a matriz extracelular do esmalte orgânico é ainda degradada pela secreção de outra protease, a calicreína-4 ⁽³¹⁷⁾. A remoção de proteínas e água da matriz extracelular da matriz do esmalte permite o espessamento das hastes do esmalte pela adição de hidroxiapatite mineral até o esmalte atingir um teor mineral de 95% no seu conteúdo (principalmente hidroxiapatite, com quantidades menores de fluorapatite). As

mutações de perda de função herdadas nestes genes críticos de regulação causam defeitos de esmalte que se enquadram no âmbito do diagnóstico de amelogenese imperfeita. A amelogenese imperfeita pode ainda ser classificada como hipoplásica (camada fina de esmalte), hipocalcificada (defeito nos cristais de hidroxiapatite) ou hipomaturada (matriz orgânica do esmalte insuficientemente removida) ^(318,319). Após o estágio de amadurecimento, o órgão de esmalte fica reduzido e, em última instância, é perdido quando o dente erupciona na cavidade oral ⁽³⁰³⁾.

2.2.3 Dentinogénese

A maior parte da coroa e da raiz dentária é constituída por dentina que é secretada por odontoblastos derivados da papila dentária ectomesênquimal ^(320,321) (Figura 6.F). A diferenciação de odontoblastos é marcada pelo alongamento, polarização e organização das células. A matriz orgânica inicial da dentina é secretada como pré-dentina não mineralizada, onde a mineralização desta matriz extracelular à dentina propriamente dita ocorre como uma segunda etapa discreta. Este processo é análogo às duas etapas da ossificação intra-membranosa, onde os osteoblastos produzem primeiro o osteóide não mineralizado, que é subsequentemente mineralizado pela deposição de hidroxiapatite. A camada superficial mais externa da dentina é a dentina do manto, enquanto a maioria da dentina, mais próxima do espaço da polpa, é denominada de dentina circumpulpar ⁽³²⁰⁾.

À medida que a formação de dentina circumpulpar acontece, os odontoblastos migram para a porção mais interna e deixam um processo de odontoblasto alongado dentro de um túbulo dentinário. A dentina envolve a câmara pulpar, um tecido mole, vascularizado e inervado que abriga uma população heterogénea de tipos celulares. A mineralização da dentina do manto depende das vesículas da matriz ^(322,323), pequenas vesículas de membrana que também participam na mineralização óssea e cartilaginosa ^(324,325). Após a rutura das vesículas da matriz, os focos de mineralização nucleados dentro das vesículas crescem e fundem-se numa frente unitária de mineralização. Acredita-se que o controlo da mineralização da dentina circumpulpar depende maioritariamente das proteínas da matriz extracelular. A pequena família de glicoproteínas ligadas em N (SIBLING) desempenha um papel na direção da mineralização da dentina, bem como, do osso e do cimento ⁽³²⁶⁾.

A família SIBLING representa um grupo relacionado de proteínas da matriz extracelular multifuncionais e não colagénicas associadas a tecidos mineralizados. Na dentina, as proteínas SIBLING envolvidas no processo de mineralização incluem a sialoproteína dentinária (DSP) e a fosfoproteína dentinária (DPP) ⁽³²⁰⁾. Mutações no gene DSPP, que codifica DSP e DPP, têm sido relacionadas à dentinogénese imperfeita, um defeito hereditário da dentina ^(318,327). A dentinogénese imperfeita apresenta defeitos, incluindo túbulos dentinários desorganizados e padrões de mineralização interrompidos, como a dentina interglobular. O padrão histológico da dentina interglobular resulta da incapacidade dos focos de mineralização para se fundirem adequadamente, deixando regiões da matriz de dentina hipomineralizada. Defeitos da dentina semelhantes à dentinogénese imperfeita podem surgir de condições distintas como osteogénese imperfeita, um distúrbio hereditário causado por mutações em genes codificadores de colagénio ou em genes codificadores de fatores que modificam ou acompanham as proteínas de colagénio ⁽³²⁷⁾.

Na raiz, a dentinogénese ocorre como descrito para a coroa. No entanto, é de assinalar que a diferenciação do odontoblasto é direcionada pela sinalização da bainha radicular epitelial de Hertwing (HERS) ao invés de ameloblastos ⁽³²⁸⁾.

2.2.4 Outros tecidos dentários

O complexo periodontal derivado do ectomesênquima inclui o cimento cobrindo as raízes, o ligamento periodontal não mineralizado e o osso alveolar ao redor da raiz do dente formando o alvéolo ^(328,329). Após induzir a diferenciação dos odontoblastos, a estrutura da HERS é rompida, expondo a superfície da dentina radicular. Células do folículo pericoronário podem então entrar em contacto com a dentina radicular e os cementoblastos diferenciam-se e iniciam a mineralização do cimento ⁽³³⁰⁾.

O cimento acelular cobre a porção cervical da raiz e é crítico para a fixação do dente ao ligamento periodontal através das fibras de Sharpey inseridas e mineralizadas. O cimento celular é um tecido mais denso, semelhante a uma capa que cobre a raiz apical e ajusta a posição do dente uma vez que o esmalte vai sofrendo um desgaste ao longo da vida. O ligamento periodontal vascular e innervado estende-se entre o dente e o osso alveolar adjacente, servindo como um “amortecedor” de impacto e uma fonte de células

progenitoras para a reparação periodontal. O osso alveolar adjacente é uma parte específica do osso maxilar e mandibular que funciona como um suporte estrutural importante para os dentes ⁽³³⁰⁾.

Uma distinção importante entre o dente e o osso é que os tecidos duros dentários não são submetidos à remodelação fisiológica mediada por osteoclastos, que é um processo rotineiro para o esqueleto. A reabsorção osteoclástica dos tecidos dentários é fisiológica apenas quando os dentes decíduos são reabsorvidos para permitir a sua substituição pela dentição permanente. Durante a reabsorção dentária, os osteoclastos (chamados odontoclastos, neste contexto) são direcionados para o cemento da raiz e da dentina (por mecanismos ainda pouco compreendidos) para reabsorver a estrutura da raiz e desconectar a ligação do ligamento periodontal. Quando a estrutura da raiz é removida, o dente decíduo esfolia, criando uma “via de acesso” para a erupção do seu permanente sucessor ⁽³⁰²⁾.

Ao longo da vida, tanto o cemento como a dentina desenvolvem-se por aposição, sem nenhum papel na remodelação odontoclástica. Desse modo, em dentes erupcionados e funcionais, a reabsorção odontoclástica do cemento e da dentina é considerada patológica. Na maioria dos indivíduos uma pequena quantidade de reabsorção de cemento ocorre, provavelmente, ao longo da vida; no entanto, os cementoblastos ou cemento-progenitores existentes têm a capacidade de promover a formação de cemento reparador. A reabsorção radicular mais significativa é resultante de trauma, infecção, rápida movimentação ortodôntica, periodontite grave ou mecanismos idiopáticos, podendo esta condição comprometer a estrutura, a estabilidade e a fixação dos dentes, conduzindo a fraturas e perda prematura dos mesmos ⁽³³¹⁾.

Embora a dentina e o cemento tenham capacidade de reparação e regeneração, o esmalte pode apresentar pequenas alterações na densidade mineral durante a vida, mas não tem capacidade de reparação celular ativa ⁽³³²⁾. Parece existir apenas um potencial para remineralização de lesões incipientes de cárie dentária. Por outro lado, o ligamento periodontal e o osso alveolar adjacentes respondem à carga mecânica e remodelam com base em sinais mecânicos recebidos das forças de oclusão ⁽³³⁰⁾. O osso alveolar tem sido

descrito como o osso do corpo humano com um processo de remodelação mais rápido, possivelmente, devido à frequente estimulação mecânica das forças oclusais ⁽³⁰²⁾.

O conhecimento do cronograma de iniciação, formação, mineralização e erupção dentária é essencial para a compreensão do impacto das alterações nesses processos. Para ilustrar como as perturbações podem afetar de forma diferente dentes decíduos e permanentes, bem como, tipos de dentes específicos, o tempo dos estágios da dentição decídua e permanente é apresentado na Tabela 2. Em humanos, sob condições fisiológicas normais, os dentes decíduos começam a formar-se às quatro semanas de vida intrauterina, mineralizam entre os 3 meses *in utero* e os 10 meses após o nascimento e, normalmente, entram em erupção entre os 6 meses e os 2 anos de idade. Os dentes permanentes começam a formar-se de forma variável no útero e na idade pós-natal, mineralizam nos meses e anos pós-natais e entram em erupção entre os 6 e os 18 anos de idade, dependendo do tipo de dente ⁽³⁰²⁾.

Os distúrbios nas interações epitélio-mesênquimais podem alterar de forma significativa o desenvolvimento dentário. Também a divisão ou fusão de gérmes dentários adjacentes podem ser responsáveis por variações no número e na forma dos dentes. O trauma e as infeções dos dentes predecessores decíduos também têm sido responsabilizados pela malformação de dentes permanentes. Esta situação pode ser reflexo do ambiente da criança antes do nascimento. Outras malformações dentárias podem estar relacionadas a variações no tamanho, na forma, no número ou na estrutura dentária ⁽³⁰²⁾.

Tabela 2. Cronograma de formação, mineralização e erupção da dentição decídua e permanente.

Dentição, Tipo de dente	Início da mineralização da coroa (m <i>in utero</i> /m pós-natal, a pós-natal)	Mineralização completa da coroa (m/a pós-natal)	Raiz completa pós-natal (a, pós-natal)	Emergência na cavidade oral (m/a pós-natal)
DENTIÇÃO DECÍDUA, DENTES SUPERIORES				
Incisivos centrais	3-4 m <i>in utero</i>	1-5 m	1-2 a	7-8 m
Incisivos laterais	4 m	2-5 m	2 a	9 m
Caninos	4-5 m	9 m	3-4 a	18 m
Primeiros molares	3-4 m	6 m	2-3 a	14 m
Segundos molares	3-5 m	10-12 m	3 a	24 m
DENTIÇÃO DECÍDUA, DENTES INFERIORES				
Incisivos centrais	4-5 m <i>in utero</i>	2-5 m	1-2 a	6 m
Incisivos laterais	4-5 m	3-5 m	1-2 a	7 m
Caninos	5 m	9 m	3-4 a	16 m
Primeiros molares	3-4 m	5-6 m	2-3 a	12 m
Segundos molares	3-5 m	10-12 m	3 a	20 m
DENTIÇÃO PERMANENTE, DENTES SUPERIORES				
Incisivos centrais	3-4 m	3-5 a	9-11 a	7-9 a
Incisivos laterais	10-12 m	3-5 a	9-11 a	8-9 a
Caninos	4-5 m	4-7 a	12-14 a	9-11 a
Primeiros pré-molares	1-2 a	5-6 a	12-14 a	9-11 a
Segundos pré-molares	2-3 a	6-7 a	12-14 a	10-12 a
Primeiros molares	Nascimento	2-3 a	9-10 a	7-8 a
Segundos molares	2-3 a	6-8 a	13-15 a	11-13 a
Terceiros molares	7-9 a	12-16 a	18-19 a	17-18 a
DENTIÇÃO PERMANENTE, DENTES INFERIORES				
Incisivos centrais	3-4 m	3-5 a	8-9 a	6-8 a
Incisivos laterais	3-4 m	3-5 a	9-10 a	7-8 a
Caninos	4-5 m	4-7 a	11-14 a	9-11 a
Primeiros pré-molares	1-2 a	5-6 a	12-14 a	10-12 a
Segundos pré-molares	2-3 a	6-7 a	12-14 a	10-12 a
Primeiros molares	Nascimento	2-3 a	9-10 a	7-8 a
Segundos molares	2-3 a	6-7 a	13-15 a	11-13 a
Terceiros molares	8-10 a	12-16 a	18-19 a	17-18 a

a: anos; m: meses; sombreado azul indicação de meses pré-natais, *in utero*. (Adaptado de ⁽³⁰²⁾).

2.3 Metabolismo e mecanismos de ação da vitamina D nas células dentárias

As funções inerentes à 1,25(OH)₂ D no metabolismo mineral residem na estimulação da absorção no intestino do cálcio, fosfato inorgânico e magnésio. A deficiência em

vitamina D contribui para hipocalcemia e hipofosfatemia. A PTH, secretada pela glândula paratireoide, atua como um outro “braço” na regulação hormonal do cálcio e fosfato inorgânico. Uma secreção aumentada de PTH como resultado de uma hipocalcemia atua de modo a repor os níveis séricos de cálcio para valores normais, promovendo um aumento dos níveis de $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ (aumentado a absorção intestinal de cálcio), aumentando a reabsorção renal de cálcio, aumentando o *turnover* ósseo (via sinalização osteoblasto-osteoclasto) para libertar cálcio na corrente sanguínea e reduzindo os níveis séricos de fosfato inorgânico pelo efeito fosfatúrico nos rins. Assim, a hipofosfatemia, devido à deficiência em vitamina D, é exacerbada pelo hiperparatireoidismo secundário (estimulado pela hipocalcemia). As baixas concentrações de cálcio e fosfato inorgânico resultantes impedem uma mineralização adequada da matriz óssea orgânica e, além disso, a perda de sinalização de $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ para células esqueléticas e dentárias (osteoblastos, condrócitos, osteoclastos e células dentárias) desempenha um papel importante nos defeitos resultantes da mineralização destes tecidos ^(302,303).

As células do complexo dentoalveolar respondem à sinalização mediada pela $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$. Os ameloblastos, odontoblastos, osteoblastos e outras células do periodonto em desenvolvimento expressam o VDR e os genes calbindina-D9k e D28k responsivos à $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ ^(333–335). Para além dos efeitos na transcrição, a $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ produz respostas rápidas, não genómicas (ou seja, independentes dos elementos responsivos à vitamina D (VDREs)), ligadas aos fluxos de cálcio e à ativação da sinalização da proteína quinase C ⁽³³⁶⁾.

No desenvolvimento do complexo dento-crânio-facial, os ameloblastos, os odontoblastos, os osteoblastos e os osteoclastos estão também implicados a participar da via não genómica com base na localização e expressão da proteína de ligação a esteroides de resposta rápida associada à membrana para a $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ ⁽³³⁷⁾.

É importante referir que a vitamina D também tem sido reconhecida por regular diretamente a transcrição de um grande e diversificado conjunto de genes-alvo, em que se incluem vários genes-chave relacionados com os ossos e os dentes. Para alguns genes responsivos à $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$, o mecanismo de regulação da transcrição foi demonstrado através dos VDREs reconhecidos, enquanto que para outros genes o mecanismo é menos definido ⁽³³⁸⁾.

A vitamina D regula a expressão de vários fatores de transcrição envolvidos no desenvolvimento dentário, modulando muitos alvos a jusante. O fator de transcrição associado à *runx2* (RUNX2), um regulador precoce da fase de botão da formação dentária, é um “controlador” da diferenciação de osteoblastos e odontoblastos e é regulado pela 1,25(OH)₂D. Existe também evidência de que a vitamina D controla a expressão de MSX e DLX durante a odontogénese. Estes fatores de transcrição são expressos em resposta à interação epitelial-mesenquimal precoce e estão implicados na diferenciação de ameloblastos, odontoblastos e osteoblastos ⁽³³⁹⁾. Além dos genes que respondem à vitamina D, é provável que existam efeitos adicionais da vitamina D, atualmente não identificados, nos fatores que direcionam/regulam diretamente a formação e função dentoalveolar ⁽³⁰³⁾.

A sinalização da vitamina D regula várias proteínas-chave da matriz extracelular que participam na formação dos ossos e dos dentes. A 1,25(OH)₂D modula a proteína óssea gama-carboxiglutamato (BGLAP), gene que codifica a osteocalcina (OCN), através de VDREs identificados em genomas de humanos, ratos e camundongos. A OCN é expressa por osteoblastos, odontoblastos e cementoblastos e tem sido proposta como reguladora da mineralização, além de atuar como uma hormona que une as redes metabólicas de energia óssea. A 1,25(OH)₂D modula a fosfoproteína 1 secretada (SPP1) através de VDREs identificados no genoma do camundongo ⁽³⁴⁰⁾. A SPP1 codifica a osteoprotegerina (OPN), um membro da família SIBLING de proteínas da matriz extracelular associadas à mineralização que é expressa por osteoblastos, odontoblastos e cementoblastos. A OPN é uma proteína multifuncional que regula a mineralização, fornece sinalização celular mediada por integrina e tem sido implicada no recrutamento de osteoclastos para locais de remodelação óssea. A vitamina D também tem sido indicada como reguladora da sialoproteína de ligação à integrina (IBSP) numa linha de camundongos transgênicos ⁽³⁴¹⁾. A IBSP codifica a sialoproteína óssea (BSP), um membro da família SIBLING intimamente relacionado com a OPN e com uma função importante na mineralização do cimento e osso. Existe também evidência *in vitro* de que a vitamina D regula a transcrição da fosfoproteína ácida 1 da matriz de dentina (DMP1), um membro da família SIBLING expresso por osteócitos e odontoblastos que também tem um papel na regulação da expressão do fator de crescimento fibroblástico 23 (FGF23) e do metabolismo mineral

sistémico. Foi inferido que a vitamina D regula um conjunto de genes seletivos do esmalte num modelo animal de roedores, incluindo AMELX, AMBN e ENAM ⁽³⁴²⁾.

A transcrição de marcadores-chave de osteoclastos, as células responsáveis pela reabsorção óssea, é regulada pela vitamina D. A 1,25(OH)₂ D aumenta a expressão do membro 11 da superfamília de ligantes de fatores de necrose tumoral (TNFSF11), o gene que codifica o ativador de recetores do fator nuclear kappa-B ligante (RANKL), uma citocina-chave que promove a maturação e ativação dos osteoclastos. A vitamina D também está implicada na diminuição da expressão do recetor do fator de necrose tumoral da superfamília, membro 11B (TNFRSF11B), codificando a proteína OPG, que suprime a diferenciação dos osteoclastos ⁽³⁴³⁾. Embora a expressão do VDR nos osteoclastos permaneça controversa, esses efeitos para promover a diferenciação e ativação de osteoclastos, bem como, ações diretas sobre osteoclastos e os seus precursores, implicam que a vitamina D seja um importante coordenador da reabsorção óssea ⁽³⁴⁴⁾.

O hiperparatireoidismo secundário ocorre devido à hiperplasia da paratireoide decorrente da perda de regulação negativa pela 1,25(OH)₂ D e por causa do aumento da secreção da PTH devido à hipocalcemia. A PTH envia sinais através do PTH1R, um recetor acoplado à proteína G expresso em células ósseas, bem como, em células dentárias incluindo ameloblastos, odontoblastos, cementoblastos e células foliculares ⁽³⁴⁵⁾.

2.4 Níveis de vitamina D e as doenças do complexo dentoalveolar

Os mecanismos pelos quais a vitamina D afeta a saúde oral não se baseiam apenas no metabolismo ósseo. As doenças orais parecem estar associadas aos níveis mais baixos de vitamina D e aos seus processos fisiopatológicos ^(8,346,347).

2.4.1 Mineralização e cárie dentária

Atualmente, as investigações reportam que os níveis de deficiência de vitamina D comprometem a odontogénese, resultando possivelmente em dentes hipomineralizados, mais suscetíveis a fraturas e lesões de cárie dentária. As baixas concentrações de vitamina D foram também associadas a uma pior saúde periodontal, podendo estar envolvidas no mecanismo imunológico em relação à infeção periodontal. Além disso, concentrações baixas de vitamina D em associação com a periodontite foram

recentemente relacionadas a potenciais repercussões sistémicas durante a gravidez, em mulheres pós-menopáusicas ou em algumas patologias orais ^(242,348,349).

A vitamina D desempenha um papel fundamental na mineralização óssea e dentária e, quando os níveis são desregulados pode levar à ocorrência de um “dente raquítico”, que consiste num órgão defeituoso e hipomineralizado altamente suscetível a fraturas e cárie dentária ^(303,350).

Os mecanismos pelos quais a deficiência de vitamina D afeta a mineralização do dente tem sido um assunto amplamente debatido ^(302,303,350). A principal base biológica reside no facto de que a deficiência de vitamina D grave (<10 ng/ml, 25 nmol/L) pode causar hipocalcemia e hipofosfatemia, com subsequente hiperparatireoidismo secundário. Este hiperparatireoidismo promove a absorção intestinal de cálcio e a produção renal de 1,25(OH)₂ D, aumentando a remodelação óssea e conduzindo a níveis séricos elevados de cálcio e níveis séricos baixos de fosfato inorgânico ⁽³⁵¹⁾. A hipofosfatemia inicial é então severamente agravada. Decorrente desta situação, em última instância, a perda das vias de sinalização da vitamina D nas células dentárias com baixas concentrações de cálcio e iões fosfato inibem a mineralização adequada dos dentes e ocorrem defeitos de mineralização ^(302,303).

Além do seu papel na homeostase da mineralização, a vitamina D circulante pode iniciar uma via de sinalização através dos VDR. O VDR é um fator de transcrição ativado por ligante que controla a expressão génica através dos VDREs. Por exemplo, alguns desses genes responsivos afetam o osso, o metabolismo mineral, a resposta imune, o ciclo de vida celular e a migração, o músculo esquelético e o metabolismo energético ^(250,352). A vitamina D regula o VDR que, por sua vez, pode induzir produtos de genes estruturais, incluindo proteínas de ligação ao cálcio e várias proteínas da matriz extracelular (por exemplo, ENAM, AMELX, sialoglicoproteínas e fosfoproteínas de dentina), resultando numa informação importante na formação de dentina e esmalte ^(302,303).

Além da deficiência nutricional e/ou da falta de exposição à luz solar como causas de níveis de deficiência e insuficiência de vitamina D, existem deficiências hereditárias causadas por mutações em genes que codificam elementos do mecanismo metabólico da vitamina D ⁽³⁰²⁾. As principais causas de deficiência de vitamina D, secundárias às

mutações genéticas, são a secreção alterada de enzimas (ou seja, raquitismo dependente de vitamina D tipo 1, VDDR-I) e a função ou sinalização VDR anómala (raquitismo dependente de vitamina D tipo 2, VDDR-II). As condições genéticas mencionadas originarão tecidos mineralizados com defeitos, apesar da ingestão normal de vitamina D ou da normal exposição à luz solar. Tais características estruturais irão potenciar o risco de hipoplasia dentária e/ou o maior risco de cárie dentária ^(302,303).

A dentição decídua pode ser influenciada pelos níveis maternos de 25(OH) D ^(346,353,354). Os níveis de vitamina D circulantes no soro fetal seguem a concentração materna e podem ser usados como um marcador-padrão “substituto” para o feto. Assim, se for verificado um desequilíbrio nos níveis maternos de 25(OH) D, tal condição pode ter repercussões diretas na saúde do bebé ⁽³⁵⁵⁾ e, em particular, no seu desenvolvimento dentário ^(346,353,354,356,357). O padrão de defeito na mineralização depende da semana de gestação específica em que ocorreu a deficiência de vitamina D materna. Por exemplo, aproximadamente na 13ª semana após a concepção, o incisivo central superior decíduo humano inicia a sua calcificação e, se nesse período existir um estado de deficiência de vitamina D materna, pode ocorrer uma hipoplasia/defeito na mineralização no terço incisal da coroa dentária. Atualmente, sabe-se que os níveis de deficiência de vitamina D maternos entre as 12 e as 16 semanas, entre as 20 e as 32 semanas e as 36 e as 40 semanas podem resultar em defeitos de desenvolvimento, neste dente, localizados no terço incisal, terço médio e terço cervical, respetivamente ⁽³⁵⁷⁾. Num ensaio clínico randomizado sobre a suplementação de vitamina D durante a gravidez foi verificado que as grávidas com uma concentração sérica de 25(OH) D <15 ng/ml (37,5 nmol/L) apresentavam um risco 14% superior dos seus filhos apresentarem hipoplasias de esmalte na dentição decídua ⁽³⁵⁷⁾. Mais recentemente, um ensaio clínico randomizado realizado em 2019 demonstrou que a suplementação de vitamina D em altas doses durante a gravidez foi associada a uma redução de aproximadamente 50% da probabilidade da ocorrência de defeitos de esmalte na dentição decídua e permanente ⁽³⁵⁶⁾.

Relativamente à cárie dentária, devido ao seu carácter etiológico complexo e multifatorial, envolvendo muitos fatores relacionados com os comportamentos, torna-se mais difícil a análise da sua relação com os níveis de vitamina D. Contudo, quando expostos aos mesmos níveis de fatores comportamentais, alguns indivíduos podem ser mais suscetíveis

ou resistentes à cárie dentária do que outros, de modo que os fatores comportamentais, por si só, são insuficientes para explicar a prevalência e a incidência desta doença ^(358,359). Atualmente, a evidência destaca a associação entre os baixos níveis de vitamina D e a elevada prevalência de cárie dentária em crianças e adultos, embora o mecanismo etiológico subjacente a esta associação não esteja totalmente clarificado ^(12,13,360).

Adicionalmente, a vitamina D exerce várias funções no controlo do sistema imunológico humano e uma concentração ótima de vitamina D (30 ng/ml, 75 nmol/L) parece estar associada a uma menor probabilidade de cárie dentária em crianças. No entanto, os resultados dos estudos são contraditórios ^(12,13,361).

Sob a perspetiva da regulação imunológica, aparentemente, a vitamina D previne lesões de cárie dentária promovendo a “erradicação” microbiana pela atividade peptídica ⁽²⁴²⁾. A produção de vitamina D promove a indução de peptídeos antimicrobianos que são moléculas específicas de defesa do hospedeiro, principalmente moléculas catiónicas e anfipáticas que correspondem a elementos essenciais da imunidade inata contra várias bactérias, fungos e vírus ^(362,363). As investigações parecem apontar para uma combinação de peptídeos, ao invés de um papel isolado de um único peptídeo antimicrobiano, os quais foram propostos com uma potencial aplicação na abordagem da cárie dentária. De salientar, contudo, que o *Streptococcus mutans*, um agente etiológico primário da cárie, pode resistir a peptídeos antimicrobianos salivares do hospedeiro explicando a sua virulência na fisiopatologia da cárie dentária ⁽³⁶⁴⁾.

Em suma, verifica-se que os níveis de suficiência de vitamina D devem ser alcançados antes da conceção, assim como, devem ser alvo de atenção durante a gravidez e após o parto para a otimização da saúde oral das crianças ⁽²⁴²⁾.

2.4.2 Doença periodontal

O impacto da nutrição na saúde periodontal e, em particular, os níveis de deficiência de vitamina D, têm vindo a ser alvo de investigação e, em 2017, um consenso europeu apontou que concentrações inadequadas de vitamina D afetavam a saúde periodontal e as funções orais inerentes ⁽³⁶⁵⁾.

A associação entre os níveis séricos de vitamina D e a afetação periodontal permanece na literatura como um tema controverso. Enquanto a maioria dos estudos mostra que a periodontite foi associada a níveis mais baixos de vitamina D em comparação com indivíduos periodontalmente saudáveis, outros estudos não reportam diferenças. Todavia, as concentrações de vitamina D foram associadas a uma maior destruição periodontal, a estágios de periodontite severa e a maior perda dentária ^(347,366).

De forma abrangente, as ações inflamatórias e imunológicas contra patógenos periodontais são desencadeadas pelo sistema imunológico do hospedeiro. Baixos níveis salivares de vitamina D foram associados a níveis mais elevados de biomarcadores de inflamação em indivíduos com periodontite, apoiando a presença de um microambiente inflamatório ⁽³⁶⁷⁾.

Embora o mecanismo subjacente não seja totalmente compreendido, a vitamina D apresenta efeitos anti-inflamatórios e de mineralização sobre o periodonto. Um estudo mostrou que a vitamina D pode diminuir o número de *Porphyromonas gingivalis* ⁽³⁶⁸⁾ e pode reduzir a carga inflamatória da periodontite em modelos animais de roedores: diminuindo os níveis inflamatórios, inibindo a expressão aumentada de interleucina-6 e suprimindo o dano alveolar por meio da inibição da perda óssea (aparentemente por meio de células T auxiliares) ⁽³⁶⁹⁾ (Figura 7).

Tanto os estudos pré-clínicos quanto os clínicos apoiam o fundamento de que a vitamina D, por meio da sua via metabólica, pode estar envolvida na patogénese da periodontite por ter um impacto considerável na densidade mineral do dente e ser inversamente correlacionada com a gravidade da periodontite ⁽³⁷⁰⁾.

Do ponto de vista genético, o papel das variantes do VDR na periodontite tem sido objeto de grande consideração. Uma série de polimorfismos do VDR foram correlacionados com o maior risco de desenvolver periodontite ⁽³⁷¹⁾. Não obstante, o impacto das variantes do VDR na periodontite ainda necessita de ser consolidado ⁽²⁴²⁾.

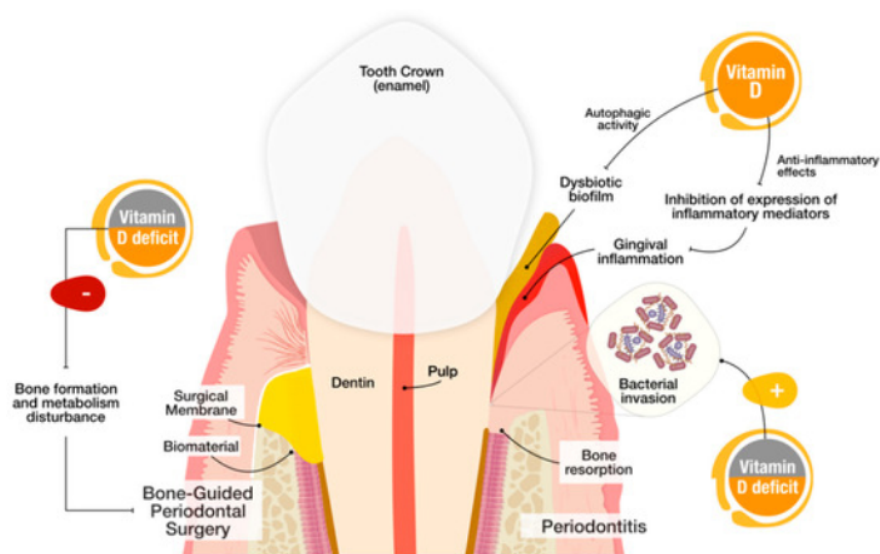


Figura 7. Mecanismos sugeridos do impacto da vitamina D e da deficiência de vitamina D na periodontite e na cirurgia periodontal regenerativa. Esquerda: Indivíduos com níveis basais de deficiência de vitamina D que se submetem a cirurgias periodontais podem estar mais predispostos a fracassos no tratamento devido a distúrbios na formação e no metabolismo ósseo. Direita: Na periodontite, a vitamina D pode promover a autofagia da *Porphyromonas gingivalis* e efeitos anti-inflamatórios por meio da inibição da expressão de mediadores inflamatórios, diminuindo a inflamação gengival. (Adaptado de ⁽²⁴²⁾ (Anexo 1)).

Por outro lado, a influência da suplementação de vitamina D foi estudada em tratamentos periodontais cirúrgicos e não cirúrgicos (Figura 7). Após o tratamento periodontal não cirúrgico, a suplementação de vitamina D e cálcio mostrou efeitos positivos moderados na saúde periodontal. Além disso, níveis basais de insuficiência de vitamina D influenciaram negativamente os resultados da cirurgia periodontal mesmo quando a suplementação foi usada para compensar os níveis iniciais ⁽³⁷²⁾. Apesar do hipotético sucesso do tratamento periodontal associado à suplementação de vitamina D, mais estudos são necessários para inferir resultados cientificamente mais robustos ⁽²⁴²⁾.

Também na grávida parece existir uma associação entre a doença periodontal e os níveis maternos de deficiência de vitamina D. Em alguns estudos, a periodontite moderada a grave em grávidas estava associada a níveis séricos mais baixos de vitamina D ⁽³⁷³⁾.

2.4.3 Tratamento ortodôntico

A movimentação dentária depende da aplicação de forças pré-determinadas que provocam estímulos mecânicos com dois processos simultâneos: reabsorção óssea no

local de pressão (por meio da atividade osteoclástica) e formação óssea no local de tensão (por ação osteoblástica). Estes dois processos, em combinação com estímulos mecânicos, químicos ou elétricos, podem resultar em movimentos dentários mais rápidos. Em relação aos fatores químicos, a vitamina D pode desempenhar um papel fundamental na movimentação dentária durante o tratamento ortodôntico e tem mostrado resultados promissores ⁽³⁷⁴⁾.

Sobre esta possível associação os estudos têm sido realizados em modelos animais. Todavia, parece existir uma relação entre a aplicação local de vitamina D e um movimento dentário mais rápido. Não obstante, a deficiência de vitamina D, em modelos animais, ocasiona uma taxa mais lenta de movimentação dentária e um consequente atraso no tratamento ortodôntico ou complicações ⁽³⁷⁵⁾.

Sobre esta temática são necessários estudos futuros em humanos para determinar se os níveis de deficiência de vitamina D apresentam um efeito clinicamente significativo na movimentação dentária e se a suplementação de vitamina D, durante o tratamento ortodôntico, melhora os parâmetros associados à movimentação dentária ortodôntica ⁽²⁴²⁾.

2.4.4 Patologia oral

A vitamina D pode desempenhar uma função importante no início e na progressão de determinados cancros orais. É de realçar que os níveis de deficiência de vitamina D são mais comuns em indivíduos com lesões neoplásicas orais ⁽³⁴⁹⁾. É, também, colocada a hipótese de que a suplementação de vitamina D diminuiu significativamente a toxicidade relacionada à terapia oncológica oral em estágio avançado, com menor morbilidade e melhor qualidade de vida para os doentes ⁽³⁷⁶⁾. Contudo, neste contexto específico da patologia oral, ainda são muito escassas as evidências e, por esse motivo, são necessárias investigações que proporcionem resultados mais sólidos ⁽²⁴²⁾.

Embora a deficiência de vitamina D seja bem conhecida por afetar negativamente o desenvolvimento dentário, a hipervitaminose D também pode perturbar profundamente a mineralização dentária ^(302,303). Relatos de casos de hipervitaminose D em humanos e estudos experimentais em animais relacionam os níveis tóxicos de vitamina D a distúrbios dentoalveolares, tais como, hipoplasia e hipomineralização do esmalte, calcificação da

polpa dentária, formação de raízes deformadas, alterações periodontais e reabsorções dentárias ⁽³⁷⁷⁾.

O hiperparatireoidismo primário e a hipercalcemia resultantes de níveis muito elevados de vitamina D estão associados a alterações orais e dentárias como o desenvolvimento de protuberâncias óssea (toros) e alterações nos parâmetros periodontais, nomeadamente, no espessamento do ligamento periodontal e na densidade do osso alveolar ⁽³⁷⁸⁾.

2.5 Raquitismo nutricional e doenças hereditárias relacionadas à vitamina D na saúde oral

O raquitismo nutricional causado pela deficiência de vitamina D persiste mundialmente na era moderna. As estratégias de saúde pública para a prevenção do raquitismo concentram-se em fortificar e suplementar dietas e no reconhecimento precoce da insuficiência e deficiência de vitamina D, especialmente, nos indivíduos de maior risco ⁽²⁶³⁾.

A deficiência de vitamina D durante a gravidez está associada com a osteomalacia na mãe e raquitismo congénito na criança, repercutindo-se também no desenvolvimento e na mineralização da dentição decídua. Durante a primeira infância, os níveis de deficiência de vitamina D afetam a dentição permanente da criança e o tempo e a gravidade da deficiência nutricional podem afetar de forma diferente os dois tipos de dentição, bem como, o grupo específico de dentes ⁽³⁰²⁾ (Tabela 2).

Dada a multiplicidade de vias pelas quais a vitamina D influencia as células dos tecidos mineralizados e o próprio metabolismo mineral, não é de surpreender a panóplia dos seus efeitos dentoalveolares subsequentes. Entre estes incluem-se a hipoplasia de esmalte, a maior incidência de cárie dentária, uma dentina estruturalmente mais fina, câmaras pulpares amplas, lâmina dura indistinta, atraso na formação e/ou erupção dos dentes e má oclusão ^(302,303).

Além da deficiência nutricional e/ou falta de exposição à luz solar como causas de insuficiência de vitamina D, existem deficiências hereditárias causadas por mutações em genes que codificam elementos do metabolismo da vitamina D. O reconhecimento inicial do raquitismo hereditário, por deficiência de pseudovitamina D, revelou que uma ingestão muito elevada de vitamina D era necessária para manter a saúde óssea e esquelética. Esta

condição foi classificada como raquitismo dependente da vitamina D (VDDR) e análises genéticas posteriores de VDDR identificaram mutações de perda de função nos genes CYP27B1 ou CYP2R1. As mutações no CYP27B1 causam VDDR tipo 1A (VDDR1A) devido à perda da atividade da enzima 1α -hidroxilase e as mutações no CYP2R1 causam VDDR tipo 1B (VDDR1B) devido à perda de atividade no membro 1 da subfamília R da família 2 do citocromo P450, uma hidroxilase da 25(OH) D que funciona no fígado. Ambos os tipos de VDDR apresentam sinais clássicos de raquitismo por deficiência de vitamina D, incluindo baixa estatura, pernas arqueadas e alargamento dos pulsos. A VDDR1A é a forma mais comumente reportada de VDDR, caracterizada clinicamente por um esmalte hipoplásico, defeitos de mineralização da dentina, grandes câmaras pulpares, raízes curtas, má oclusão e doença periodontal persistente ⁽³⁷⁹⁾.

Ao contrário do VDDR, algumas formas de deficiência hereditária de pseudovitamina D foram consideradas refratárias até mesmo na presença de elevadas doses de vitamina D, daí, o termo raquitismo resistente à vitamina D (VDRR). A perda da função do VDR ou sinalização de mutações no gene VDR causa uma entidade de doença distinta, VDDR tipo 2, caracterizada pelos seguintes sinais clínicos: oligodontia, erupção dentária atrasada, esmalte hipoplásico, elevada incidência de cárie dentária, câmaras pulpares amplas, cálculos pulpares, raízes curtas ou deformadas, abscessos dentários espontâneos e perda dentária. Além dos genes associados com VDDR e VDRR é provável que outros fatores envolvidos no metabolismo da vitamina D contribuam para a formação e mineralização dentária ^(302,303).

Torna-se evidente que a deficiência de vitamina D e o subproduto associado do metabolismo mineral disfuncional afeta as estruturas dentoalveolares num espectro amplo, interferindo na formação do esmalte, dentina, periodonto e no processo de erupção dentária ⁽³⁰²⁾.

Os defeitos dentários apresentados no raquitismo nutricional, VDDR e VDRR podem às vezes ser confundidos com outros tipos de defeitos de desenvolvimento sindrômicos e isolados. Indivíduos que apresentam manifestações dentárias consistentes com qualquer uma dessas doenças justificam o encaminhamento para especialistas no tratamento de indivíduos com condições orais e faciais raras. O raquitismo nutricional pode ser diferenciado do raquitismo por causas genéticas pela observação do padrão de dentes

decíduos e permanentes afetados, assim é esperado que no raquitismo de causas genéticas como no VDDR e no VDRR, em ambas as dentições, todos os grupos dentários estejam afetados ⁽³⁸⁰⁾.

CAPÍTULO III

– Estudo longitudinal de cárie dentária em crianças dos 4 aos 7 anos de idade

III – Estudo longitudinal de cárie dentária em crianças dos 4 aos 7 anos de idade

Padrões alimentares e comportamentos em saúde oral associados com o desenvolvimento de cárie dentária em crianças num período de 3 anos

1. Introdução e objetivos

Tal como evidenciado no capítulo da contextualização teórica (secção I), a cárie dentária é uma doença determinada por vários fatores de risco, tanto de natureza modificável, como os fatores dietéticos, a exposição aos fluoretos e a frequência da escovagem dentária, como de natureza não modificável, como o nível socioeconómico e a experiência prévia de cárie dentária ⁽⁵⁾.

Os comportamentos relacionados com a dieta e a saúde oral têm sido comumente reportados como fatores de risco de elevada relevância para o desenvolvimento de cárie dentária em crianças ⁽³⁸¹⁾. Contudo, é difícil determinar o valor ponderal destes comportamentos na etiologia da doença. Esta questão necessita de estar assente numa premissa quantificável que permita estabelecer estratégias preventivas ajustadas e direcionadas às características de cada população ⁽¹⁰¹⁾.

Especificamente, no que concerne ao consumo de açúcar existe uma ampla evidência de que o seu consumo por crianças influencia negativamente a prevalência de cárie dentária ⁽⁸⁵⁾. Em março de 2015, a OMS publicou uma nova diretriz sobre a ingestão de açúcares para adultos e crianças, a qual recomenda que a ingestão de açúcares livres deve ser reduzida para $\leq 10\%$ da ingestão total de energia. Apesar da proteção da saúde oral, uma recomendação condicional foi proposta pela OMS que veiculou uma redução adicional da ingestão destes açúcares para menos de 5% da ingestão energética total ^(85,86,89,382).

Todavia, as crianças não ingerem apenas nutrientes ou alimentos isoladamente, e daí, a investigação de padrões alimentares apresentar a vantagem de avaliar a dieta na sua

dimensão global, incluindo os alimentos, o grupo alimentar e os nutrientes, a sua combinação e variedade ⁽³⁸³⁾. Através da avaliação de apenas um único grupo de alimentos ou nutrientes existe a probabilidade da perda dos seus efeitos e da sua interação com outros grupos dietéticos e, conseqüentemente, uma perda de informação sobre o seu impacto em determinadas doenças ou condições ⁽³⁸⁴⁾. A análise dos padrões alimentares em crianças pode fornecer informações mais robustas e consistentes sobre o efeito dos fatores dietéticos na incidência de cárie dentária comparativamente com a análise exclusiva da ingestão dos açúcares isolados ⁽³⁸⁴⁾.

Por outro lado, a escovagem dentária é considerada um comportamento de autocuidado fundamental para a manutenção da saúde oral. Muitos estudos evidenciam que a escovagem realizada 2 ou mais vezes por dia aumenta a eficácia da utilização do dentífrico fluoretado na redução da incidência de cárie dentária ^(137,385). No entanto, o efeito da frequência de escovagem na prevenção da cárie dentária não é totalmente inteligível. Além da frequência de escovagem, outros fatores relacionados com este hábito como a concentração de flúor no dentífrico, a quantidade de pasta dentífrica utilizada ⁽²¹⁵⁾, o tempo disponibilizado para a escovagem e a existência de assistência ou supervisão podem interferir no efeito preventivo da escovagem dentária na população pediátrica ^(139,386). Portanto, vale a pena investigar a relação entre a frequência de escovagem das crianças e a incidência de cárie dentária com maior ênfase na realização de estudos prospectivos com metodologia rígida, englobando fatores relacionados com este hábito, a fim de possibilitar o estabelecimento de uma possível relação causa-efeito.

Para o desenvolvimento de estratégias eficazes de prevenção da cárie dentária é necessário compreender como o processo da doença se desenvolve e progride ao longo do tempo. Não obstante, estudos longitudinais amplos de coorte são escassos na área odontopediátrica ⁽³⁸⁷⁾.

Tradicionalmente, os estudos observacionais de cárie dentária apresentam um desenho transversal. Apesar desta tipologia de estudo permitir testar a associação entre determinadas exposições e a cárie dentária, são estudos limitados no estabelecimento de relações causais. Também, até ao momento, um número escasso de estudos longitudinais

prospetivos avaliou, de forma concreta, quais os fatores de risco modificáveis que estão mais correlacionados com a experiência de cárie dentária nas crianças.

Considerando, particularmente as faixas etárias infantis, denota-se uma míngua de estudos que avaliam a prevalência de cárie dentária no período de transição entre a idade pré-escolar e escolar. Entre os 4 e 7 anos de idade existe uma diferença considerável no tempo de exposição dos dentes decíduos e permanentes aos fatores comportamentais. Portanto, este período de transição da dentição decídua para a fase mista da dentição corresponde a um momento crucial para avaliar com precisão o impacto dos fatores de risco modificáveis na prevalência e incidência de cárie dentária em crianças.

Reconhecida a pertinência do tema e definido o respectivo enquadramento teórico verifica-se que algumas questões cruciais ainda se mantêm em aberto. E daí, que um conhecimento aprofundado e conciso sobre os fatores comportamentais de base que condicionam o desenvolvimento, gravidade e evolução da cárie dentária nas crianças represente uma mais-valia no âmbito da investigação, da prevenção, do diagnóstico e tratamento da doença.

Neste sentido, o objetivo geral deste primeiro estudo consistiu em investigar a associação prospectiva entre os padrões alimentares e os comportamentos de saúde oral aos 4 anos de idade e a presença de cárie dentária nessas crianças aos 7 anos. Adicionalmente, de forma a ser compreendida a importância e a influência da aquisição dos comportamentos em idades muito jovens, foi ainda objetivo deste estudo avaliar se os comportamentos alimentares e os relacionados com a saúde oral aos 4 anos de idade estavam associados com o mesmo padrão de exposição três anos depois.

Em detalhe foram objetivos deste estudo:

- Estimar a prevalência e a gravidade da cárie dentária aos 4 anos de idade;
- Estimar a prevalência e a gravidade da cárie dentária aos 7 anos de idade na fase mista da dentição e, de forma independente, nos dentes permanentes;
- Realizar uma caracterização multiparamétrica da amostra de acordo com a sua prevalência de cárie aos 4 e aos 7 anos de idade, considerando fatores sociodemográficos e comportamentais;

- Estimar a incidência de cárie dentária (novas lesões de cárie) entre os 4 e os 7 anos de idade, definindo diferentes níveis de gravidade da doença;
- Estimar o incremento de cárie entre os 4 e os 7 anos de idade;
- Relacionar a incidência e gravidade da doença com fatores comportamentais, nomeadamente, hábitos alimentares e comportamentos em saúde oral;
- Relacionar os comportamentos das crianças aos 4 anos com os dos 7 anos de idade com intuito de averiguar se existe uma manutenção ou alteração do padrão comportamental pré-estabelecido.

2. Material e métodos

O estudo realizado insere-se no Projeto Geração XXI cujo objetivo maior desta coorte de nascimento de base populacional ⁽³⁸⁸⁾ reside na identificação das características da gravidez e da infância que se relacionam com o desenvolvimento e o estado de saúde nas fases subsequentes da vida.

Este Projeto pretende acompanhar a evolução de vários parâmetros de saúde em diversos âmbitos (social, comportamental, organizacional e biológico), no sentido de explorar novas hipóteses e problemas, que permitam compreender a influência do período pré-natal e dos primeiros anos de vida no desenvolvimento e na saúde durante a adolescência e a idade adulta.

Neste sentido, a coorte Geração XXI avalia, de forma contínua, o crescimento e a saúde das crianças da área metropolitana do Porto para que dessa forma possa estar na vanguarda da intervenção em saúde pública.

2.1 Tipo de estudo

Foi realizado um estudo de coorte prospetivo (estudo longitudinal).

2.2 Amostra

Um total de 8647 crianças e as suas respetivas mães (8495) foram recrutadas entre abril de 2005 e agosto de 2006 de cinco hospitais públicos com maternidade da área

metropolitana do Porto: Hospital Geral de Santo António e Maternidade Júlio Dinis (atualmente Centro Hospitalar do Porto), Hospital de São João (atualmente Centro Hospitalar de São João), Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia (atualmente Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho) e Unidade Local de Saúde de Matosinhos – Hospital Pedro Hispano. Mais de 90% dos progenitores que foram convidados aceitaram participar.

Partindo da avaliação inicial ao nascimento, foi fundamental recolher informação em momentos chave do crescimento das crianças e daí, as avaliações terem ocorrido aos 6, 15 e 24 meses, e aos 4, 7 e 10 anos de idade.

Aos 4, 7 e 10 anos de idade todos os participantes foram convidados para uma avaliação de acompanhamento, tendo sido reavaliados 86%, 80% e 76% dos participantes da coorte ao nascimento, respetivamente.

Como parte da avaliação física, as crianças e os seus responsáveis foram também convidadas para a realização de uma avaliação médico-dentária da criança aos 4 e 7 anos de idade, tendo participado nessa avaliação 60,4% (5226) e 10,5% (910) das crianças, respetivamente.

2.3 Critérios de inclusão e de exclusão

Os participantes do Projeto Geração XXI foram recrutados de acordo com os seguintes critérios de elegibilidade: mães residentes num dos seis municípios da área metropolitana do Porto, partos realizados nas maternidades públicas que abrangiam esses municípios e bebés vivos com idade gestacional superior a 24 semanas. No momento do início do estudo, as maternidades previamente enunciadas eram responsáveis por 91,6% dos partos de toda a população elegível.

Foram considerados como critérios de inclusão, específicos para a realização do presente estudo, as crianças que concomitantemente reunissem as seguintes características:

- avaliação ao nascimento;
- avaliação geral aos 4 e aos 7 anos de idade;
- avaliação médico-dentária aos 4 e aos 7 anos de idade.

Foram considerados critérios de exclusão:

- crianças cujo responsável não autorizou a sua participação nas avaliações dentárias aos 4 e aos 7 anos de idade;
- crianças com comportamento não colaborante em alguma das avaliações médico-dentárias;
- crianças com limitações físicas ou mentais que impossibilitavam a sua deslocação ao local de observação da cavidade oral, ou mesmo, a própria observação oral;
- dados muito incompletos ou impercetíveis.

Na análise dos dados foram ainda excluídas as crianças com doenças que podiam influenciar a prevalência e incidência de cárie dentária e a ingestão alimentar (paralisia cerebral, doença celíaca, alergia alimentar, intolerância alimentar, fenilcetonúria, malformações congénitas, diabetes *mellitus*, linfoma/leucemia; n=12). A amostra considerada neste estudo foi uma amostra por conveniência e incluiu o número total de crianças que cumpriam os critérios de inclusão estabelecidos. A amostra foi constituída por 607 crianças.

No entanto, devido a incongruências ou dificuldades na compreensão de alguns registos específicos, nem todas as características das mães e das crianças foram incluídas para todos os parâmetros avaliados e, por esse motivo, o número de participantes para cada variável pode variar ligeiramente.

2.4 Local do estudo

A avaliação aos 4 anos ocorreu entre abril de 2009 e agosto de 2011 na FMDUP. A avaliação aos 7 anos decorreu entre abril de 2012 e março de 2014, tendo as avaliações da cavidade oral decorrido apenas entre julho de 2013 e janeiro de 2014, ambas realizadas no Departamento de Epidemiologia Clínica, Medicina Preditiva e Saúde Pública da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (FMUP).

2.5 Consentimento informado, aspetos éticos e médico-legais

O Projeto Geração XXI foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsínquia. A Comissão de Ética do Hospital São João/FMUP aprovou todos os procedimentos

envolvendo a avaliação dos participantes no âmbito deste projeto (Anexo 2). A Autoridade Portuguesa para a Proteção de Dados também aprovou este estudo (Anexo 3). Foram respeitados todos os princípios éticos e legais e, neste sentido, os representantes legais de cada participante receberam uma explicação sobre o propósito e desenho do estudo e deram consentimento informado por escrito para as avaliações realizadas no início do estudo, aos 4 e aos 7 anos de idade (Anexo 4, 5 e 6).

Ao longo do estudo não foram registados dados relativos à identificação nominal dos participantes para garantir o anonimato. O acesso aos dados obtidos ficou limitado aos investigadores responsáveis. Foi criada uma tabela de dados para tratamento estatístico seguindo um sistema de codificação pré-estabelecido, que impossibilita a identificação da identidade da pessoa nesse documento, de forma a analisar cada variável.

2.6 Recolha de dados e avaliações físicas

Os dados ao nascimento, aos 4 e aos 7 anos de idade foram recolhidos por investigadores treinados em entrevistas presenciais, por meio de questionários estruturados (nascimento: Anexo 7; 4 anos: Anexo 8; e 7 anos: Anexo 9) com informação de natureza variável que incluiu, de uma forma muito ampla, características socioeconómicas e demográficas dos progenitores e histórico de saúde e estilo de vida das crianças. Concomitantemente, nestas idades, foram aplicados questionários de saúde oral e realizado exame clínico oral das crianças.

As variáveis da avaliação inicial, recolhidas nas maternidades e usadas no presente estudo incluem: o género da criança (masculino ou feminino), idade gestacional (<37 semanas e ≥37 semanas), peso ao nascimento (variável contínua), a idade (variável contínua) e nível de escolaridade maternas (≤9 anos, 10-12 anos ou >12 anos).

Para a realização das avaliações físicas e aplicação dos questionários aos responsáveis das crianças, aos 4 anos, formaram-se duas equipas mediante a tipologia de dados a recolher e exame físico a realizar. Assim, os examinadores da FMUP foram responsáveis pela recolha de informação sobre: condições de habitabilidade e os cuidadores da criança, hábitos alimentares, atividade física, hábitos de sono e padrão de choro, patologias e cuidados de saúde, condição física, dados antropométricos, composição corporal, pressão

arterial e pela recolha de amostras de sangue para determinação de parâmetros bioquímicos. No contexto da saúde oral, o exame clínico da cavidade oral e a aplicação dos questionários aos responsáveis legais foram realizados por uma equipa de médicos dentistas da FMDUP.

Na avaliação de acompanhamento aos 7 anos de idade, a estratégia de avaliação foi similar à adotada aos 4 anos, existindo equipas com funções distintas na recolha de informação e nas avaliações físicas de âmbito de saúde geral ou, especificamente, de saúde oral. Os dados recolhidos pelos examinadores da FMUP foram semelhantes aos recolhidos aos 4 anos com a inclusão de informação adicional sobre: dor musculoesquelética e disciplina e no exame físico, adicionalmente, foram recolhidos dados de bioimpedância e realizado eletrocardiograma, espirometria e densitometria óssea. A recolha de informação dos vários parâmetros avaliados no que diz respeito à saúde oral foi efetuada por uma equipa de médicos dentistas da FMDUP.

As características dos participantes elegíveis e das suas progenitoras foram comparadas com as características da restante coorte avaliada no início do estudo. Foi verificado que, aos 4 anos de idade, o rendimento familiar mensal da amostra incluída é maior do que o verificado na coorte remanescente (45,2% vs. 40,1%, $p=0,022$). Não foram encontradas diferenças significativas em relação ao género da criança, peso ao nascimento, idade gestacional e idade e escolaridade da mãe (Tabela 3).

Tabela 3. Comparação entre as características dos participantes elegíveis e a restante coorte avaliada no início do estudo*.
(Número de participantes (n) e percentagens (%); mediana e amplitude interquartil (AIQ))

	Amostra [‡] (n = 607)		Coorte remanescente [§] (n = 8040)		
	n	%	n	%	<i>p</i>
Gênero da criança (n, %)					
Feminino	289	47,6	3947	49,1	0,482
Masculino	318	52,4	4093	50,9	
Idade gestacional (n, %)					
<37 semanas	39	7,9	484	9,2	0,361
≥37 semanas	452	92,1	5783	90,8	
Peso ao nascimento (g)					
	607		8039		
Mediana	3240		3190		0,112
(AIQ)	(2900-3509)		(2880-3490)		
Idade da mãe (anos)					
	607		8034		
Mediana	29		29		0,446

Tabela 3. Comparação entre as características dos participantes elegíveis e a restante coorte avaliada no início do estudo*.
(Número de participantes (n) e percentagens (%); mediana e amplitude interquartil (AIQ))

	Amostra [‡] (n = 607)		Coorte remanescente [§] (n = 8040)		
(AIQ)	(26-33)		(25-33)		
Escolaridade materna (anos)	606		6818		
Mediana	12		11		0,087
(AIQ)	(9-15)		(8-14)		
Rendimento familiar mensal (n, %)					
Baixo ≤1000€	163	27,2	2117	32,0	
Intermédio: 1001-1500€	165	27,5	1849	27,9	0,022
Alto >1500€	271	45,2	2652	40,1	

* Para cada variável, o total (n) pode não representar 607 ou 8040 devido à falta de informação para algumas variáveis

[‡] Crianças com avaliação geral ao nascimento, 4 e 7 anos e com avaliação da cavidade oral aos 4 e aos 7 anos de idade.

[§] Coorte avaliada no início do estudo.

g: gramas; €: euros.

2.6.1 Avaliação do consumo alimentar

A recolha de informação relativa ao consumo alimentar das crianças foi realizada através da utilização de um questionário de frequência alimentar (QFA), previamente testado e calibrado ⁽³⁸⁹⁾, e aplicado por examinadores treinados nesta tipologia de entrevista. Os pais/responsáveis foram questionados sobre quantas vezes, em média nos últimos 6 meses, o seu filho consumia 35 alimentos, nas avaliações de acompanhamento aos 4 e aos 7 anos de idade.

Todas as frequências de ingestão (“nunca”, “<1 vez/mês”, “1-3 vezes/mês”, “1 vez/semana”, “2-4 vezes/semana”, “5-6 vezes/semana”, “1 vez/dia”, “2-3 vezes/dia” e “≥4 vezes/dia”) foram convertidas em frequências diárias conforme descrito anteriormente por Durão e os seus colaboradores, por exemplo, “1 vez por semana” foi convertido em 1/7 dias=0,14 vezes/dia ⁽³⁹⁰⁾.

Foram definidos dois novos grupos de alimentos sob duas novas variáveis designadas “alimentos cariogénicos” (gelados, cereais do pequeno-almoço, bolachas salgadas, biscoitos, bolos de pastelaria, chocolate, açúcar e doces) ⁽³⁸²⁾ e “bebidas cariogénicas” (refrigerantes gaseificados e outras bebidas adoçadas com açúcar) ⁽³⁹¹⁾. Na avaliação da ingestão de bebidas e alimentos cariogénicos foram consideradas as suas frequências diárias. Ambas as variáveis foram analisadas como variáveis contínuas.

Conforme descrito por Durão e os seus colaboradores ⁽³⁹²⁾, para identificar padrões alimentares nas crianças de 4 anos de idade, um total de 16 itens/grupos de alimentos foram definidos com base na similaridade do tipo de alimento e composição nutricional: leite, iogurte, carne e ovos, bebidas açucaradas, doces, fruta, sopa de legumes, legumes cozinhados, queijo, peixe, carne processada, arroz/massa/batata, pão, batatas fritas, *pizza*/hambúrguer e pastelaria salgada). Três padrões alimentares foram identificados pela análise de classe latente: “Saudável”, “*Snacking*” e “Alimentos densamente energéticos”. O número de padrões foi definido de acordo com o critério de informação Bayesiano e as crianças foram atribuídas a cada padrão de acordo com a maior probabilidade de inclusão na classe ⁽³⁹²⁾.

O padrão “Saudável” foi caracterizado por um maior consumo de frutas, vegetais e peixe e um menor consumo de alimentos densamente energéticos; o padrão “*Snacking*” foi definido por um baixo consumo de alimentos tipicamente consumidos nas refeições principais e um consumo intermédio a alto de alimentos do tipo *snack* (por exemplo, leite, iogurte, doces, pastelaria salgada e batatas fritas); o padrão de “Alimentos densamente energéticos” foi caracterizado por um maior consumo de alimentos pobres em micronutrientes e densos em energia, como doces, bebidas adoçadas com açúcar e alimentos ricos em gordura, como *pizza*, hambúrgueres, carne processada e pastelaria salgada ⁽³⁹²⁾.

2.6.2 Avaliação da saúde oral

A avaliação da saúde oral aos 4 e aos 7 anos de idade compreendeu um exame clínico da cavidade oral da criança e a aplicação de um questionário em ambos os momentos aos seus responsáveis legais (Anexo 10 e 11, respetivamente). Os questionários foram originalmente estruturados com base noutros inquéritos validados e considerados cientificamente relevantes.

i. Equipa de examinadores

Na avaliação aos 4 anos de idade, o exame clínico da cavidade oral das crianças e a aplicação dos questionários aos responsáveis foram realizados por uma equipa constituída por seis médicos dentistas (da FMDUP e externos à FMDUP) e dez alunos de Mestrado

e Doutoramento da FMDUP. Na avaliação aos 7 anos de idade, o exame clínico da cavidade oral das crianças e a aplicação dos questionários foram realizados por quatro médicos dentistas (apenas um médico havia participado na avaliação realizada aos 4 anos).

Previamente ao início dos exames clínicos, nos dois momentos de avaliação foi realizada uma calibragem intra e inter-examinadores que consistiu num curso teórico com imagens considerando os vários níveis de gravidade das lesões e as diversas tipologias de restaurações dentárias. Este curso foi ministrado na FMDUP pelo Professor Doutor Paulo Melo (perito em estudos epidemiológicos da cavidade oral e formador oficial do *ICDAS Foundation*). Nesta sessão foi apresentado um programa de *e-learning*, disponível no local eletrónico do *ICDAS Foundation*, onde é descrito exhaustivamente o protocolo e critérios deste sistema. O processo de calibragem incluiu ainda, uma sessão prática que envolveu uma observação de treino de indivíduos da mesma idade das crianças do estudo comparativamente com um padrão-ouro. Para avaliar a consistência entre as observações, cada examinador repetiu uma em cada dez observações clínicas durante a fase de registo.

Na avaliação aos 4 anos de idade, a calibragem intra e inter-examinador dos médicos dentistas mostrou um *kappa* de Cohen ponderado de 0,75 e 0,70, respetivamente, para o ICDAS II com boa concordância em ambos ⁽³⁹³⁾. De forma similar, para a avaliação dentária aos 7 anos uma nova equipa de quatro médicos dentistas alcançou uma concordância intra e inter-examinador moderada a alta para o mesmo sistema (*kappa* ponderado de 0,80 e 0,75, respetivamente) ⁽³⁹³⁾.

ii. Dados de saúde oral

Nos questionários aplicados aos 4 e aos 7 anos de idade foram recolhidas informações sobre a frequência da escovagem dentária e outros comportamentos relacionados com a saúde oral das crianças. A frequência da escovagem dentária registada (“<1 vez/semana”, “1-2 vezes/semana”, “3-6 vezes/semana”, “1 vez/dia”, “2 vezes/dia, uma ao deitar”, “2 vezes/dia, mas nenhuma ao deitar”, “3 ou mais vezes/dia”) foi convertida em dois grupos: “<2 vezes por dia ou ≥ 2 vezes por dia, nenhuma ao deitar” e “ ≥ 2 vezes por dia, uma vez ao deitar”. A avaliação de outros comportamentos relacionados com a saúde oral infantil incluiu: se existia supervisão parental durante a escovagem dentária (não/sim); se a criança realizava a escovagem dentária com pasta dentífrica fluoretada (não/sim); se a

criança já tinha realizado consulta de medicina dentária (não sim); e, por fim, se a criança ingeria alimentos antes de dormir, após realizar a escovagem dentária (não/sim).

iii. Exame clínico da cavidade oral – condições de avaliação

As avaliações clínicas aos 4 anos foram realizadas no período da manhã entre as 08 horas e 30 minutos e as 13 horas com vista à maior colaboração das crianças no período matutino. Para cada participante dois elementos da equipa foram destacados, um como examinador clínico e outro como assistente para o registo da informação. Este exame clínico foi realizado na clínica de medicina dentária da FMDUP, em ambiente de consultório com uma adequada iluminação natural e iluminação artificial do candeeiro do equipamento dentário.

Cada dente foi devidamente limpo e seco com recurso a compressas e rolos de algodão esterilizados com auxílio de uma pinça para a remoção de depósitos de placa bacteriana e resíduos alimentares. A seringa de ar/água do equipamento dentário foi utilizada como complemento para secagem das superfícies dentárias. A observação oral foi realizada com recurso a um espelho oral plano e sonda exploradora reta de ponta esférica.

No fim de cada avaliação dentária foi entregue um relatório ao responsável da criança relativamente ao diagnóstico realizado e às necessidades terapêuticas. Em caso de necessidade de tratamento as crianças foram convidadas pela equipa de medicina dentária envolvida no estudo a realizar os tratamentos, ao abrigo do cheque-dentista, na clínica da FMDUP.

As avaliações clínicas aos 7 anos foram realizadas no Departamento de Epidemiologia Clínica, Medicina Preditiva e Saúde Pública da FMUP e, por isso, na ausência de um equipamento de medicina dentária, as crianças foram examinadas numa sala convencional de avaliações, gentilmente disponibilizada para o efeito. As crianças encontravam-se sentadas numa cadeira *standard*, próximas a uma janela com luz natural. Adicionalmente, ainda foi utilizada iluminação artificial através de uma lanterna com lâmpada de halogéneo. Compressas e rolos de algodão esterilizados foram utilizados para a limpeza e secagem das superfícies dentárias e a avaliação realizada mediante a utilização de espelho oral plano e sonda exploradora reta de ponta esférica. A posição da

criança na cadeira foi orientada de forma à cavidade oral ficar ao nível dos olhos do médico dentista examinador. Similarmente à avaliação realizada aos 4 anos, as equipas de observação foram constituídas por dois elementos: examinador e assistente para anotação da observação. No final da avaliação foi fornecido um relatório da avaliação dentária realizada e identificadas as necessidades de tratamento.

iv. Exame clínico da cavidade oral – registo clínico e critérios adotados

Para o diagnóstico e registo de cárie dentária foram seguidos os procedimentos e critérios do ICDAS II ^(144,394). Este método tem por base um sistema de registo de dois dígitos: o primeiro refere-se à presença ou ausência de restaurações e selantes de fissuras; o segundo refere-se à presença ou ausência de lesões de cárie dentária coronárias. Neste sistema existem ainda, códigos específicos para os dentes não presentes na cavidade oral. A única exceção apresenta-se quando se utiliza o código “P” (Tabela 4).

No presente estudo o registo foi realizado por superfície dentária e, posteriormente, classificado o dente de acordo com o pior resultado observado para as várias superfícies do mesmo.

O sistema ICDAS II apresenta dois códigos para o registo das lesões iniciais de cárie, as quais precedem a cavitação (segundo dígito: códigos 1 e 2). Geralmente nos estudos epidemiológicos de cárie dentária, tendo em consideração as limitações inerentes às condições de observação (impossibilidade de secagem dos dentes por ausência de seringa de ar comprimido), o registo do código 1 e 2 é efetuado em conjunto ⁽¹⁴⁴⁾, sendo utilizada a letra “A”. Contrariamente, no nosso estudo, o exame dentário aos 4 anos foi realizado com recurso a equipamento dentário contemplando seringa de ar comprimido possibilitando o registo das lesões em estágio 1 separadamente das lesões em estágio 2. Porém, na avaliação aos 7 anos de idade, na ausência de ar comprimido, mas tendo em consideração o tipo de registo efetuado previamente, foi realizado um esforço adicional pela equipa de examinadores no sentido de secarem adequadamente as superfícies dentárias recorrendo a compressas estéreis e rolos de algodão. Este cuidado e diligência da equipa traduziu-se num investimento de tempo acrescido na realização dos registos dentários.

Tabela 4. Critérios do ICDAS II para o registo de restaurações e selantes (primeiro dígito), lesões de cárie dentária (segundo dígito) e dentes ausentes.

Código	Restaurações e selantes	Lesões de cárie dentária	Dentes ausentes
0	Sem selante ou restauração	Superfície dentária sã	---
1	Parcialmente selado	Primeira alteração visível no esmalte	---
2	Totalmente selado	Alteração evidente no esmalte	---
3	Restauração estética	Cavidade no esmalte, sem dentina visível	---
4	Restauração a amálgama	Sombra na dentina	---
5	Coroa de aço/metálica	Cavidade evidente, com dentina visível	---
6	Coroa em porcelana, ouro ou faceta	Cavidade evidente e extensa, com dentina visível	---
7	Restauração fraturada ou perdida	---	---
8	Restauração temporária	---	---
97	---	---	Dente extraído por motivos de cárie
98	---	---	Dente perdido por outros motivos
99	---	---	Dente não erupcionado
P	---	---	Dente em falta substituído por implante/pôntico

A partir do ICDAS II foi possível classificar os participantes do estudo relativamente à presença ou ausência de experiência de cárie dentária através da transformação dos códigos ICDAS II para cpo/CPO, seguindo a seguinte classificação:

- superfícies sãs: ICDAS II – códigos: 00, 0A, 10, 1A, 20, 2A);
- superfícies cariadas: ICDAS II – códigos: 03-06, 13-16, 23-26, 33-36, 43-46, 53-56, 63-66, 70-76, 83-86);
- superfícies obturadas: ICDAS II – códigos 30-3A, 40-4A, 50-5A, 60-6A, 80-8A);
- dentes ausentes por motivo de cárie: ICDAS II – código 97).

Tal como reportado previamente, o pior resultado observado para as várias superfícies era utilizado para a classificação do dente enquanto unidade. Se o mesmo dente

apresentasse uma superfície cariada e outra obturada, o dente era considerado como cariado.

Para possibilitar a posterior comparação com os estudos convencionais de cárie dentária neste estudo, especificamente, apenas se consideraram as lesões cavitadas (incluindo não cavitadas, mas com afetação dentinária) ($c_{3-6}po/C_{3-6}PO$ ICDAS II códigos 3-6). Nenhum método adicional para a detecção de cárie, incluindo radiografias, foi utilizado.

A “experiência de cárie dentária” foi definida como a presença ou ausência de atividade de cárie na dentição decídua e na fase mista da dentição em crianças de 4 e 7 anos de idade ($c_{3-6}pod>0$ vs. $c_{3-6}pod=0$ e $c_{3-6}pod/C_{3-6}POD>0$ vs. $c_{3-6}pod/C_{3-6}POD=0$, respetivamente). Foi calculada a proporção de indivíduos que, entre os 4 e os 7 anos de idade, foi afetado por cárie dentária, quer apresentasse novas lesões de cárie cavitadas, ou novos dentes obturados e/ou perdidos por cárie. Esta distinção permitiu que cada participante fosse categorizado em dois grupos: crianças sem experiência de cárie e crianças com experiência de cárie nos três anos de seguimento.

Com o objetivo de observar o desenvolvimento de novas lesões de cárie entre os 4 e os 7 anos, foram criadas duas novas variáveis, a primeira designada “Desenvolvimento de Cárie Dentária” (DCD) (1 ou mais dentes com uma nova lesão de cárie cavitada, ou 1 ou mais dentes obturados ou perdidos por cárie: sim/não) e a segunda designada de “Grave-Desenvolvimento de Cárie Dentária” (G-DCD) (apresentar mais de 2 dentes com nova lesão cavitada, ou mais de 2 dentes obturados ou perdidos por cárie: sim/não) na fase mista da dentição e na dentição permanente durante os três anos de seguimento.

2.7 Análise estatística

A análise estatística foi desenvolvida no *software* estatístico IBM SPSS® *Statistics* vs. 26.0 (IBM Corp. lançado em 2017, Armonk, NY, USA: IBM Corp.).

As variáveis categóricas foram descritas como frequências e percentagens (n, %), enquanto as variáveis quantitativas foram expressas como mediana e amplitude interquartil (AIQ: 1º e 3º quartis).

Para todas as situações de inferência estatística foi considerado um nível de significância de 0,05. As comparações das variáveis quantitativas foram realizadas pelo teste de Mann-Whitney (comparação da mediana para dois grupos independentes) devido ao facto dessas variáveis apresentarem uma distribuição não normal (falta de simetria na maioria dos casos). A análise bivariada das variáveis categóricas foi realizada pelo teste do Qui-quadrado e todas as comparações pareadas ajustadas pela correção de Bonferroni. Os intervalos de confiança (ICs), com nível de confiança de 95%, da prevalência de cárie aos 4 e aos 7 anos e da incidência de cárie entre os 4 e os 7 anos foram calculados pelo método Exato.

O incremento de cárie dentária entre os 4 e os 7 anos de idade foi calculado com base na contagem de dentes com novas lesões de cárie, obturados ou perdidos por cárie neste período. Posteriormente, foi calculada a média e o dp para o número de dentes com novas lesões, restaurados ou perdidos por cárie para a dentição permanente e para a fase mista da dentição, assim como, o intervalo de confiança (IC) para o valor médio nestas duas situações.

Foram realizadas análises de regressão logística multivariada para avaliar o *odds ratio* (OR) bruto e ajustado e respetivos ICs 95% para o DCD e G-DCD. As variáveis com $p < 0,20$ (na análise bivariada mencionada anteriormente) em relação ao DCD e G-DCD foram incluídas na primeira etapa do modelo. Exceção para as variáveis “frequência diária de ingestão de alimentos cariogénicos” e “frequência diária de ingestão de bebidas cariogénicas”, as quais foram excluídas devido à evidência de multicolinearidade com os padrões alimentares. Por razões teóricas ⁽⁹⁵⁾, o uso de dentífrico fluoretado foi incluído nos modelos. A eliminação de *Wald Stepwise Backward* foi realizada ($p < 0,05$ para inclusão de covariáveis e $p > 0,20$ para exclusão).

Os modelos foram ajustados para o género da criança e idade e escolaridade da mãe. Além disso, os padrões alimentares foram ajustados também para a frequência de escovagem dentária e para a ingestão de alimentos ao deitar, após a escovagem dentária.

Relativamente à avaliação da associação entre os comportamentos aos 4 e aos 7 anos de idade (manutenção ou alteração do padrão de comportamento) foi utilizado o modelo de regressão logística para comportamentos descritos em duas categorias e utilizado o

modelo de regressão multinomial para os padrões alimentares (três categorias). Os modelos foram ajustados para o gênero da criança, idade e escolaridade maternas.

3. Resultados

A prevalência de cárie dentária aos 4 anos foi de 27,5% (IC 95%: 24,0-31,3) e o valor médio do $c_{3-6}pod$ foi de 1,00 (dp: 2,26). Aos 7 anos de idade a prevalência de cárie na fase mista da dentição foi de 54,2% (IC 95%: 50,1-58,2). Nesta idade as crianças apresentavam um $c_{3-6}pod/C_{3-6}POD$ de 2,40 (dp: 3,18). De destacar que nesta idade 14,5% (IC 95%: 11,8-14,6) dos participantes já apresentavam lesões de cárie cavitadas, dentes obturados ou perdidos por cárie na dentição permanente. O valor de $C_{3-6}POD$ foi de 0,30 (dp: 0,83). Para todas as condições avaliadas deve ser sublinhado que a proporção de crianças com pelo menos um dente cariado sobressai claramente comparativamente com os restantes componentes deste índice (Tabela 5).

Entre os 4 e os 7 anos de idade, 51,2% (IC 95%: 47,2-55,3) das crianças apresentava pelo menos 1 dente com uma nova lesão de cárie, ou 1 dente perdido ou obturado por cárie e 27,4% (IC 95%: 24,3-31,6) apresentava mais de 2 dentes com novas lesões de cárie, ou mais de 2 dentes perdidos ou obturados por cárie dentária. Neste período o incremento de cárie na dentição decídua foi de 1,39 (dp: 2,01; IC: 1,23-1,55) e na fase mista da dentição foi de 1,71 (dp: 2,34; IC: 1,53-1,90).

Tabela 5. Prevalência e gravidade da cárie dentária na amostra deste estudo aos 4 e aos 7 anos de idade.

Prevalência						
	4 anos			7 anos		
	%	IC 95%		%	IC 95%	
$c_{3-6}pod$	27,5	24,0-31,3		53,2	49,2-57,2	
$c_{3-6}pod/C_{3-6}POD$				54,2	50,1-58,2	
$C_{3-6}POD$				14,5	11,8-14,6	
Gravidade						
	Média (dp)	C/P/O ^a e c/p/o ^a	Min-max ^b	Média (dp)	C/P/O ^a e c/p/o ^a	Min-max ^b
$c_{3-6}pod$	1,00 (2,26)	26,03/0,49/3,62	1-18	2,08 (2,75)	48,79/4,04/14,86	1-14
$c_{3-6}pod/C_{3-6}POD$				2,40 (3,18)	49,92/4,04/17,12	1-16
$C_{3-6}POD$				0,30 (0,83)	11,63/0,16/3,55	1-4

^a Proporção de crianças com dentes cariados/perdidos/obturados por cárie no índice $c_{3-6}pod$ ou $C_{3-6}POD$.

^b Valores mínimos e máximos

IC: intervalo de confiança; dp: desvio-padrão.

A Tabela 6 apresenta as características das crianças da amostra de acordo com a sua experiência de cárie dentária aos 4 e aos 7 anos de idade.

Tabela 6. Características das crianças da amostra de acordo com a experiência de cárie dentária aos 4 (c₃₋₆pod=0 vs. c₃₋₆pod>0) e aos 7 anos de idade (c₃₋₆pod/C₃₋₆POD=0 vs. c₃₋₆pod/C₃₋₆POD>0).

Experiência de cárie dentária						
4 anos de idade				7 anos de idade		
	c ₃₋₆ pod=0 n (%)	c ₃₋₆ pod>0 n (%)	p*	c ₃₋₆ pod/C ₃₋₆ POD=0 n (%)	c ₃₋₆ pod/C ₃₋₆ POD>0 n (%)	p*
Gênero da criança						
Feminino	203 (46,1)	86 (51,5)	0,238	138 (49,6)	151 (45,9)	0,358
Masculino	237 (53,9)	81 (48,5)		140 (50,4)	178 (54,1)	
Escolaridade da mãe						
≤ 9 anos	177 (40,4)	82 (49,1)	0,004	94 (33,8)	165 (50,5)	<0,001
10-12 anos	126 (28,8)	56 (33,5)		87 (31,3)	95 (29,1)	
>12 anos	135 (30,8)	29 (17,4)		97 (34,9)	67 (20,5)	
Rendimento familiar mensal						
Baixo: ≤1000€	92 (21,2)	71 (43,0)	<0,001	51 (18,5)	112 (34,6)	<0,001
Intermédio: 1001-1500€	121 (27,9)	44 (26,7)		68 (24,7)	97 (29,9)	
Alto >1500€	221 (50,9)	50 (30,3)		156 (56,7)	115 (35,5)	
Frequência da escovagem dentária						
< 2 ou ≥ 2 vezes por dia, nenhuma antes de dormir	194 (44,7)	81 (49,0)	0,306	114 (41,5)	161 (49,8)	0,040
≥ 2 vezes por dia, 1 antes de dormir	240 (55,3)	83 (50,6)		161 (58,5)	162 (50,2)	
Pasta fluoretada						
Não	1 (0,2)	1 (0,6)	0,469	12 (5,8)	17 (7,0)	0,607
Sim	434 (99,8)	161 (99,4)		194 (94,2)	225 (93,0)	
Supervisão da escovagem dentária						
Não	269 (64,4)	131 (82,9)	<0,001	256 (93,8)	288 (88,3)	0,022
Sim	149 (35,6)	27 (17,1)		17 (6,2)	38 (11,7)	
Consulta de Medicina Dentária até aos 4 anos						
Não	314 (71,9)	88 (52,7)	<0,001	188 (68,4)	214 (65,0)	0,389
Sim	123 (28,1)	79 (47,3)		87 (31,6)	115 (35,0)	
Ingestão de alimentos antes de ir para a cama, depois de escovar os dentes						
Não	252 (58,3)	90 (54,5)	0,403	169 (62,4)	173 (53,1)	0,022
Sim	180 (41,7)	75 (45,5)		102 (37,6)	153 (46,9)	
Padrão alimentar						
Alimentos densamente energéticos	189 (43,5)	85 (51,5)	0,048	107 (38,8)	167 (51,7)	0,002
Snacking	55 (12,7)	26 (15,8)		36 (13,0)	45 (13,9)	
Saudável	190 (43,8)	54 (32,7)		133 (48,2)	111 (34,4)	
Frequência diária de ingestão de alimentos cariogénicos						
n	325	118	0,822	204	239	0,349
Mediana (AIQ)	2,76 (1,98-3,84)	2,81 (1,72-4,23)		2,72 (2,01-3,68)	2,82 (1,84-4,04)	

Tabela 6. Características das crianças da amostra de acordo com a experiência de cárie dentária aos 4 (c3-6pod=0 vs. c3-6pod>0) e aos 7 anos de idade (c3-6pod/C3-6POD=0 vs. c3-6pod/C3-6POD>0).

Experiência de cárie dentária						
	4 anos de idade			7 anos de idade		
	c3-6pod=0 n (%)	c3-6pod>0 n (%)	<i>p</i> *	c3-6pod/C3-6POD=0 n (%)	c3-6pod/C3-6POD>0 n (%)	<i>p</i> *
Frequência diária de ingestão de bebidas cariogênicas						
n	326	118		205	239	
Mediana (AIQ)	0,67 (0,26-1,26)	0,98 (0,42-1,98)	0,001	0,65 (0,26-1,26)	0,87 (0,34-1,48)	0,020

Valores apresentados a negrito denotam significância estatística ($p < 0,05$).

* valor de *p*: teste U de Mann-Whitney, teste do Qui-quadrado ou teste exato de Fisher, conforme apropriado; $p < 0,001$ (correção de Bonferroni);

c3-6pod, dentes decíduos cariados (códigos 3-6 ICDAS II), perdidos e obturados por cárie; C3-6POD: dentes permanentes cariados (códigos 3-6 ICDAS II), perdidos e obturados por cárie.

AIQ: amplitude interquartil.

Em ambas as avaliações de acompanhamento, as mães das crianças com cárie dentária apresentavam uma escolaridade significativamente mais baixa comparativamente com as mães de crianças sem cárie (4 anos: 49,1% vs. 40,4%, $p=0,004$ e 7 anos: 50,5% vs. 33,8%, $p<0,001$), assim como, as crianças com experiência de cárie pertenciam a famílias com rendimento familiar mensal mais baixo.

Relativamente aos comportamentos de saúde oral, nos dois momentos de avaliação, as crianças realizavam maioritariamente, a escovagem dentária 2 ou mais vezes por dia, sendo uma delas antes de dormir com pasta dentífrica fluoretada, mas apenas aos 7 anos de idade foram encontradas diferenças estatísticas significativas para a experiência de cárie dentária e a frequência de escovagem ($p=0,040$). Também as crianças com experiência de cárie foram as que, de forma estatisticamente significativa, não tinham supervisão parental durante a escovagem em ambas as idades (4 anos: 82,9% vs. 64,4%, $p<0,001$ e 7 anos: 88,3% vs. 93,8%, $p=0,022$) e curiosamente foram as que já tinham realizado consulta de medicina dentária aos 4 anos de idade (47,3% vs. 28,1%, $p < 0,001$).

No que concerne aos hábitos alimentares as crianças com cárie comparativamente com as isentas de cárie apresentavam um padrão alimentar rico em “Alimentos densamente energéticos” (4 anos: 51,5 vs. 43,5%, $p=0,048$ e 7 anos: 51,7% vs. 38,8%, $p=0,002$). Aos 7 anos, as crianças com experiência de cárie foram as que maioritariamente ingeriam alimentos antes de ir para a cama após a escovagem dentária (46,9% vs. 37,6%, $p=0,022$). Relativamente à ingestão diária de bebidas e alimentos cariogênicos foram verificadas

diferenças estatisticamente significativas relativamente às bebidas cariogénicas. As crianças com cárie apresentavam um consumo mais elevado deste tipo de bebidas em ambas as idades (4 anos: mediana: 0,98 (AIQ: 0,42-1,98) vs. 0,67 (AIQ: 0,26-1,26), $p=0,001$ e 7 anos: mediana 0,87 (AIQ: 0,34-1,48) vs. 0,65 (AIQ: 0,26-1,26), $p=0,020$).

Os resultados da associação entre o DCD e o G-DCD entre os 4 e os 7 anos de idade com as variáveis de exposição aos 4 anos são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Análise bivariada entre o desenvolvimento de cárie dentária e o grave desenvolvimento de cárie dentária entre os 4 e os 7 anos de idade com as variáveis independentes aos 4 anos (exposição).

Desenvolvimento de cárie dentária			Grave-desenvolvimento de cárie dentária			
	Novas lesões=0 n (%)	Novas lesões>0 n (%)	<i>p</i>	Novas lesões=0 n (%)	Novas lesões >2 n (%)	<i>p</i>
Género da criança						
Feminino	146 (49,3)	143 (46,0)	0,410	146 (49,3)	76 (45,8)	0,465
Masculino	150 (50,7)	168 (54,0)		150 (50,7)	90 (54,2)	
Escolaridade materna						
≤ 9 anos	99 (33,4)	160 (51,8)	<0,001	99 (33,4)	99 (60,0)	<0,001
10-12 anos	95 (32,1)	87 (28,2)		95 (32,1)	49 (29,7)	
>12 anos	102 (34,5)	62 (20,1)		102 (34,5)	17 (10,3)	
Rendimento familiar mensal						
Baixo: ≤1000€	56 (19,1)	107 (35,0)	<0,001	75 (25,8)	65 (40,1)	<0,001
Intermédio: 1001-1500€	75 (25,6)	90 (29,4)		81 (27,8)	56 (34,6)	
Alto: >1500€	162 (55,3)	109 (35,6)		135 (46,4)	41 (25,3)	
Frequência de escovagem dentária						
< 2 ou ≥ 2 vezes por dia, nenhuma antes de dormir	123 (42,0)	152 (49,8)	0,054	123 (42,0)	83 (50,9)	0,066
≥ 2 vezes por dia, 1 antes de dormir	170 (58,0)	153 (50,2)		170 (58,0)	80 (49,1)	
Pasta fluoretada						
Não	14 (6,3)	15 (6,6)	0,907	14 (6,3)	7 (5,9)	0,884
Sim	207 (93,7)	212 (93,4)		207 (93,7)	111 (94,1)	
Supervisão da escovagem dentária						
Não	19 (6,5)	36 (11,7)	0,029	19 (6,5)	19 (11,5)	0,064
Sim	272 (93,5)	272 (88,3)		272 (93,5)	146 (88,5)	
Consulta de Medicina Dentária até aos 4 anos						
Não	199 (67,9)	203 (65,3)	0,491	199 (67,9)	112 (67,5)	0,921
Sim	94 (32,8)	108 (34,7)		94 (32,1)	54 (32,5)	
Consumo de bebidas e alimentos antes de ir para a cama, depois de escovar os dentes						
Não	180 (62,3)	162 (52,6)	0,017	180 (62,3)	80 (48,8)	0,005
Sim	109 (37,7)	146 (47,4)		109 (37,7)	84 (51,2)	
Padrão alimentar						
Alimentos densamente energéticos	116 (39,5)	158 (51,8)	0,002	116 (39,5)	87 (53,7)	<0,001
Snacking	37 (12,6)	44 (14,4)		37 (12,6)	29 (17,9)	

Tabela 7. Análise bivariada entre o desenvolvimento de cárie dentária e o grave desenvolvimento de cárie dentária entre os 4 e os 7 anos de idade com as variáveis independentes aos 4 anos (exposição).

	Desenvolvimento de cárie dentária			Grave-desenvolvimento de cárie dentária		
	Novas lesões=0 n (%)	Novas lesões>0 n (%)	<i>p</i>	Novas lesões=0 n (%)	Novas lesões >2 n (%)	<i>p</i>
Saudável	141 (48,0)	103 (33,8)		141 (48,0)	46 (28,4)	
Frequência diária de ingestão de alimentos cariogénicos						
n	213	230		294	165	
Mediana (AIQ)	2,74 (1,99-3,75)	2,82 (1,85-4,12)	0,575	2,39 (1,72-3,42)	3,24 (2,09-4,39)	0,622
Frequência diária de ingestão de bebidas cariogénicas						
n	214	230		294	165	
Mediana (AIQ)	0,67 (0,26-1,26)	0,86 (0,34-1,48)	0,063	1,34 (0,9-2,42)	1,93 (1,24-3,01)	0,070

Valores apresentados a negrito denotam significância estatística ($p < 0,05$).

Os dados são apresentados como proporções (%) para medidas categóricas e valores medianos e amplitude interquartil para medidas contínuas. As diferenças entre os grupos foram testadas com o teste exato de Fisher ou o teste do Qui-quadrado, respetivamente.

O DCD e o G-DCD foram associados com a escolaridade materna inferior a 10 anos (DCD: 51,8% vs. 33,4%, $p < 0,001$ e G-DCD: 60,0 vs. 33,4%, $p < 0,001$) com um rendimento familiar mensal ≤ 1000 € (DCD: 35,0% vs. 19,1%, $p < 0,001$ e G-DCD: 40,1% vs. 25,8%, $p < 0,001$) e com a ingestão de alimentos antes de deitar, após a escovagem dentária (DCD: 47,3% vs. 37,7%, $p = 0,017$ e G-DCD: 51,2% vs. 37,7%, $p = 0,005$).

Aos 4 anos, não ter havido supervisão da escovagem dentária e as crianças pertencerem ao padrão alimentar “*Snacking*” foram comportamentos associados ao DCD (11,7% vs. 6,5%, $p = 0,029$ e 14,4% vs. 12,6%, $p = 0,002$, respetivamente). Por outro lado, um padrão de consumo de “Alimentos densamente energéticos” nas crianças foi um comportamento associado ao G-DCD nas crianças de 7 anos de idade (53,7% vs. 39,5%, $p < 0,001$) (Tabela 7).

O ajuste para potenciais fatores de confundimento (género da criança, idade e escolaridade maternas) não atenuou a associação positiva observada entre a ingestão de alimentos antes de dormir, após a escovagem dentária e o G-DCD aos 7 anos (OR=1,77; IC 95%: 1,15-2,74) (Tabela 8).

Relativamente aos padrões alimentares, após o ajuste para as variáveis confundidoras consideradas (género da criança, idade e escolaridade da mãe, frequência da escovagem dentária e ingestão de alimentos ao deitar), e comparando com o padrão alimentar “Saudável” (referência), as crianças que pertenciam ao padrão “Alimentos densamente

energéticos” apresentaram maior risco de DCD (OR =1,77; IC 95%: 1,24-2,53) e de G-DCD (OR=2,19; IC 95%: 1,41-3,41). Além disso, a análise de regressão logística multivariada indicou uma associação ajustada significativa entre o padrão “*Snacking*” e o G-DCD (padrão “*Snacking*” vs. padrão “Saudável”: OR=2,19; IC 95%: 1,20-4,00) (Tabela 8).

Tabela 8. Modelo de regressão logística multivariável para predição do desenvolvimento de cárie dentária e o desenvolvimento de cárie dentária grave em crianças dos 4 aos 7 anos de idade.

	Desenvolvimento de cárie dentária		Grave desenvolvimento de cárie dentária	
	OR bruto (IC)	OR ajustado* (IC)	OR bruto (IC)	OR ajustado* (IC)
Ingestão de alimentos/bebidas antes de ir para a cama				
Sim	1,31 (0,92-1,88)	1,30 (0,91-1,85)	1,75 (1,13-2,70)	1,77 (1,15-2,74)
Padrão alimentar	OR bruto	OR ajustado**	OR bruto	OR ajustado**
Saudável	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
<i>Snacking</i>	1,14 (0,66-1,96)	1,47 (0,88-2,46)	1,56 (0,81-3,01)	2,19 (1,20-4,00)
Alimentos densamente energéticos	1,43 (0,97-2,11)	1,77 (1,24-2,53)	1,58 (0,97-2,58)	2,19 (1,41-3,41)

Valores apresentados a negrito denotam significância estatística ($p < 0,05$).

a. Variáveis inseridas na etapa 1: frequência de escovagem dentária aos 4 anos de idade, utilização de pasta dentífrica fluoretada, supervisão da escovagem dentária, consulta de medicina dentária até 4 anos de idade, ingestão de alimentos antes de ir para a cama, padrão alimentar.

* Modelos ajustados para o gênero da criança, idade e escolaridade maternas.

** Modelos ajustado para o gênero da criança, idade e escolaridade maternas, frequência da escovagem dentária e ingestão de alimentos antes de ir para a cama.

OR: *odds ratio*; IC: intervalo de confiança, Ref.: classe de referência.

Os fatores modificáveis para a cárie dentária avaliados neste estudo foram rastreados aos 4 e aos 7 anos de idade. Os padrões alimentares “Alimentos densamente energéticos” e “*Snacking*” aos 4 anos de idade aumentam significativamente a probabilidade das crianças seguirem os mesmos padrões aos 7 anos de idade (OR=5,67 (IC 95%: 3,70-8,70); $p < 0,001$ e OR=14,64 (95% CI: 6,31-33,98); $p < 0,001$, respetivamente) (Gráfico 1 e 2).

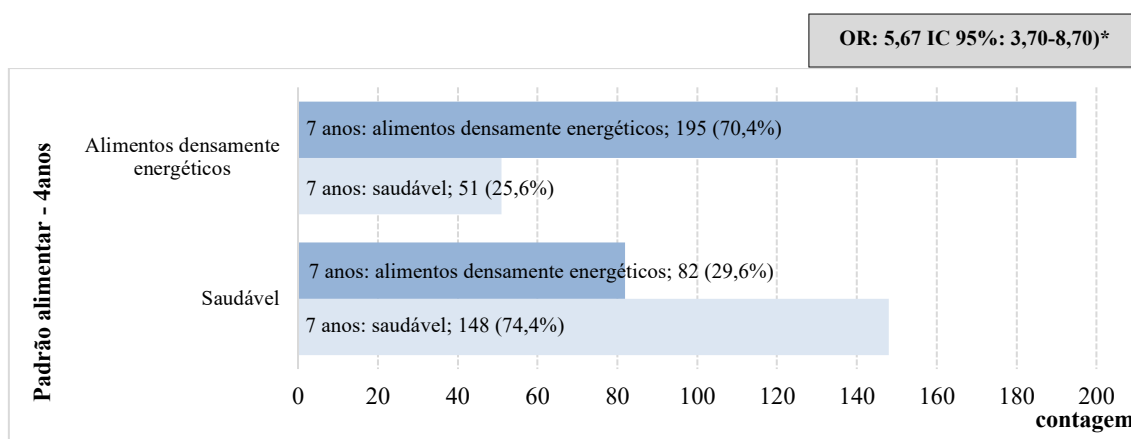


Gráfico 1. Associação entre o padrão alimentar “Alimentos densamente energéticos” aos 4 e aos 7 anos de idade.

* Modelo ajustado para o gênero da criança, idade e escolaridade maternas.

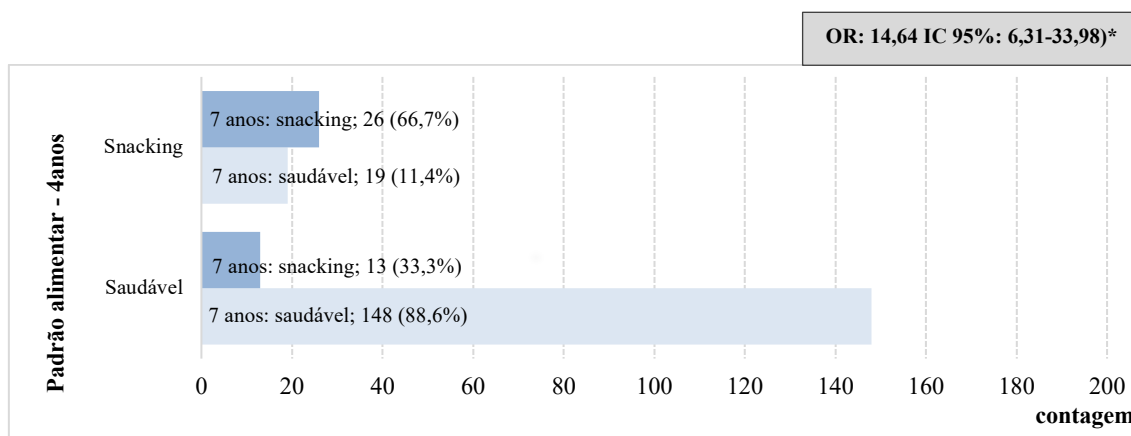


Gráfico 2. Associação entre o padrão alimentar “*Snacking*” aos 4 e aos 7 anos de idade.

* Modelos ajustado para o gênero da criança, idade e escolaridade maternas.

Da mesma forma, aos 4 anos de idade, a escovagem dentária realizada 2 ou mais vezes por dia, sendo 1 vez antes de dormir, existir uma escovagem dentária supervisionada e ingerir alimentos antes de deitar, após a escovagem dentária são comportamentos que aumentam significativamente a probabilidade das crianças seguirem os mesmos padrões comportamentais aos 7 anos de idade (OR=2,52 (95% IC: 1,78-3,56); $p<0,001$, OR=2,82 (IC 95%: 1,23-6,40); $p=0,014$ e OR=1,52 (IC 95%: 1,07-2,16); $p=0,020$, respetivamente) (Gráfico 3-5).

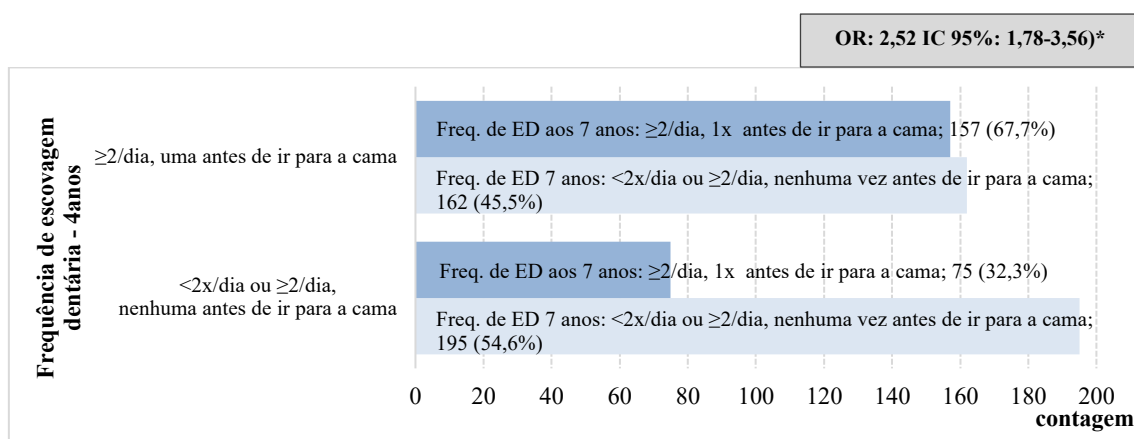


Gráfico 3. Associação entre a frequência da escovagem dentária aos 4 e aos 7 anos de idade.

Freq.: Frequência; ED: escovagem dentária; 1x: uma vez.

* Modelos ajustado para o gênero da criança, idade e escolaridade maternas.

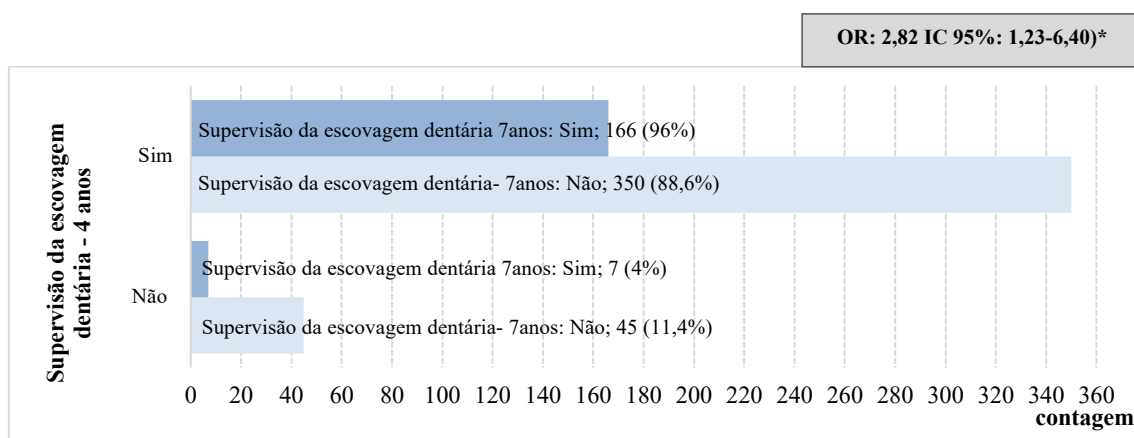


Gráfico 4. Associação entre a supervisão da escovagem dentária aos 4 e aos 7 anos de idade.

* Modelos ajustado para o gênero da criança, idade e escolaridade maternas.

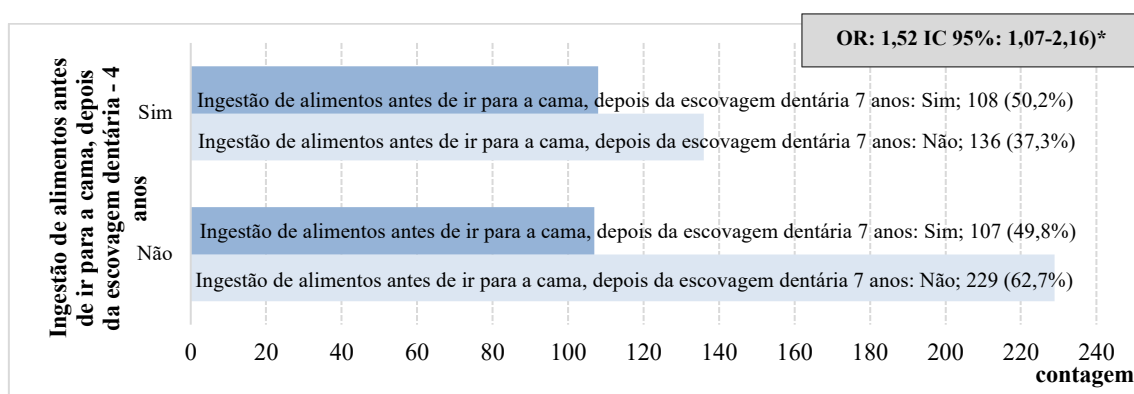


Gráfico 5. Associação entre a ingestão de alimentos antes de ir para a cama, depois da escovagem dentária aos 4 e aos 7 anos de idade.

* Modelos ajustado para o gênero da criança, idade e escolaridade maternas.

Relativamente à utilização de pasta dentífrica fluoretada não é possível calcular o valor do coeficiente de associação para este comportamento face à existência de classes sem frequência contabilizada (Gráfico 6).

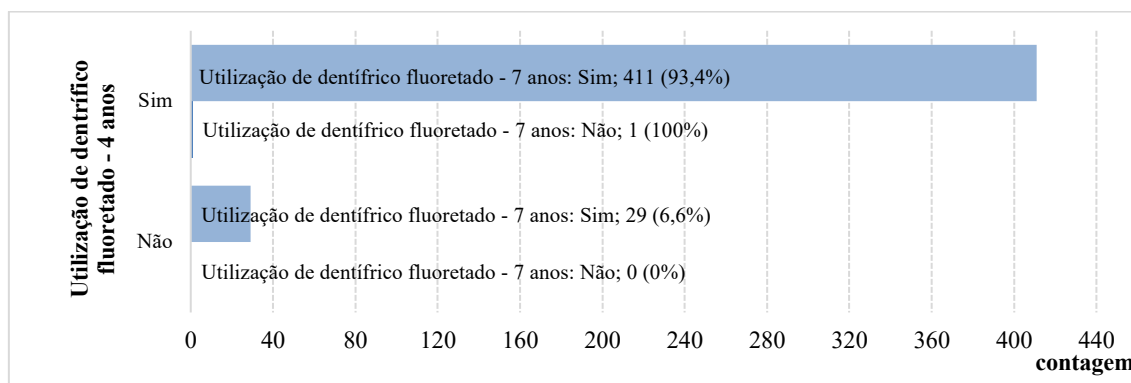


Gráfico 6. Frequência da utilização de dentífrico fluoretado aos 4 e aos 7 anos de idade.

4. Discussão

A realização deste estudo longitudinal, pela abrangência dos dados recolhidos, permitiu uma melhor compreensão relativa à ponderação dos fatores de risco para o desenvolvimento de novas lesões de cárie dentária num período crítico da saúde oral das crianças, a fase inicial da transição da dentição decídua para a fase mista da dentição.

Os resultados deste estudo demonstraram que aos 4 anos de idade a ingestão de alimentos antes de dormir após a escovagem dentária e apresentar um padrão alimentar característico de consumo de “Alimentos densamente energéticos” e “*Snacking*” são fatores de risco significativo para o G-DCD aos 7 anos de idade. O padrão de consumo de “Alimentos densamente energéticos” foi também um fator de risco significativo para o DCD na mesma idade. Estes resultados apontam para o facto de não ser apenas a ingestão de hidratos de carbono fermentáveis que implica o desenvolvimento de cárie, mas também os comportamentos e as circunstâncias relacionadas com o seu consumo.

Na amostra deste estudo, os fatores relacionados com a alimentação aos 4 anos surgem com maior relevância para o desenvolvimento de novas lesões de cárie aos 7 anos do que

os comportamentos, especificamente, relacionados com os cuidados de saúde oral. Salienta-se ainda, que os comportamentos relacionados com a dieta foram para esta amostra fatores de risco muito importantes para o desenvolvimento de novas lesões de cárie dentária, mas sobretudo preponderantes quando foi considerada a gravidade da doença (mais de 2 dentes com novas lesões de cárie, ou mais de 2 dentes obturados ou perdidos por cárie). Observou-se também que os comportamentos adotados em idades muito jovens persistem na idade escolar.

Atualmente, é profusamente aceite que a desorganização mecânica dos biofilmes cariogénicos consiste num dos principais pilares da prevenção da cárie dentária ^(137,385). No entanto, nesta análise prospetiva a maior frequência de escovagem dentária especificamente antes de deitar não foi associada com uma menor incidência de cárie dentária aos 7 anos. A respeito deste assunto, alguns estudos reportaram uma relação inversa entre a frequência de escovagem dentária e a experiência de cárie dentária nas crianças ^(126,395), enquanto que outros não observaram nenhuma associação ⁽¹⁵⁵⁾.

A base de evidência sobre a associação deste hábito com a cárie dentária nas crianças parece pouco robusta, principalmente quando as análises são realizadas considerando apenas a frequência de escovagem dentária ⁽¹³⁷⁾. A escovagem dentária *per si* está associada a diversos fatores que podem afetar os resultados obtidos. Na tentativa de ultrapassar esse inconveniente foram considerados nesta análise outros fatores relacionados com a escovagem dentária como, a utilização de dentífrico fluoretado, o momento da escovagem dentária e a supervisão da mesma. A inclusão destas variáveis permitiu a obtenção de resultados mais robustos e confiáveis.

A relação significativa entre o hábito de ingerir alimentos antes de deitar após a escovagem dentária e a incidência de cárie dentária reportada neste estudo é consistente com estudos previamente publicados ^(94,101). Todavia, esta associação suscita duas questões importantes: será que a ingestão de alimentos antes de deitar pode fazer parte de um consumo geral aumentado na ingestão de açúcares livres ⁽⁹⁴⁾? Ou será que a ingestão antes de deitar *per si*, independentemente da quantidade de açúcar ingerida durante o dia, pode ser o determinante mais importante no desenvolvimento de novas lesões de cárie?

É do conhecimento geral que durante o sono, o fluxo salivar diminui significativamente, reduzindo consequentemente, o efeito tampão da saliva na cavidade oral contribuindo para a alteração do equilíbrio oral na direção da desmineralização e, portanto, aumenta consideravelmente o risco de cárie dentária ⁽³⁷⁾. No entanto, numa perspectiva analítica global sobre os resultados deste estudo, especula-se que as crianças da amostra considerada apresentavam um padrão aumentado de consumo de alimentos cariogénicos ao longo do dia, o qual também era mantido à noite antes de deitar.

Os resultados deste estudo demonstraram que as crianças que aos 4 anos apresentavam um padrão alimentar com consumo de “Alimentos densamente energéticos” e “*Snacking*”, comparativamente com as crianças com um padrão alimentar “Saudável” apresentaram um maior risco de G-DCD e DCD aos 7 anos de idade. O elevado consumo de alimentos e bebidas pobres em micronutrientes e densos em energia, como doces e bebidas adoçadas com açúcar, características do padrão “Alimentos densamente energéticos”, pode justificar a associação positiva observada com a incidência de cárie nas crianças entre os 4 e os 7 anos de idade. Esta associação também foi verificada em estudos previamente publicados com características semelhantes. Sendo de evidenciar nesses estudos que as bebidas açucaradas foram identificadas como um preditor mais forte para o desenvolvimento de novas lesões de cárie dentária comparativamente com os alimentos cariogénicos consumidos na infância ^(381,395–397). Os resultados do presente estudo corroboram estes achados, uma vez que foi verificado que a maior ingestão de bebidas cariogénicas estava associada a uma maior prevalência de cárie dentária tanto aos 4 como aos 7 anos. Curiosamente, outros estudos realizados com crianças de faixas etárias mais jovens não verificaram uma associação entre o consumo de bebidas e/ou alimentos cariogénicos e a cárie dentária ^(398,399).

O padrão alimentar “*Snacking*” é caracterizado por um consumo intermédio a alto de determinados alimentos entre as principais refeições, hábito que promove a disponibilidade contínua de hidratos de carbono na cavidade oral. Essas fontes de nutrientes fornecem substratos para a produção constante de ácidos bacterianos que promovem uma queda dos valores do pH no biofilme dentário e, dessa forma, favorecem uma desmineralização sustentada dos tecidos dentários mineralizados. As quedas

contínuas do pH no biofilme dentário, ao longo do dia, resultante da ingestão frequente de alimentos pode explicar a associação positiva entre este padrão alimentar e o G-DCD.

Em Portugal, o Inquérito Nacional sobre Alimentação, Nutrição e Atividade Física (IAN-AF 2015–2016) reportou que as crianças entre os 5 e os 9 anos de idade apresentavam uma ingestão média de açúcares livres de 50g por dia. As principais fontes dietéticas dos açúcares livres foram os iogurtes e doces (alimentos vulgarmente consumidos como lanches), de evidenciar que uma menor ingestão de açúcares livres foi observada em crianças com pais mais escolarizados ⁽²¹²⁾. Neste sentido, é fundamental aconselhar as crianças e as populações de que a ingestão total de açúcares livres deve ser reduzida como parte de uma intervenção holística para a saúde geral e, em particular, para a saúde oral.

Aos 7 anos de idade, a proporção de crianças isentas de cárie ($c_{3-6pod}/C_{3-6}POD=0$) neste estudo (45,8%) foi ligeiramente superior à proporção de crianças de 6 anos reportada para a região Norte de Portugal (33,8% IC 95: 28,0-40,3) e semelhante à proporção evidenciada a nível nacional (41,4% IC 95%: 38,3-44,6) no III Estudo Nacional de Prevalência das Doenças Orais realizado entre 2012 e 2014 ^(179,400).

Apesar dos esforços preventivos que têm sido realizados nas últimas décadas, continua-se a assistir a um aumento significativo da cárie dentária em crianças. A elevada incidência da doença nestes indivíduos justifica a necessidade de estudos prospetivos abrangentes que contemplem metodologias rígidas de modo a que haja um conhecimento mais conciso e aprofundado sobre a doença e os seus principais determinantes. A necessidade deste domínio teórico reveste-se da maior importância para que seja alcançado um melhor planeamento das estratégias preventivas e da organização dos serviços, devidamente ajustados às necessidades particulares de cada população pediátrica.

4.1 Análise crítica

Neste estudo, as associações entre os padrões alimentares e os comportamentos de saúde oral com o desenvolvimento de novas lesões de cárie dentária foram abordadas longitudinalmente. Este desenho prospetivo permitiu estabelecer uma relação temporal de causalidade entre a exposição e a doença e, por isso, algumas das limitações de estudos

publicados previamente sobre esta temática, maioritariamente com desenho observacional transversal, puderam ser ultrapassadas nesta investigação.

Além do desenho prospetivo outro ponto forte deste estudo foi, especificamente, o período de acompanhamento de três anos ter sido considerado entre os 4 e os 7 anos de idade. O estudo de cárie dentária nesta faixa etária é de suma importância uma vez que corresponde ao início do período de transição da dentição decídua para a permanente e também, por nesta etapa erupcionar o dente considerado como de maior suscetibilidade à cárie dentária, o primeiro molar permanente. Paralelamente às alterações observadas na cavidade oral, esta fase corresponde igualmente a mudanças no ambiente social da criança, com o início do percurso escolar e por isso, a criança começa a ter um comportamento mais autónomo em relação, por exemplo, às suas escolhas alimentares no espaço escolar.

Nos critérios definidos para avaliação da cárie dentária, para efeitos de análise, foi considerado o ponto de corte 3 do ICDAS II (cavidade no esmalte, sem dentina visível). Esta decisão foi assumida com base no objetivo deste estudo assumir um domínio de saúde pública. Contudo, tal como reportado previamente no capítulo II secção I era conhecida a diversidade de pontos de corte utilizada nos diferentes estudos epidemiológicos, situação que independentemente do ponto escolhido para esta tipologia de investigação (código 3 ou 4 ICDAS II) representaria, invariavelmente, uma dificuldade acrescida na comparação dos resultados obtidos.

Adicionalmente, as lesões de cárie em fase de cavitação requerem tratamento e, portanto, apresentam implicações para as crianças e os seus cuidadores, assim como, para o sistema de saúde em termos de custos e capacidade. O método de avaliação de cárie utilizado corresponde ao que recentemente tem sido aplicado noutros estudos locais e nacionais de vigilância das doenças orais e, por isso, permite embora com dificuldades, a comparação com outros estudos epidemiológicos recentes ⁽³⁸⁷⁾.

Relativamente à amostra deste estudo é de salientar que os participantes são crianças que fazem parte de uma grande coorte de base populacional seguida regularmente na área metropolitana do Porto. Contudo, a inclusão de uma subamostra da coorte poderia ter introduzido algum viés na análise dos dados e, por esse motivo, foi realizada a comparação das características da amostra com a restante coorte tendo sido verificado

que não existiam diferenças estatisticamente significativas para a maioria dos parâmetros analisados. E mesmo para as diferenças observadas entre o rendimento familiar mensal da amostra e da coorte remanescente é mais provável que a diferença observada seja resultante do tamanho avultado da amostra do que a diferenças substanciais entre os participantes.

Os resultados obtidos neste estudo são, portanto, representativos da coorte Geração XXI, porém podem não refletir na íntegra todas as características das crianças portuguesas entre os 4 e os 7 anos de idade. Para esse propósito, ou seja, a generalização dos resultados para um patamar nacional seria necessário, entre outras considerações metodológicas, um aumento do tamanho da amostra.

Ainda sobre a natureza da amostra é de realçar que pelo facto das crianças pertencerem a esta coorte de seguimento foram recolhidos nos momentos de avaliação, dados extensivos de índole muito variável (social, comportamental e biológica) que permitiu que vários potenciais fatores de confundimento pudessem ser analisados. Salvaguarda-se, contudo, que alguns fatores de confundimento residuais não podem ser excluídos.

A avaliação do consumo alimentar pelo QFA é reportada na literatura também como uma possível limitação. No entanto, a comparação prévia que foi realizada entre o QFA com diários alimentares de três dias não consecutivos suporta uma validade razoável e confiabilidade dos dados obtidos através deste método.

5. Conclusões

Nas crianças aos 4 anos de idade, a ingestão de alimentos antes de deitar após a escovagem dentária e um padrão de consumo de “Alimentos densamente energéticos” e “*Snacking*” são fatores de risco importantes para o G-DCD aos 7 anos de idade.

Os resultados deste estudo demonstraram a pertinência e necessidade da implementação de estratégias eficazes na tentativa de reduzir o consumo de alimentos açucarados nos lanches, assim como, reduzir globalmente o consumo de alimentos pobres em

m micronutrientes com alta densidade energética pelas crianças com o propósito da proteção da sua saúde geral e, especificamente, da sua saúde oral.

Do ponto de vista da saúde pública, o desenvolvimento de políticas alimentares como Portugal tem vindo a implementar no sentido de tributar as bebidas açucaradas e regular a disponibilidade de alimentos com elevado teor de açúcar nas escolas e em unidades de saúde, deve ser reforçado e continuamente promovido ⁽²¹²⁾. No contexto clínico, o médico dentista deve reforçar com periodicidade, junto das crianças e dos seus cuidadores, a importância da adoção de comportamentos de saúde oral adequados e ajustados ao risco individual de cárie que cada criança apresenta.

6. Tópicos prementes de consideração

Apesar de neste estudo ter sido possível determinar relações causais entre os fatores de risco de índole comportamental e a incidência da cárie entre os 4 e os 7 anos de idade, muitos dos mecanismos que estão subjacentes ao início e progressão desta doença, nas crianças, permanecem por esclarecer de forma efetiva.

Neste estudo ficou evidenciada a importância da dieta, nomeadamente, os comportamentos alimentares inadequados como fatores etiológicos de elevada relevância para a cárie dentária no período pós-eruptivo. Contudo, a nutrição e a dieta podem atuar de forma sistémica e local, respetivamente, no processo de formação da lesão de cárie. Embora seja reconhecido que o efeito local seja o mais significativo, a suscetibilidade para desenvolver a doença, na presença de hidratos de carbono, pode ser influenciada pela qualidade da estrutura dentária ⁽¹¹³⁾.

Com base nesta premissa relacionada com o impacto da nutrição no período da odontogénese e aliando o conhecimento de que os valores da prevalência da cárie dentária permanecem alarmantes na população pediátrica (apesar das medidas preventivas elencadas nas últimas décadas sobretudo relacionadas com os fatores comportamentais), justifica-se e torna-se pertinente a investigação direcionada não só para os determinantes “clássicos” da cárie dentária, mas também, de outros determinantes de natureza sistémica que podem influir na suscetibilidade para esta doença.

Alicerçada nesta proposição, emergiu a motivação primordial para a elaboração dos dois capítulos seguintes desta dissertação.

CAPÍTULO IV

– Cárie dentária e vitamina – Revisão sistemática

IV – Cárie dentária e vitamina D – Revisão sistemática

Níveis insuficientes de vitamina D durante a gestação e a infância estão associados a um aumento da prevalência e/ou experiência de cárie dentária nas crianças?

1. Introdução e objetivo

Nas últimas décadas, tal como ficou evidenciado no capítulo II – seção I e no capítulo III desta dissertação, os esforços realizados com o intuito da prevenção da cárie dentária nas crianças foram maioritariamente direcionados aos fatores relacionados com os comportamentos adotados a nível individual. No entanto, assente na premissa de que outros fatores podem estar subjacentes ao início e progressão da cárie dentária, ou então apresentar um efeito protetor sobre a doença, torna-se também pertinente a investigação de outros mecanismos que podem complementar as medidas preventivas veiculadas presentemente.

Nesse contexto, a identificação de potenciais fatores e fenómenos bioquímicos que podem influir na suscetibilidade da estrutura dentária é, deveras, relevante para a implementação de abordagens preventivas numa fase precoce da vida das crianças. Ao considerar as influências biológicas na cárie dentária, tem sido direcionada uma especial atenção para a qualidade da estrutura dos tecidos dentários duros, nomeadamente, refletida nos DDE.

Os DDE ocorrem devido a desequilíbrios biológicos que afetam as células envolvidas na formação e maturação do esmalte ⁽¹¹²⁾. São vários os estudos que têm destacado a sua influência biológica como principais fatores de risco para o desenvolvimento da cárie dentária na dentição decídua ^(114,357,401–404) e na dentição permanente ^(113,120,405).

Atualmente, a evidência científica sobre os fatores etiológicos dos DDE, assim como, sobre o mecanismo que lhes está inerente, permanece inconclusiva. Presume-se que as condições locais, sistémicas, genéticas e ambientais afetem a odontogénese durante a gravidez e nos primeiros anos de vida. Entre os vários fatores de risco maternos e infantis

que podem estar na origem dos DDE salienta-se a nutrição inadequada no período da odontogénese^(117,119).

A calcificação óssea e dos tecidos dentários ocorre, em grande parte, em função da nutrição desde a concepção até à puberdade. Particularmente, a mineralização dentária depende de um amplo número de micronutrientes entre os quais a vitamina D que pode eventualmente assumir uma supremacia⁽⁶⁻⁹⁾ em relação, por exemplo, à vitamina B6⁽⁴⁰⁶⁾ e à vitamina K⁽⁴⁰⁷⁾, sobre as quais também se especula uma possível associação com a cárie dentária^(8,408).

No entanto, sobre a influência da vitamina D nos tecidos dentoalveolares, são vários os possíveis mecanismos que têm sido propostos para explicar a função da vitamina D na redução do risco de cárie dentária⁽¹⁰⁾. Entre estes mecanismos destacam-se três, tal como previamente apresentado no capítulo II, secção II. De forma sumária salienta-se o papel da vitamina D:

- 1) na regulação do níveis séricos de cálcio, fosfato e da PTH: a homeostasia é essencial para a formação, calcificação, mineralização e manutenção dos tecidos ósseos e dentário⁽³⁵³⁾, sendo que os níveis de deficiência/insuficiência de vitamina D ocasionam episódios de hipocalcemia e hipofosfatemia que favorecem a ocorrência de defeitos de dentina e esmalte^(6,10);
- 2) no controlo da odontogénese: O VDR é expresso nos odontoblastos e nos ameloblastos que são células-alvo para a vitamina D, assim como, influencia as proteínas da matriz extracelular da dentina e as proteínas de ligação. Consequentemente, a deficiência em vitamina D ocasiona distúrbios na formação e desenvolvimento do dente favorecendo a ocorrência de hipoplasia de esmalte e hipomineralização dentinária^(6,409);
- 3) na regulação e modulação do sistema imunitário: a vitamina D liga-se, através do seu recetor, e regula alguns peptídeos antimicrobianos como as defensinas e catelicidinas, as quais conferem proteção contra bactérias cariogénicas. Níveis de deficiência de vitamina D propiciam a diminuição destes peptídeos antimicrobianos, ocasionando uma redução na resposta do hospedeiro aos micro-organismos cariogénicos, aumentando o risco de cárie dentária^(6,362,410).

Mediante a plausibilidade biológica dos mecanismos subjacentes à relação entre os níveis de deficiência/insuficiência de vitamina D e o aumento do risco de cárie dentária, algumas investigações têm sido publicadas com o desígnio da análise desta associação.

Durante a gravidez, os níveis maternos de vitamina D podem influenciar a suscetibilidade da dentição decídua para o desenvolvimento de CPI ⁽⁴¹¹⁾, assim como, os níveis adequados de vitamina D na infância podem desempenhar um papel na prevenção da cárie dentária ⁽⁸⁾. Porém, os resultados dos estudos realizados são contraditórios, tornando-se a evidência inconclusiva ⁽⁷⁾.

Um estudo piloto reportou uma correlação positiva entre os baixos níveis pré-natais de vitamina D e a prevalência de hipoplasia de esmalte nos incisivos decíduos ⁽³⁵⁷⁾. Por outro lado, um estudo randomizado mendeliano realizado numa grande amostra de crianças europeias não observou nenhuma correlação entre os níveis de 25(OH) D e a cárie dentária ⁽⁷⁾.

Ademais aos estudos realizados, apenas uma revisão sistemática foi publicada sobre esta temática ⁽⁸⁾, na qual foram incluídos ensaios clínicos controlados reportando o papel da suplementação com vitamina D na dieta ou através da radiação ultravioleta, na prevenção da cárie dentária. Nesta revisão de Hujoel não existiu qualquer restrição relativamente ao método de análise dos níveis de vitamina D ou às características dos participantes incluídos.

Neste sentido, tornou-se premente a realização de uma revisão sistemática da literatura que permitisse, através da aplicação de critérios metodológicos rígidos, a consecução de um conhecimento exato e conciso sobre a influência dos níveis séricos de vitamina D, na gestação e na infância, e a prevalência da cárie dentária nas crianças.

Com a finalidade de cumprir o propósito enunciado foi realizada uma revisão sistemática da literatura com o objetivo de avaliar a associação entre os níveis pré-natais e infantis de vitamina D e a prevalência e/ou experiência de cárie dentária na dentição decídua, fase mista da dentição e dentição permanente das crianças. Pretendeu-se, responder à seguinte questão: Os níveis insuficientes de vitamina D no período pré-natal ou na infância estão associados a uma maior prevalência e/ou experiência de cárie dentária nas crianças

comparativamente com as crianças que apresentam níveis suficientes de 25(OH) D na infância ou no período pré-natal?

2. Materiais e métodos

2.1 Desenho do estudo

A questão deste estudo foi formulada com base na estratégia PECO (População, Exposição, Comparação, *Outcome*).

População: crianças com idade inferior a 13 anos, sem doenças sistêmicas;

Exposição: níveis insuficientes de vitamina D (25(OH) D <75 nmol/L (<30 ng/ml) ou 25(OH) D <50 nmol/L (<20 ng/ml) durante o período pré-natal e/ou na infância, avaliados por método laboratorial;

Comparação: níveis suficientes de vitamina D (25(OH) D ≥75 nmol/L ou 25(OH) D ≥50 nmol/L) durante o período pré-natal e/ou na infância, avaliados por método laboratorial;

Outcome (Resultado): associação entre a prevalência e/ou experiência de cárie dentária e os níveis insuficientes de vitamina D durante a gestação e a infância.

2.2 Estratégia de pesquisa

A pesquisa sistemática da literatura foi realizada nas bases de dados eletrônicas: MEDLINE (PubMed), B-ON (Academic Search Complete, Gale in Context: Science, Directory of Open Access Journals and Science Direct), Web of Science, Scopus, e Cochrane Central Register of Controlled Trials. Foram definidos os termos de pesquisa, os quais foram combinados através da utilização de operadores booleanos. A estratégia de pesquisa é apresentada no Anexo 12.

Esta perquirição científica foi restrita a artigos publicados em idioma inglês, entre 1 de janeiro de 1998 a 31 de outubro de 2019. A limitação temporal estabelecida teve em consideração alguns aspetos metodológicos que poderiam conduzir a conclusões pouco representativas da situação atual. Os artigos publicados previamente ao ano de 1998

utilizavam técnicas de doseamento de vitamina D com uma grande variabilidade e imprecisão. Por outro lado, os comportamentos das crianças eram substancialmente diferentes, nomeadamente a dieta, com um menor consumo de açúcares livres, e os comportamentos de saúde oral, no que diz respeito ao acesso e à exposição aos fluoretos. Pelos motivos elencados foi estipulado o limite temporal enunciado.

2.3 Elegibilidade

Para a seleção dos artigos foram estipulados os seguintes critérios de inclusão:

- tipologia do estudo: ensaios clínicos controlados randomizados, estudos de coorte, caso-controlo e transversais;
- estudos que avaliavam a prevalência e/ou experiência de cárie em crianças até aos 12 anos de idade;
- estudos nos quais a avaliação da prevalência e/ou experiência de cárie na dentição decídua, fase mista da dentição ou dentição permanente foi realizada por um profissional de saúde;
- estudos nos quais os níveis de vitamina D foram avaliados através de método laboratorial.

Foram considerados os seguintes fatores de exclusão:

- estudos realizados em crianças com doenças sistémicas;
- estudos nos quais a avaliação da cárie dentária foi efetuada através da aplicação de questionários aos responsáveis;
- estudos que avaliavam outra condição/doença oral que não a cárie dentária.

Nesta revisão foram considerados os valores de referência para os níveis de vitamina D do relatório do IOM ⁽²⁶⁴⁾ e das Diretrizes para a prática clínica da *Endocrine Society* ⁽²⁶²⁾. O relatório do IOM considera que os níveis adequados de vitamina D variam entre os 50 e 125 nmol/L, enquanto a *Endocrine Society* reporta que a concentração sérica suficiente de 25(OH) D deve ser igual ou superior a 75 nmol/L.

2.4 Seleção dos artigos e extração da informação

Dois investigadores (C.C.S. e P.M.) de forma independente realizaram a triagem inicial de todos os títulos e *abstracts* dos artigos considerados. Nos casos de discrepâncias relativas à revisão foi consultado um terceiro investigador (S.G) e as diferenças foram resolvidas por consenso.

A estratégia para a extração dos dados foi previamente estabelecida, sendo definida com base no desenho e local do estudo, características das amostras, níveis de 25(OH) D e as técnicas utilizadas para o seu doseamento, *outcome* avaliado e como foi medido, análise estatística incluindo o ajuste para fatores de confundimento, resultados gerais, direção do efeito e força da associação. Em caso de discordância um terceiro investigador (M.C.M.) foi consultado e os desacordos foram resolvidos por consenso.

Os dados foram extraídos dos artigos tal como estavam descritos nos estudos. A avaliação da prevalência e/ou experiência de cárie na dentição decídua, fase mista da dentição e dentição permanente, foi considerada como prevalência, valor médio do índice cpod/CPOD, cpos/CPOS, ou componentes individuais deste índice.

2.5 Risco de viés

A qualidade metodológica dos estudos foi avaliada por dois investigadores (C.C.S. e P.M.) com recurso a uma ferramenta da *Cochrane* para análise de viés em ensaios clínicos controlados randomizados ⁽⁴¹²⁾ e à escala Newcastle-Ottawa para estudos de coorte ⁽⁴¹³⁾ e uma versão modificada desta ferramenta para estudos transversais.

A escala Newcastle-Ottawa compreende oito itens distribuídos em três categorias: seleção (quatro itens), comparação (um item) e resultado (três itens). Os estudos recebem uma pontuação até nove pontos, sendo que cada item representa um ponto, exceto o item de comparação, que pode representar até dois pontos. A versão modificada desta escala utilizada para estudos transversais tem um número semelhante de categorias, contudo, a categoria de resultado inclui dois itens em vez de três; assim, totaliza até oito pontos ⁽⁴¹³⁾. Estudos com uma pontuação acima da mediana são classificados como estudos de elevada qualidade ⁽⁴¹⁴⁾: estudos de coorte com pontuação maior do que 4,5 e estudos transversais com pontuação maior do que 4.

A heterogeneidade entre os estudos foi avaliada com base nos seguintes parâmetros: condições de observação, instrumentos/equipamentos para a realização do diagnóstico de cárie dentária, métodos laboratoriais para a determinação dos níveis de vitamina D e características da amostra. Um elevado grau de heterogeneidade clínica e metodológica foi observado entre os estudos incluídos. As técnicas para o doseamento dos níveis de 25(OH) D, assim como, os métodos e critérios usados para avaliar a presença de cárie dentária foram reportados de diferentes formas. Os pontos de corte divergentes, a variedade de análises estatísticas e de medidas sumárias entre os estudos, especialmente relativos à cárie dentária, impossibilitaram a realização de uma meta-análise. Pelos motivos acima elencados foi realizada uma síntese narrativa dos estudos incluídos.

3. Resultados

3.1 Seleção e características dos estudos

As instruções do *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) ⁽⁴¹⁵⁾ foram seguidas ao longo do processo de seleção dos artigos. O diagrama de fluxo PRISMA apresentado na Figura 8 descreve a estratégia metodológica seguida para a inclusão e exclusão das referências bibliográficas.

A pesquisa bibliográfica inicial nas bases de dados eletrônicas resultou na seleção de 397 artigos potencialmente relevantes. Adicionalmente, dois artigos foram incluídos por pesquisa manual das referências dos artigos selecionados. Após a eliminação das publicações duplicadas (n=151), os títulos e resumos de 248 artigos foram avaliados. Após esta análise foram considerados 37 artigos para leitura completa, dos quais 24 foram excluídos por não cumprirem os critérios de elegibilidade estipulados (Figura 8 e Anexo 13).

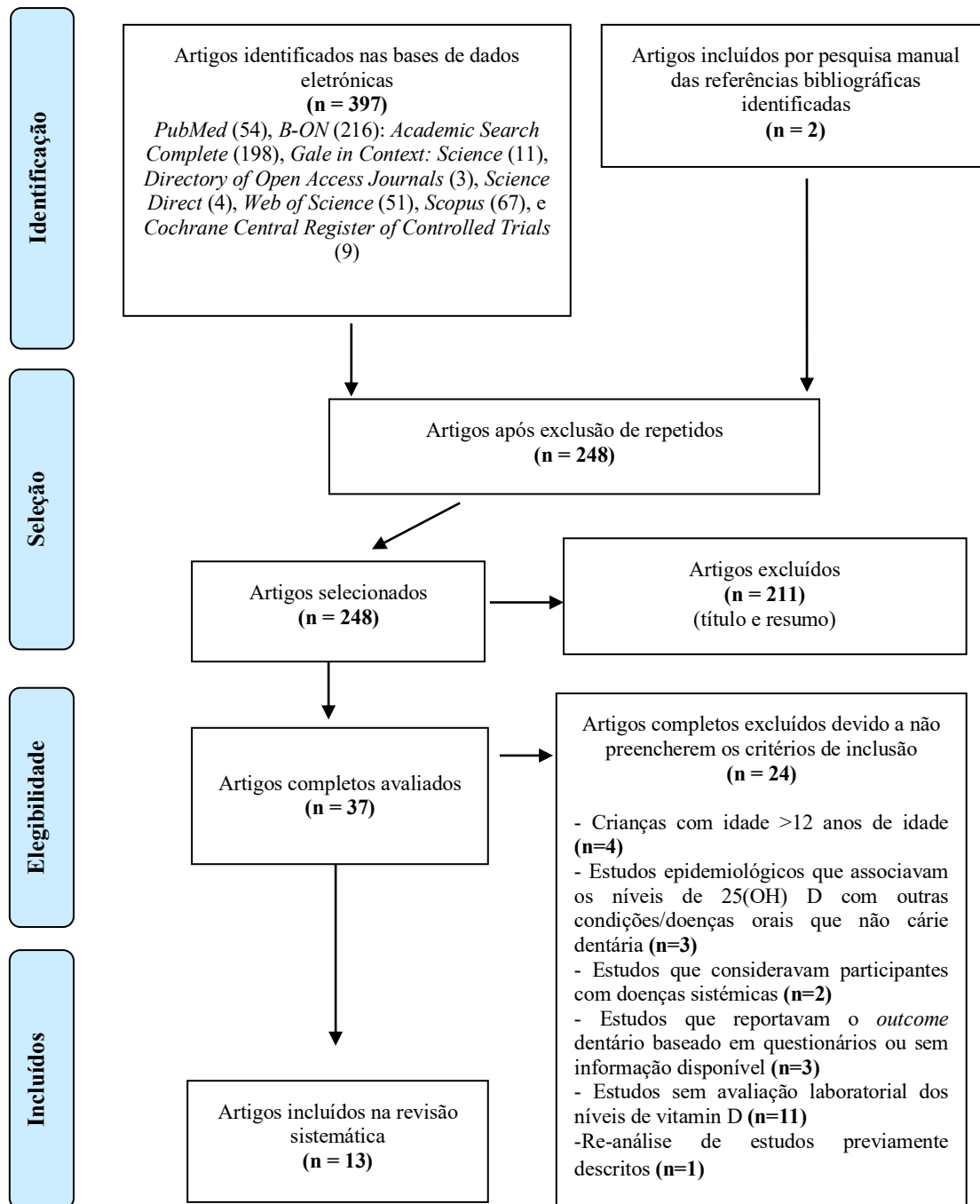


Figura 8. Diagrama de fluxo PRISMA com a informação sobre as diferentes fases da seleção dos artigos.

Em suma, para a realização desta revisão sistemática foram selecionados 13 artigos que relacionavam a prevalência e/ou experiência de cárie dentária com os níveis séricos de vitamina D em crianças entre os 12 meses e os 12 anos de idade.

Relativamente à tipologia dos estudos foi incluído um ensaio clínico controlado randomizado ⁽³⁵⁶⁾, quatro estudos de coorte ^(14,353,354,416) e oito estudos transversais ^(11-13,346,360,361,417,418).

Oito estudos ^(11,14,346,353,354,356,416,418) avaliaram o impacto dos níveis de 25(OH) D na prevalência e/ou experiência de cárie dentária na dentição decídua, dos quais cinco ^(14,353,354,356,416) examinaram a influência dos níveis pré-natais e três ^(11,346,418) dos níveis registados na infância. Três estudos ^(12,13,361) avaliaram a prevalência e/ou experiência de cárie na fase mista da dentição e dois ^(360,417) na dentição permanente. Dois dos estudos anteriores ^(356,417) avaliaram, concomitantemente, o *outcome* dentário na dentição decídua e permanente.

3.2 Síntese dos principais resultados

O conteúdo dos artigos em análise é apresentado na Tabela 9.

Relativamente à associação entre os níveis séricos de vitamina D maternos e infantis com a prevalência e/ou experiência de cárie na dentição decídua, verifica-se uma ligeira discrepância nos resultados obtidos.

Tabela 9. Características dos estudos incluídos na revisão sistemática

Autor/ Ano/ País	Desenho do estudo	Método para avaliação dos níveis de 25(OH) D	Participantes	n	Cárie dentária					Estatísticas ajuste para os confundidores	Critério de diagnóstico de cárie	Resultado (OR; 95% IC; ou valor de p)	
					Dentição decidua		Fase mista da dentição		Dentição permanente				
					Preva- lência (%)	cpod ou cpes média±dp	Preva- lência (%)	cos/COS	Preva- lência (%)				CPOD ou CPOS média±dp
Norris- gaard <i>et al.</i> ⁽³⁵⁶⁾ (2019) † Dinamarca	Ensaio clínico duplo cego, centro único randomi- zado	Espectrometria de massa- cromatografia líquida da isótopo-diluição	Suplementa- ção durante a gravidez	496								Lesões cavitadas (OMS, 2013) Regressão logística ^a – dentição decidua: (participação nos ácidos gordos polinsaturados ω-3 de cadeia longa, género, estação do ano de nascimento, nível materno de vitamina D ₃ na randomização, e estatuto socioeconómico) regressão logística ^b – dentição permanente: (modelo ^a e número de 1 ^{os} MP erupcionados)	Associação não encontrada OR=1,01, 95%IC: 0,65-1,59 ^a OR=1,32, 95%IC: 0,41-4,48 ^b Não foi verificada uma associação entre a suplementação com doses elevadas de vitamina D ₃ e a cárie dentária em ambas as dentições
			2800 UI/dia		20,1				4,7				
			400 UI/dia	6 anos	20,2				3,8		OR=0,54, 95%IC: 0,30-0,94 ^a OR=0,42, 95%IC: 0,23-0,73 ^b O risco de DDE na dentição permanente e decidua foi menor nas crianças de mães que receberam maior dose de vitamina D ₃		
Single- ton <i>et al.</i> ⁽³⁵⁴⁾ (2019) † Alasca (EUA)	Coorte (retrospe- tivo)	Radioimuno- ensaio	Cordão umbilical									Lesões não- cavitadas e Lesões cavitadas (Associação Dentária Americana, 2015)	Associação encontrada 25(OH) D do cordão umbilical e cárie entre 12 e 35 meses p=0,002 ^b , crianças com níveis de 25(OH) D<30nmol/L apresentavam um cpod médio 2x maior do que as crianças com 25(OH) D ≥30nmol/L Associação não encontrada 25(OH) D do cordão umbilical e cárie entre 36 e 59 meses p=0,140 ^b , não existe uma diferença significativa no cpod médio das crianças com défice vs. não-défice de 25(OH)D no cordão umbilical Não se verificaram diferenças significativas nos valores médios de cpod nas crianças de 12 a 35 meses e 36 a 59 meses, cujos níveis pré-natais de 25(OH) D das mães estavam acima ou abaixo de 50 nmol/L
			25(OH) D: <30nmol/L ≥30nmol/L	57		cpod médio							
					12-35 9,3 (1,1) 4,7 (0,9)	36-59 10,9 (1,0) 8,7 (1,1)							
			Grávida										
			25(OH) D: <50nmol/L ≥50nmol/L e <75nmol/L	76	9,0 (2,5) 7,4 (1,0)	14,4 (1,0) 10,1 (1,1)							
			12-59 meses										

Tabela 9. Características dos estudos incluídos na revisão sistemática

Autor/ Ano/ País	Desenho do estudo	Método para avaliação dos níveis de 25(OH) D	Participantes	n	Cárie dentária					Estatísticas ajuste para os confundidores	Critério de diagnóstico de cárie	Resultado (OR; 95% IC; ou valor de p)	
					Dentição decidua		Fase mista da dentição		Dentição permanente				
					Preva- lência (%)	cpod ou cpes média±dp	Preva- lência (%)	cos/COS	Preva- lência (%)				CPOD ou CPOS média±dp
Silva et al. ⁽¹⁴⁾ (2019) † Austrália	Coorte de gêmeos (prospe- tivo)	Imunoensaio de quimilumines- cência	Grávida às 28 semanas de gestação	329	Qualquer cárie: 32,0				Regressão linear ^a , regressão logística múltipla ^b (idade, gênero, obesidade materna, hábito tabágico no 2º e 3º trimestre da gravidez, corionicidade, vitamina D ao nascimento, água fluoretada, hipomineralização de 2ºs molares deciduos)		Qualquer cárie: incluindo lesões não cavitadas e/ou tratamentos passados	Associação não encontrada Cárie avançada Vitamina D ao nascimento: OR=1,50, 95%IC: 1,04-2,15, p=0,030 ^a , conforme o nível de vitamina D ao nascimento aumenta em 20 nmol/L, a probabilidade de cárie aumenta 1,5x	
			Cordão umbilical concentrações de 25(OH) D como vaiável contínua	241	Carie avançada: 24,1				Regressão logística múltipla ^c (idade, gênero, obesidade materna, vitamina D materna às 28 semanas, hábito tabágico no 2º e 3º trimestre da gravidez, corionicidade, água fluoretada, hipomineralização de 2ºs molares deciduos)	Cárie avançada: lesão de cárie código 4-6 ICDAS e/ou tratamentos passados			Cárie avançada Vitamina D ao nascimento: OR=1,41, 95%IC: 0,90-2,21, p=0,130 ^b Vitamina D materna: OR=1,49, 95%IC: 0,90-2,45, p=0,120 ^c Não foi encontrada associação entre a vitamina D materna ou ao nascimento e cárie nos molares e caninos decíduos
			6-7 anos										
Korun et al. ⁽⁴¹⁶⁾ (2017) † Chipre	Coorte (prospe- tivo)	Imunoensaio de eletroquimilolu- minescência	Cordão umbilical: 25(OH) D: <75nmol/L* ≥75nmol/L	50	CPI				Teste t ^a , regressão logística ^b (hábito de escovagem dentária da criança, hábito de escovagem dentária da mãe e estado de saúde dentária do pai), correlação de Pearson ^c		Lesões não cavitadas e Lesões cavitadas (Drury et al., 1999)	Associação encontrada p=0,002 ^a , níveis baixos de 25(OH) D foram significativamente associados ao desenvolvimento de CPI (comparação com grupo controle: CPI=0) p=0,039, 95%IC: 0,832-0,995 ^b r=-0,45, p=0,010 ^c , o valor médio do cpod apresentou uma correlação significativamente negativa com o nível de 25(OH) D do cordão umbilical	
				12-24 meses	28 6								
Schroth et al. ⁽³⁵³⁾ (2014) † Canadá	Coorte (prospe- tivo)	Radioimunoen- saio (DiaSorian®)	Gravidez 25(OH) D: <35nmol/L ≥35nmol/L <50nmol/L >50nmol/L	132	cd médio CPI				Teste de variância desigual de Aspin-Welch ^a , regressão logística ^b (metabolitos do soro, fatores que influenciam níveis de vitamina D (estação do ano), práticas de alimentação infantil,		Lesões não cavitadas e Lesões cavitadas	Associação encontrada p=0,030 ^a , crianças de mães com níveis ótimos de 25(OH) D (≥75 nmol/L) apresentavam de forma	
				12 meses	1,6±2,3 (0-10) 1,1±1,9 (0-9) 1,0±1,9 (0-10) 1,4±2,1 (0-9)								

Tabela 9. Características dos estudos incluídos na revisão sistemática

Autor/ Ano/ País	Desenho do estudo	Método para avaliação dos níveis de 25(OH) D	Participantes	n Idade	Cárie dentária						Estatísticas ajuste para os confundidores	Critério de diagnóstico de cárie	Resultado (OR; 95% IC; ou valor de p)
					Dentição decídua		Fase mista da dentição		Dentição permanente				
					Preva- lência (%)	cpod ou cpes média±dp	Preva- lência (%)	cos/COS	Preva- lência (%)	CPOD ou CPOS média±dp			
			<75nmol/L ≥75nmol/L		1,4±2,2 (0-10) 0.6±1.2 (0-4)				fatores socioeconômicos, estado de saúde oral e comportamentos de saúde oral), regressão logística (backward) ^c (rendimento e estado perante o trabalho, alimentação infantil, estação do ano e comportamentos de saúde oral), regressão de Poisson ^d Regressão logística para CPI (excluindo lesões de mancha branca)	(Drury et al., 1999)	estatisticamente significativa um menor valor médio de dentes cariados comparativamente com as crianças de mães com níveis abaixo deste valor de referência OR=2,02, 95%IC: 1,00-4,08, p=0,050^b , níveis mais baixos de 25(OH) D durante a gravidez foram significativamente associados com a CPI p=0,02^c , níveis mais baixos de 25(OH) D foram associados de forma significativa e independente com a CPI r= -0,013, 95%IC: 0,0085, p=0,002^d , níveis mais baixos de 25(HO) D foram associados com um maior número médio de dentes cariados		
Chhon- kar et al. ⁽¹¹⁾ (2018) ‡ Índia	Transversal	----	Criança 25(OH) D: <50nmol/L* >50nmol/L	60 3-6 anos	CPI Grave 69,05 5,56				Teste t^a, regressão linear simples ^b	Sem referência	Associação encontrada p<0,0001^a , os níveis séricos de 25(OH) D foram comparados entre os grupos: caso (CPI- G> 0) e controlo (CPI-G= 0), observou-se uma diferença estatisticamente significativa p<0,0001^b , correlação inversa estatisticamente significativa entre os níveis de 25(OH) D e a CPI-G		
Schroth et al. ⁽³⁴⁶⁾ (2013) ‡ Canadá	Transversal	Imunoensaio de eletroquimiolumi- nescência	Criança 25(OH) D: <35nmol/L ≥50nmol/L ≥75nmol/L	261 ≤71 meses	CPI Grave 75,0 50,9 44,8				Teste t^a, regressão logística ^b (idade que iniciou escovagem dentária, uso de biberão, saúde geral, valor médio de vitamina D, ingestão de gotas de	Definição de CPI Grave	Associação encontrada p<0,001^a , níveis médios de 25(OH) D foram significativamente mais		

Tabela 9. Características dos estudos incluídos na revisão sistemática

Autor/ Ano/ País	Desenho do estudo	Método para avaliação dos níveis de 25(OH) D	Participantes	n Idade	Cárie dentária					Estatísticas ajuste para os confundidores	Critério de diagnóstico de cárie	Resultado (<i>OR</i> ; 95% IC; ou valor de <i>p</i>)	
					Dentição decidua		Fase mista da dentição		Dentição permanente				
					Preva- lência (%)	cpod ou cpos média±dp	Preva- lência (%)	cos/COS	Preva- lência (%)				CPOD ou CPOS média±dp
									vitamina D, rendimento anual)	(AAPD, 2010)	baixos entre crianças com CPI-G do que nas do grupo controle OR=1,01, 95%IC: 1,00-1,02, <i>p</i>=0,040^b , níveis médios de vitamina D mais baixos foram significativamente associados com a CPI-G		
Schroth <i>et al.</i>^{(418) ‡} (2012) Canadá	Transversal	-----	Criança 25(OH) D: <25nmol/L ≥25nmol/L <75nmol/L ≥75nmol/L	38 <72 meses	CPI Grave 0,0 50,0 53,1 33,3				Teste t ^a, regressão logística (1º modelo: PTH e níveis de 25(OH) D) ^b (2º modelo: nível de escolaridade parental e níveis de 25(OH) D) ^c	Definição de CPI Grave (AAPD, 2010)	Associação não encontrada nos modelos multivariados <i>p</i> =0,032, (<i>one tailed</i>) ^a , crianças com CPI-G tinham níveis significativamente mais baixos de 25(OH) D do que as crianças sem cárie OR=2,2, 95%IC: 1,18-3,13; <i>p</i>=0,120^b, OR=1,7, 95%IC: 0,90-2,5; <i>p</i>=0,190^c, Níveis de 25(OH) D não foram associados com CPI-G		
Gyll <i>et al.</i>⁽³⁶¹⁾ (2018) § Suécia	Transversal (prospe- tivo)	Espectrometria de massa	Criança 25(OH) D: <50nmol/L >50nmol/L	85 8 anos		C3 4OS /C3 4OS 5,8 1,4			Teste X² ^a, regressão logística (1º modelo: número de dentes, escovagem dentária, presença/ausência de <i>S. mutans</i>, nível de educação do pai, local de residência) ^b, (2º modelo: 1º modelo+ IMC, toma de suplemento de vitamina D) ^c, (3º modelo: 2º modelo + tipo de pele) ^d, (método <i>Backward</i>) ^e	Lesões cavitadas (OMS, 1997) C3-4OS/ C3-4OS (3-4 lesões de cárie na dentina)	Associação encontrada (não totalmente consistente) <i>p</i> =0,084 ^a , níveis de vitamina D não diferiram entre crianças com ou sem cárie OR=0,961, 95%IC: 0,929-0,995; <i>p</i>=0,024^b , níveis mais altos de vitamina D foram significativamente associados a um menor número de lesões de cárie OR=0,962, 95%IC: 0,928-0,998; <i>p</i>=0,037^c , níveis mais elevados de vitamina D foram significativamente associados a um menor número de lesões de cárie		

Tabela 9. Características dos estudos incluídos na revisão sistemática

Autor/ Ano/ País	Desenho do estudo	Método para avaliação dos níveis de 25(OH) D	Participantes	n	Cárie dentária					Estatísticas ajuste para os confundidores	Critério de diagnóstico de cárie	Resultado (OR; 95% IC; ou valor de p)			
					Dentição decidua		Fase mista da dentição		Dentição permanente						
					Preva- lência (%)	cpod ou cpos média±dp	Preva- lência (%)	cos/COS	Preva- lência (%)				CPOD ou CPOS média±dp		
												OR=0,967, 95%IC: 0,931-1,005; <i>p</i>=0,085^d , atenuou ligeiramente os resultados <i>p</i>=0,010^e , níveis de 25(OH) D foram independentemente associados a ter cárie			
												Associação encontrada			
Schroth <i>et al.</i>⁽¹²⁾ (2016) § Canadá	Transversal	Imunoensaio de eletroquimiolu- minescência	Criança 25(OH) D: <50nmol/L ≥50nmol/L <75nmol/L ≥75nmol/L	1017			68,50		Regressão logística múltipla (escovagem dentária, consultas de MD pelo menos 1x/ano, bebidas açucaradas/dia, leite/dia, água fluoretada, nível de educação parental, rendimento familiar, seguro de saúde) ^a , método Backward^b		Sem referência	OR=0,46, 95%IC: 0,26-0,83; <i>p</i>=0,009^a , níveis de 25(OH) D ≥50 nmol/L foram associados de forma significativa e independente a um menor <i>odds</i> ajustado de desenvolvimento de cárie OR=0,68, 95%IC: 0,40-1,14; <i>p</i>=0,130^a , níveis de 25(OH) D ≥75 nmol/L não foram associados de forma significativa e independente com um menor <i>odds</i> ajustado de desenvolvimento de cárie <i>r</i>= -0,91, 95%Ep: 0,28, <i>p</i>=0,008^b , níveis de 25(OH) D ≥75 nmol/L foram associados de forma significativa e independente com menores valores médios de cpod/CPOD <i>r</i>= -0,80, 95%Ep: 0,42; <i>p</i>=0,060^b , níveis de 25(OH) D ≥50 nmol/L não foram associados a menores valores médios de cárie			
				6-11 anos			54,80						56,40		
							43,60								
Herzog <i>et al.</i>⁽¹⁵⁾ (2016) § EUA	Transversal	Radioimuno- ensaio	Criança 25(OH) D: <30nmol/L 30-49nmol/L 50-125nmol/L >125nmol/L	1103					Regressão logística multivariada^a (idade, gênero, raça, etnia, proporção de renda familiar para o limiar de pobreza, consumo de açúcar) ^b		Lesões cavitadas	Associação não encontrada OR=0,69, 95%IC: 0,37-1,29); <i>p</i>=0,224^a , nenhuma associação significativa entre os níveis de vitamina D e a experiência de cárie			

Tabela 9. Características dos estudos incluídos na revisão sistemática

Autor/ Ano/ País	Desenho do estudo	Método para avaliação dos níveis de 25(OH) D	Participantes	n Idade	Cárie dentária					Estatísticas ajuste para os confundidores	Critério de diagnóstico de cárie	Resultado (<i>OR</i> ; 95% IC; ou valor de <i>p</i>)	
					Dentição decidua		Fase mista da dentição		Dentição permanente				
					Preva- lência (%)	cpod ou cpos média±dp	Preva- lência (%)	cos/COS	Preva- lência (%)				CPOD ou CPOS média±dp
OR=0,65, 95%IC: 0,27-1,52; <i>p</i> =0,296 ^b , nenhuma associação significativa entre os níveis de vitamina D e a experiência de cárie													
Kühnisch <i>et al.</i> ⁽⁴¹⁷⁾ (2015) ^{‡¶} Alemanha	Transversal	Sistema modular automatizado	Concentrações de 25(OH) D como um preditor contínuo	1048	41,6	c3-4pos: 4,1 (2,3)		16,4	C3-4POS: 1,9 (1,9)	Lesões cavitadas (OMS, 1997) C ₃ 4/C ₃ 4 (3-4 lesões de cárie na dentina)	Associação encontrada (C ₃₋₄ POS)		
				10 anos					Modelos de Poisson Hurdle: Níveis de 25(OH) D foram corrigidos para a data de amostragem para normalizar a variabilidade sazonal. (Modelo 1 ^a : gênero, idade e IMC; Modelo 2 ^b : (1) e fatores socioeconômicos; Modelo 3 ^c : (2) e tempo a ver televisão e no computador no inverno e verão)		RR= 0,93 (0,88-0,99), <i>p</i> =0,032 ^a RR= 0,93 (0,87-0,99), <i>p</i> =0,023 ^b RR= 0,94 (0,89-0,99), <i>p</i> =0,019 ^c Níveis de 25(OH) D mais elevados foram associados a menor experiência de cárie na dentição permanente		
									Associação não encontrada (c3-4pos) RR= 1,00 (0,98-1,01), <i>p</i> =0,661 ^a RR= 1,00 (0,98-1,01), <i>p</i> =0,718 ^b RR= 1,00 (0,98-1,01), <i>p</i> =0,718 ^c Níveis de 25(OH) D mais elevados não foram associados a menor experiência de cárie na dentição decidua				
Kim <i>et al.</i> ⁽³⁶⁰⁾ (2018) [¶] Coreia	Transversal	Método por ligação competitiva a proteínas	Criança 25(OH) D: ≤50nmol/L ≥50nmol/L	1688						Sem referência	Associação não encontrada (experiência de cárie dentária)		
									Teste X ² ^a , regressão logística (gênero, rendimento familiar, idade, frequência da escovagem dentária) ^b		<i>p</i> =0,0012 ^a , crianças com níveis de 25(OH) D <50 nmol/L tiveram maior experiência de cárie do que crianças com 25(OH) D ≥50 nmol/L OR=1,246, 95%IC: 0,975-1,592; <i>p</i> =0,079 ^b , não houve associação entre os níveis de 25(OH) D e a experiência de cárie dentária		
				10-12 anos							Associação encontrada (1 ^{os} molares permanentes)		

Tabela 9. Características dos estudos incluídos na revisão sistemática

Autor/ Ano/ País	Desenho do estudo	Método para avaliação dos níveis de 25(OH) D	Participantes	n Idade	Cárie dentária					Estatísticas ajuste para os confundidores	Critério de diagnóstico de cárie	Resultado (OR; 95% IC; ou valor de p)	
					Dentição decídua		Fase mista da dentição		Dentição permanente				
					Preva- lência (%)	cpod ou cpos média±dp	Preva- lência (%)	cos/COS	Preva- lência (%)				CPOD ou CPOS média±dp
p=0,006^a, crianças com níveis de 25(OH) D <50 nmol/L tiveram maior experiência de cárie dentária nos 1ºMP do que crianças com 25(OH) D ≥50 nmol / L OR=1,295, 95%IC:1,020-1,644, p=0,034^b, houve uma associação significativa entre os níveis de 25(OH) D e a experiência de cárie nos 1ºMP													

[†]Relação entre os níveis pré-natais de vitamina D e a prevalência e/ou experiência de cárie dentária na dentição decídua; [‡]Relação entre os níveis de vitamina D infantis e a prevalência e/ou experiência de cárie dentária na dentição decídua; [§]Relação entre os níveis de vitamina D infantis e a prevalência e/ou experiência de cárie dentária na dentição permanente; [¶]Relação entre os níveis de vitamina D infantis e a prevalência e/ou experiência de cárie dentária na dentição permanente.

AAPD: American Academy of Pediatric Dentistry; **cd médio:** número médio de dentes decíduos cariados; **cos:** superfícies de dentes decíduos cariadas e obturadas; **COS:** superfícies de dentes permanentes cariadas e obturadas; **c3-4os:** superfícies cariadas (ICDAS códigos 3 e 4) e obturadas de dentes decíduos; **C3-4OS:** superfícies cariadas (ICDAS códigos 3 e 4) e obturadas de dentes permanentes; **CPI:** cárie precoce da infância; **CPI-G:** cárie precoce da infância grave; **cpod:** dentes decíduos cariados, perdidos, obturados por cárie; **CPOD:** dentes permanentes cariados, perdidos, obturados por cárie; **cpos:** superfícies de dentes decíduos cariadas, perdidas, obturadas por cárie; **CPOS:** superfícies de dentes permanentes cariadas, perdidas, obturadas por cárie; **c3-4pos:** superfícies de dentes decíduos cariadas (ICDAS códigos 3 e 4), perdidas, obturadas por cárie; **C3-4POS:** superfícies de dentes permanentes cariadas (ICDAS códigos 3 e 4), perdidas, obturadas por cárie; **dp:** desvio-padrão; **Ep:** erro padrão; **EUA:** Estados Unidos da América; **IC:** intervalo de confiança; **ICDAS:** International Caries Detection and Assessment System; **IMC:** índice de massa corporal; **OMS:** Organização Mundial de Saúde; **OR:** odds ratio; **PTH:** hormona paratiróide; **r:** coeficiente de determinação; **RR:** risco relativo; **UI:** unidades internacionais;

1º MP: primeiro molar permanente; **25(OH) D:** 25-hidroxivitamina D;

%, percentagem;

*valores resultam da conversão de ng/ml (unidade convencional) para nmol/L (unidades internacionais) (1 ng/ml é igual a 2,5 nmol/L);

----- informação não disponível.

Dos cinco artigos analisados sobre esta associação específica, em dois estudos de coorte prospectivos ^(353,416) foi verificada uma associação estatisticamente significativa entre os níveis mais baixos de 25(OH) D maternos ou no cordão umbilical (*cut-off*: 75 nmol/L) e a maior prevalência e/ou experiência de cárie dentária nas crianças.

Schroth e os seus colaboradores ⁽³⁵³⁾ verificaram que crianças com CPI apresentaram níveis pré-natais de 25(OH) D significativamente mais baixos do que as crianças sem lesões de CPI. De forma similar, também Korun e os seus colaboradores ⁽⁴¹⁶⁾ verificaram uma associação significativa entre os níveis de 25(OH) D no cordão umbilical <75 nmol/L e a ocorrência de hipoplasia de esmalte e CPI nas crianças entre os 12 e 24 meses.

Em relação aos restantes trabalhos analisados, Silva e os seus colaboradores ⁽¹⁴⁾ não encontraram nenhuma relação entre a cárie dentária e os níveis maternos e infantis de 25(OH) D em crianças entre os 6 e os 7 anos de idade nos modelos estatísticos ajustados. Pelo contrário, Singleton e os seus colaboradores ⁽³⁵⁴⁾ verificaram que os níveis de deficiência de vitamina D (25(OH) D <30 nmol/L) do cordão umbilical estavam associados a um valor médio de cpod 2 vezes mais elevado em crianças entre os 12 e os 35 meses de idade. Contudo, o mesmo não foi observado nas crianças mais velhas (36-59 meses). Para os níveis maternos de vitamina D inferiores a 50 nmol/L, os autores não verificaram nenhuma associação entre este valor de corte e os valores médios do cpod em qualquer uma das faixas etárias avaliadas ⁽³⁵⁴⁾.

Apesar de Nørrisgaard e os seus colaboradores também não terem encontrado uma associação, em ambas as dentições, entre a prevalência de cárie dentária e a suplementação materna (desde a 24ª semana de gestação até 1ª semana pós-parto) com doses elevadas de vitamina D₃ (2800 UI/dia vs. 400 UI/dia), os autores constataram que a suplementação com doses de 2800 UI/dia estavam associadas a uma redução da probabilidade, em aproximadamente 50%, das crianças apresentarem DDE aos 6 anos de idade ⁽³⁵⁶⁾.

Em relação à associação entre os níveis infantis de vitamina D e a cárie na dentição decídua verificou-se nos estudos analisados uma relação inversa entre a exposição e o *outcome* avaliado.

Schroth e seus colaboradores ⁽⁴¹⁸⁾ levantaram a hipótese e confirmaram no seu estudo piloto que as crianças com CPI Grave apresentavam níveis mais baixos de 25(OH) D comparativamente com as crianças sem a manifestação da doença. De salientar, no entanto, que os autores observaram uma associação significativa apenas na análise bivariada realizada. Num estudo ulterior ⁽³⁴⁶⁾, os mesmos investigadores verificaram que as crianças com níveis de 25(OH) D <75 nmol/L apresentavam uma probabilidade 2 vezes maior de desenvolver CPI Grave. Embora, tenham verificado essa associação também para o valor de referência do IOM ⁽²⁶⁴⁾, a mesma não foi observada para valores de 25(OH) D <35 nmol/L. Também Chhonkar et al. ⁽¹¹⁾ compararam os níveis de vitamina D de crianças com e sem CPI Grave e observaram níveis de 25(OH) D <50 nmol/L em 29 de 30 crianças com CPI Grave comparativamente com apenas 13 de 30 crianças no grupo controlo. Foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos avaliados relativamente aos níveis séricos de vitamina D.

No que concerne à relação entre a vitamina D nas crianças e a sua prevalência e/ou experiência de cárie dentária na fase mista da dentição os resultados observados são controversos. Embora o estudo de Schroth et al. ⁽¹²⁾ e de Herzog et al. ⁽¹³⁾ partilhem características metodológicas semelhantes, ambos com amostras nacionais representativas e uma faixa etária dos participantes análoga, os autores reportaram resultados contraditórios.

Schroth e os seus colaboradores ⁽¹²⁾ observaram uma amostra representativa de crianças canadenses com um processo de amostragem adequado. Os autores encontraram uma associação independente e significativa entre os níveis de 25(OH) D $\geq$ 50 nmol/L e uma menor probabilidade ajustada de cárie dentária. Contudo, esta associação não foi verificada para níveis de 25(OH) D $\geq$ 75 nmol/L. De realçar, porém, que quando estatisticamente a eliminação de *Wald Stepwise Backward* foi realizada, a interação final revelou que ambas as concentrações foram de forma significativa e independente associadas a um menor risco de cárie dentária. Por outro lado, Herzog e os seus colaboradores ⁽¹³⁾ não encontraram uma associação estatisticamente significativa entre os níveis insuficientes de 25(OH) D e a prevalência de cárie (presença de pelo menos um dente cariado ou um dente restaurado por cárie). Também, num estudo realizado mais recentemente por Gyll e os seus colaboradores ⁽³⁶¹⁾, os autores verificaram que uma

associação significativa dependia do fator de confusão para o qual o modelo era ajustado. Contudo, o método estatístico de eliminação de *Wald Stepwise Backward* revelou que os níveis mais baixos de 25(OH) D estavam associados de forma independente com lesões de cárie na dentina.

Relativamente à dentição permanente, apesar de ambos os estudos ^(360,417) demonstrarem uma relação entre os níveis mais baixos de vitamina D e a maior experiência de cárie, denota-se que esta associação parece ser mais evidente sobretudo ao nível dos primeiros molares permanentes.

3.3 Risco de viés

A análise do risco de viés do único ensaio clínico randomizado demonstrou que o processo de randomização foi claro e que apesar de ligeiras ocultações metodológicas este estudo foi classificado como de elevada qualidade (Figura 9).

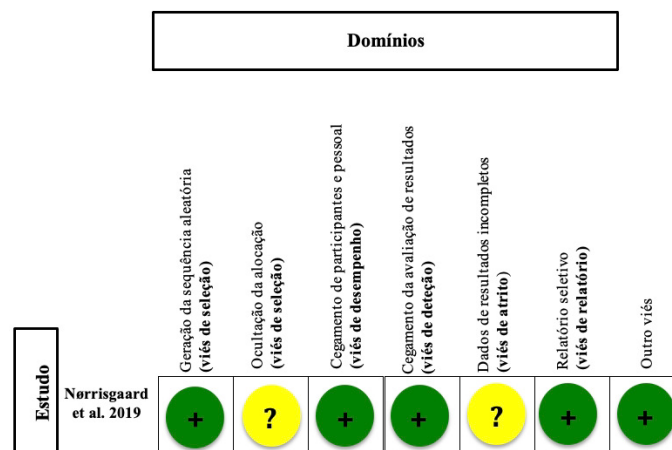


Figura 9. Análise de risco de viés do ensaio clínico controlado randomizado ⁽⁴¹²⁾. (+): Baixo risco de viés. (-): Elevado risco de viés. (?): risco incerto de viés.

Relativamente aos estudos transversais, seis dos oito estudos incluídos foram considerados de elevada qualidade (pontuação acima de 4). As falhas mais comuns nestes estudos relacionaram-se com o facto de não haver informação sobre as taxas de não resposta, assim como, utilizarem amostras não representativas e não calculadas. Outras lacunas observadas relacionam-se com a validade externa dos estudos, pois foi

considerada uma faixa etária de grande amplitude (12 meses a 12 anos) e o método laboratorial utilizado para avaliar os níveis de vitamina D que diferiu substancialmente entre os estudos. A classificação individual e pormenorizada de cada estudo é apresentada na Tabela 10.

Tabela 10. Avaliação da qualidade dos estudos transversais incluídos na revisão sistemática de acordo com a escala de Newcastle-Ottawa modificada ⁽⁴¹³⁾ .								
Autor	Seleção				Comparação	Resultado		Pontuação
	Representatividade da amostra [1]	Tamanho da amostra [2]	Verificação da exposição [3]	Não respostas [4]	Ajuste para confusão [5]	Avaliação do outcome [6]	Teste estatístico [7]	
Chhonkar et al. ⁽¹¹⁾	(c)	(b)	(c)	(c)	-	*	*	2 (8)
Schroth et al. ⁽³⁴⁶⁾	(c)	*	*	(c)	**	*	*	6 (8)
Schroth et al. ⁽⁴¹⁸⁾	(c)	(b)	(c)	(c)	*	*	*	3 (8)
Gyll et al. ⁽³⁶¹⁾	(c)	(b)	*	(c)	**	*	*	5 (8)
Schroth et al. ⁽¹²⁾	*	*	*	(c)	**	*	*	7 (8)
Herzog et al. ⁽¹³⁾	*	*	*	(c)	**	*	*	7 (8)
Kühnisch et al. ⁽⁴¹⁷⁾	(c)	(b)	*	(c)	**	*	*	5 (8)
Kim et al. ⁽³⁶⁰⁾	*	*	*	(c)	**	*	*	7 (8)

[1] (a) Verdadeiramente representativo da média da população-alvo * (todos os indivíduos ou amostragem aleatória), (b) Um pouco representativo da média da população-alvo * (amostragem não aleatória), (c) Grupo selecionado de participantes, (d) Sem descrição da estratégia de amostragem.

[2] (a) Justificada e satisfatória *, (b) Não justificada.

[3] (a) Ferramenta de medição validada *, (b) Ferramenta de medição não validada, mas está disponível ou descrita *, (c) Sem descrição da ferramenta de medição.

[4] (a) A comparação entre as características dos respondentes e não respondentes é estabelecida e a taxa de resposta é satisfatória *, (b) A taxa de resposta é insatisfatória ou a comparação entre respondentes e não respondentes é insatisfatória, (c) Sem nenhuma descrição da taxa de resposta ou das características dos respondentes e não respondentes.

[5] (a) O estudo controla o fator mais importante (condição socioeconómica) *, (b) O estudo controla qualquer fator adicional (estação do ano de medição dos níveis de 25(OH) D; etnia; idade; rendimento familiar; ingestão de suplementos de vitamina D; ingestão regular de leite; índice de massa corporal) *.

[6] (a) Avaliação independente cega *, (b) Ligação de registo *, (c) Auto-relato, (d) Sem descrição.

[7] (a) O teste estatístico usado para analisar os dados é claramente descrito e apropriado e a medição da associação é apresentada, incluindo intervalos de confiança e o nível de probabilidade (valor de *p*) *, (b) O teste estatístico não é apropriado, não descrito ou incompleto.

No que concerne aos estudos de coorte incluídos nesta revisão apesar de apresentarem algumas lacunas foram todos classificados como de elevada qualidade (pontuação acima de 4,5). As principais falhas relacionaram-se com a falta de representatividade da coorte

exposta, o período de seguimento num dos estudos ser inferior a 12 meses e em dois estudos a taxa de acompanhamento ser inferior a 80% ou então, não existir qualquer informação sobre a mesma.

A natureza prospetiva destes estudos reforça as suas evidências, pois permite uma avaliação cega da relação entre as concentrações de 25(OH) D durante a gestação e a experiência de cárie dentária nas crianças. Estes estudos têm a vantagem de apresentarem um baixo risco de viés, contudo, a utilização de amostras de conveniência pode limitar a generalização de seus resultados (Tabela 11).

Tabela 11. Avaliação da qualidade dos estudos de coorte incluídos de acordo com a escala de Newcastle-Ottawa ⁽⁴¹³⁾.

Autor	Seleção				Comparação	Resultado			Pon-tuação
	Repre-sentati-vidade da coorte exposta [1]	Seleção da coorte não exposta [2]	Verifica-ção da exposição [3]	Resul-tado não presente no início [4]	Compara-bilidade de coortes com base no projeto ou análise [5]	Avaliação do resultado [6]	Tempo de segui-mento [7]	Precisão do acompa-nhamento [8]	
Singleton et al. ⁽³⁵⁴⁾	(c)	*	*	*	*	(d)	*	(d)	5 (9)
Silva et al. ⁽¹⁴⁾	(c)	*	*	*	**	(d)	*	*	7 (9)
Korun et al. ⁽⁴¹⁶⁾	(c)	*	*	*	*	(d)	*	*	6 (9)
Schroth et al. ⁽³⁵³⁾	(c)	*	*	*	**	*	(b)	(c)	6 (9)

[1] (a) Verdadeiramente representativa da média da comunidade *, (b) Um pouco representativa da média da comunidade *, (c) Grupo selecionado de participantes, (d) Sem descrição da derivação da coorte.

[2] (a) Retirada da mesma comunidade que a coorte exposta *, (b) Retirada de uma fonte diferente (c) Sem descrição da derivação da coorte não exposta.

[3] (a) Registo seguro *, (b) Entrevista estruturada *, (c) Auto-relato escrito, (d) Sem descrição.

[4] (a) Sim *, (b) Não.

[5] (a) Estudo controla o fator mais importante (condição socioeconómica) *, (b) Estudo controla qualquer fator adicional (estação do ano de medição dos níveis de 25(OH) D, hábitos de escovagem dentária da criança; exposição solar da criança, exposição solar materna) *.

[6] (a) Avaliação independente cega *, (b) Ligação de registo *, (c) Auto-relato, (d) Sem descrição.

[7] (a) Sim (≥12 meses) *, (b) Não (<12 meses).

[8] (a) Acompanhamento completo* (b) Participantes perdidos no acompanhamento, improvável para a introdução de viés (≥80 %) *, (c) Taxa de acompanhamento <80% e sem descrição dos que foram perdidos, (d) Nenhuma informação reportada.

4. Discussão

A literatura destaca a importância dos níveis de vitamina D na ocorrência de cárie dentária nas crianças. Nesta revisão sistemática verificou-se que os níveis séricos insuficientes de 25(OH) D estão associados a uma maior prevalência e/ou experiência de cárie dentária, emergindo o nível de 25(OH) D de 75 nmol/L como de maior relevância nesta associação comparativamente com o valor de referência do IOM (50 nmol/L).

A análise dos estudos incluídos demonstrou que vários fatores dos participantes, entre os quais, o contexto geográfico e socioeconómico a que pertencem, foram preditores importantes para níveis insuficientes de 25(OH) D e para a maior ocorrência de cárie dentária, concomitantemente.

Sob esta perspectiva, Chhonkar e os seus colaboradores associaram os níveis insuficientes de vitamina D, na Índia, à dieta da população (pobre em cálcio), à sua pele caracteristicamente escura, a um estilo de vida domiciliário ⁽⁴¹³⁾ e a uma diminuição da síntese cutânea relacionada com hábitos sociais e religiosos ⁽⁴¹⁹⁾. Também Nørrisgaard e os seus colaboradores ⁽⁴²⁰⁾ verificaram que os níveis de vitamina D₃ estavam veementemente associados a vários fatores socioeconómicos das famílias das crianças, particularmente, ao seu estilo de vida. Neste ensaio clínico controlado randomizado, a suplementação durante a gravidez com doses elevadas de vitamina D₃ (2800 UI/dia), embora não tivesse demonstrado estar associada a uma menor prevalência de cárie dentária aos 6 anos de idade, demonstrou estar associada a uma diminuição da probabilidade do desenvolvimento de DDE na mesma idade ⁽³⁵⁶⁾. Este resultado corrobora o de Kühnisch e seus colaboradores ⁽⁴¹⁷⁾.

Na avaliação da relação entre os níveis de vitamina D e a cárie dentária na dentição decídua denota-se na literatura que mediante os critérios estipulados nesta revisão, esta associação nesta dentição é a mais amplamente abordada e estudada comparativamente com a fase mista da dentição ou a dentição permanente. Os resultados observados considerando os níveis de vitamina D maternos, do cordão umbilical e da infância demonstraram resultados díspares quanto à associação encontrada. Todavia, é de salientar que os estudos que aportam maior evidência científica apontam para uma associação entre os níveis de vitamina D inferiores a 75 nmol/L e a maior prevalência e/ou experiência de

cárie dentária nos dentes decíduos. Por outro lado, mesmo nos estudos em que não se verificou associação com a cárie dentária, apesar de sair do cômputo desta revisão, observou-se que os níveis mais baixos de vitamina D estavam associados ao desenvolvimento de DDE, os quais estão atualmente claramente identificados como fatores de risco para cárie dentária.

Analisando especificamente a associação entre a cárie dentária na fase mista da dentição e as concentrações de 25(OH) D é de realçar que um escasso número de estudos investigou esta relação neste período da dentição. Entre os três estudos considerados salvaguarda-se que Herzog et al. ⁽¹³⁾ e Schroth et al. ⁽¹²⁾ apesar de partilharem algumas características metodológicas nas suas investigações, apresentaram resultados divergentes que devem ser alvo de escrutínio. No estudo de Schroth as avaliações dentárias foram realizadas por médicos dentistas devidamente calibrados enquanto que no estudo de Herzog as avaliações foram realizadas por outros profissionais de saúde. Neste panorama, especula-se que a prevalência de cárie dentária pode ter sido subestimada neste último estudo. Apesar das diferenças metodológicas, os resultados de Schroth et al. são consistentes com os de Kühnisch e seus colaboradores ⁽⁴¹⁷⁾. Também, de forma paralela a meta-análise de ensaios clínicos controlados realizada por Hujoel corrobora estes resultados, sugerindo que a suplementação de vitamina D no início da vida está associada a uma redução de 47% a 54% no risco de desenvolvimento de cárie dentária ⁽⁸⁾. Por sua vez, também os resultados de Gyll e os seus colaboradores ⁽³⁶¹⁾, embora não totalmente consistentes, apoiaram uma relação inversa entre os níveis de 25(OH) D na infância e a cárie dentária na fase mista da dentição. No entanto, não deve ser descurado o enquadramento dos participantes deste estudo: provenientes de uma população com uma prevalência de cárie caracteristicamente baixa a moderada e com cuidados de saúde oral organizados, incluindo a participação em programas obrigatórios de prevenção de cárie dentária ⁽³⁶¹⁾.

No que concerne à avaliação desta associação na dentição permanente os resultados parecem convergir para uma associação entre os níveis mais baixos de vitamina D e a maior prevalência e/ou experiência de cárie, particularmente, nos primeiros molares permanentes. Contudo, na interpretação destes resultados deve ser acautelado o número reduzido de estudos realizados para esta dentição.

Apesar da amplitude do intervalo de tempo considerado nesta revisão (1998 a 2019), os 13 estudos que atenderam aos critérios de inclusão foram publicados nos últimos oito anos (2012 a 2019) e a sua maioria (dez estudos) nos últimos cinco anos (2015 a 2019). Este aspeto demonstra a pertinência e a atualidade deste tema, com um aparente interesse crescente da comunidade científica no estudo da vitamina D como potencial determinante de cárie dentária nas crianças.

4.1 Limitações

Uma das principais limitações desta revisão sistemática diz respeito à heterogeneidade na avaliação dos resultados. A mensuração da cárie dentária não foi homogênea entre os estudos (prevalência, cpod/CPOD, cpos/CPOS ou alguns componentes individuais desse índice). Além disso, a cárie dentária foi definida, avaliada e registada de forma diferente pelos autores (lesões cavitadas, lesões não cavitadas, lesões cavitadas e não cavitadas e ainda outros autores não reportaram se algum ponto de corte foi considerado quando foi usado o índice cpod/CPOD).

Da mesma forma, a ampla diversidade no número de participantes e nas suas características, a variabilidade dos métodos e dos pontos de corte considerados na avaliação da vitamina D, assim como, os fatores de confundimento considerados em cada estudo podem representar uma limitação para a comparação dos resultados.

O baixo nível socioeconómico é conhecido por ser um forte preditor de cárie dentária em crianças^(361,421). Os fatores socioeconómicos influenciam não só a saúde oral mas também podem expor as crianças a um maior risco de má nutrição, possivelmente com impacto nos seus níveis de vitamina D⁽⁴²²⁾. Alguns estudos não controlaram algumas variáveis socioeconómicas nos modelos de regressão, o que pode ter introduzido viés e ser considerada uma limitação dos resultados encontrados.

Relativamente à metodologia utilizada para a avaliação dentária nos estudos selecionados, algum potencial viés ou imprecisão pode ser detetado na comparação dos resultados. Alguns estudos realizaram apenas exame visual com espelho^(14,354) enquanto outros utilizaram radiografias intraorais⁽¹⁴⁾, exame tátil com sonda exploradora^(11,361) e/ou seringa de ar comprimido para secagem dentária prévia à avaliação^(11,13,356,361). Estas

diferenças podem ter conduzido a diagnósticos de cárie mais precisos em alguns estudos e, conseqüentemente, influir nos valores da prevalência e experiência de cárie dentária registrados.

Por fim, é de realçar que oito dos treze estudos incluídos utilizaram um desenho transversal, o qual não permite estabelecer uma relação de causalidade apenas suporta uma associação. Todavia, deve ser evidenciada a elevada qualidade metodológica dos estudos incluídos.

Considerando o risco de viés dos estudos analisados, a associação entre os níveis insuficientes de 25(OH) D (independentemente dos valores de *cut-off* estipulados) e a maior prevalência e/ou experiência de cárie dentária deve ser interpretada tendo em consideração as limitações previamente apresentadas. Nesse sentido, salienta-se a pertinência e o propósito da realização de estudos futuros com metodologias mais rígidas, que inter-relacionem potenciais variáveis envolvidas nesta associação e que incluam uma maior abrangência na avaliação da cárie dentária, considerando as diferentes fases de evolução da doença.

5. Conclusões

Existe evidência de uma associação entre os níveis insuficientes de vitamina D e uma maior prevalência e/ou experiência de cárie dentária nas crianças, salientando-se que os níveis de 25(OH) D inferiores a 75 nmol/L parecem assumir uma maior relevância para o desenvolvimento de cárie na dentição decídua. Neste sentido, os níveis insuficientes de vitamina D não devem ser excluídos como potenciais determinantes de cárie dentária.

Através desta revisão sistemática foi demonstrada a atualidade e a pertinência deste tema, refletidas na vontade premente entre os investigadores pela procura de evidências robustas que permitam a adoção de abordagens preventivas da cárie dentária, implementadas em fases mais precoces da vida das crianças.

Todos os profissionais envolvidos no atendimento de grávidas e crianças devem ter consciência da importância da adoção de uma dieta adequada no período pré-natal e na

primeira infância, tendo em consideração o seu impacto na saúde oral das crianças e consequentemente, na sua saúde geral e na sua qualidade de vida.

6. Tópicos prementes de consideração

A realização desta revisão sistemática permitiu a aquisição de um conhecimento estruturado sobre o pelouro dos níveis de vitamina D na cárie dentária na população pediátrica, não obstante, ocasionou paralelamente, a identificação e o levantamento de questões que permanecem por clarificar.

Ao abrigo desta associação constata-se que as análises são realizadas tendo em consideração apenas um ponto de corte no que respeita aos níveis de 25(OH) D (50 nmol/L ou 75 nmol/L), persistindo a dúvida de qual o valor de corte, da *Endocrine Society* ou do IOM, que apresenta maior impacto na saúde oral das crianças.

Similarmente, denota-se uma escassez de investigações que considerem a associação em estudo na fase mista da dentição. A análise específica da associação entre os níveis de vitamina D e este período particular do desenvolvimento da criança, pode representar uma mais valia no que concerne ao estudo do papel da vitamina D como determinante de cárie dentária. A pertinência deste período temporal resulta da possibilidade da avaliação desta correlação considerando períodos temporais muito distintos de exposição dos dentes decíduos e permanentes, simultaneamente, a fatores de risco de nível comportamental.

A utilização de uma multiplicidade de definições e sistemas de registo da cárie dentária foi identificada, nesta revisão sistemática, como uma dificuldade na comparação dos resultados entre os estudos. Considerando o desígnio e a premência atuais para a implementação de medidas preventivas o mais precocemente possível, idealmente desde o período pré-natal, justifica-se presentemente, a adoção de índices que permitam o registo da cárie dentária tanto nos estágios iniciais da doença como nas suas fases mais avançadas de cavitação.

De forma análoga, pelo conhecimento teórico consolidado e exposto no capítulo II secção I, os fatores socioeconómicos são determinantes importantes de cárie dentária podendo influenciar também a nutrição infantil e desse modo, apresentar um impacto considerável nos níveis de vitamina D nas crianças. Neste sentido, com vista à obtenção de associações concisas e inexoráveis é de suma importância a inclusão de potenciais fatores confundidores nesta associação como o controlo da associação para fatores socioeconómicos.

CAPÍTULO V

– Cárie dentária e vitamina D – Estudo transversal

V – Cárie dentária e vitamina D – Estudo transversal

Níveis séricos de vitamina D e a prevalência de cárie dentária em crianças de 7 anos de idade

1. Introdução e objetivos

O crescente interesse sobre a influência dos níveis de vitamina D na ocorrência da cárie dentária nas crianças tem impulsionado a consecução de vários estudos neste domínio, nos últimos anos, tal como foi evidenciado no capítulo IV desta dissertação.

A constatação da necessidade de implementação de abordagens preventivas para esta doença num prisma mais holístico, integrado ainda na fase de desenvolvimento dentário, motivou que alguns autores se debruçassem sobre esta associação. Porém, atualmente, não existe um consenso sobre a relação entre os níveis de vitamina D e a cárie dentária na população pediátrica, acrescendo a dificuldade na identificação dessa relação no período da fase mista dentição, o qual contempla concomitantemente, dentes com períodos de permanência muito díspares na cavidade oral.

Alguns estudos têm demonstrado que as concentrações insuficientes de vitamina D na infância podem desempenhar um papel importante no início e progressão das lesões de cárie, no entanto, as evidências dos estudos observacionais e de intervenção são conflitantes. Alguns têm demonstrando uma prevalência mais elevada de cárie em crianças com níveis mais baixos de vitamina D ^(11,12,356), enquanto que outros, não verificaram qualquer associação ^(14,353,356).

Os resultados evidenciados no capítulo IV desta dissertação, publicados na revista *Oral Health & Preventive Dentistry* ⁽⁴²³⁾, permitiram a identificação de alguns dos fatores que estão na origem da disparidade dos resultados observados entre os estudos. Dos quais destacam-se a heterogeneidade na avaliação da cárie dentária, a diversidade nas características das amostras consideradas, os métodos analíticos e os pontos de corte para a medição e registo dos níveis séricos de vitamina D e a falta de ajuste da associação cárie dentária/vitamina D para fatores reconhecidamente confundidores desta relação ⁽¹³⁾.

Algumas destas dificuldades são resultantes da exiguidade de concordância entre as entidades de referência na área, nomeadamente sobre a recomendação do valor de corte de vitamina D estipulado como suficiente nas crianças. Atualmente, parece existir um consenso que converge para a concentração sérica de 50 nmol/L para níveis suficientes de vitamina D ⁽⁴²³⁾. Não obstante, essa diretriz baseia-se exclusivamente na ação esquelética da vitamina D, principalmente na prevenção do raquitismo nutricional, permanecendo este limiar de 25(OH) D controverso quando se pretende avaliar o seu efeito em funções extra-esqueléticas, como é o caso da cárie dentária.

Identificadas as dificuldades e as limitações inerentes aos estudos efetivados, torna-se pertinente a realização de uma investigação alicerçada numa base metodológica estruturada e escrupulosa que permita a elucidação das dúvidas que ainda presentemente, permanecem em discussão sobre a associação entre os níveis séricos de vitamina D e a cárie dentária.

O objetivo geral deste estudo consistiu na avaliação da associação entre os níveis séricos insuficientes de 25(OH) D e a prevalência de cárie dentária na fase mista da dentição e na dentição permanente de uma amostra de crianças de 7 anos de idade da coorte Geração XXI.

Especificamente foram objetivos deste estudo:

- Realizar uma caracterização multiparamétrica da amostra considerando fatores sociodemográficos, biológicos e comportamentais das crianças de 7 anos e das suas progenitoras;
- Realizar uma caracterização multiparamétrica da amostra de acordo com a prevalência de cárie dentária (incluindo lesões não cavitadas) e de cárie dentária cavitada (apenas lesões cavitadas) aos 7 anos de idade, considerando fatores sociodemográficos, biológicos e comportamentais das crianças e das suas progenitoras;
- Avaliar a influência das atividades de “tempos livres” das crianças nos seus níveis séricos de vitamina D;
- Estimar a prevalência e gravidade da cárie dentária na amostra, especificamente, na fase mista da dentição e na dentição permanente;

- Estimar a prevalência da cárie dentária na amostra de acordo com os níveis insuficientes de vitamina D das crianças, considerando os dois pontos de corte atualmente preconizados, pela *Endocrine Society* (<75 nmol) e o pelo IOM (≤ 50 nmol/L).
- Verificar a associação entre os níveis de vitamina D e a estação do ano em que foram recolhidas as amostras de sangue nas crianças e, subsequentemente, a sua associação com a presença de cárie dentária aos 7 anos de idade;
- Relacionar a prevalência de cárie dentária aos 7 anos de idade com vários fatores biológicos e comportamentais das crianças, nomeadamente, com os níveis de vitamina D, ajustando a associação para fatores socioeconómicos, previamente identificados como a principal classe de fatores de confundimento nesta associação.

2. Material e métodos

2.1 Tipo de estudo

Foi realizado um estudo observacional, analítico e transversal.

2.2 Amostra

A amostra deste estudo foi obtida a partir da coorte de base populacional Geração XXI cujo processo de recrutamento e avaliação dos participantes foi previamente descrito no capítulo III, ponto 2.2. A subamostra deste estudo foi constituída por 335 crianças.

2.3 Crítérios de inclusão e de exclusão

Após a consideração dos critérios de inclusão gerais ao nascimento, apresentados no capítulo III, ponto 2.3, foram considerados como critérios de inclusão específicos para a realização do presente estudo, as crianças que concomitantemente reuniam as seguintes características:

- avaliação ao nascimento (Anexo 7);
- avaliação geral da criança aos 7 anos de idade (Anexo 9);

- amostras de sangue disponíveis para o doseamento de vitamina D, recolhidas no exame físico aos 7 anos de idade;
- avaliação médico-dentária aos 7 anos de idade nas crianças com pelo menos um primeiro molar permanente erupcionado (Anexo 11).

Os critérios de exclusão considerados foram os mesmos apresentados no capítulo III, ponto 2.3:

- crianças cujo responsável não autorizou a sua participação na avaliação dentária aos 7 anos de idade;
- crianças com comportamento não colaborante na avaliação dentária;
- crianças com limitações físicas ou mentais que impossibilitavam a sua deslocação ao local de observação da cavidade oral, ou mesmo, a própria observação oral;
- dados muito incompletos ou impercetíveis.

A amostra deste estudo engloba a totalidade de crianças que cumpriam os critérios de inclusão estabelecidos: 335 crianças.

Contudo, tal como evidenciado no capítulo III, ponto 2.3, devido a incongruências ou dificuldades na compreensão de alguns registos específicos, nem todas as características das mães e das crianças foram incluídas para todos os parâmetros avaliados e, por esse motivo, o número de participantes para cada variável pode variar ligeiramente.

2.4 Local do estudo

As avaliações aos 7 anos de idade decorreram entre abril de 2012 e março de 2014, tendo as avaliações da cavidade oral decorrido apenas entre julho de 2013 e janeiro de 2014, ambas realizadas no Departamento de Epidemiologia Clínica, Medicina Preditiva e Saúde Pública da FMUP.

2.5 Consentimento informado, aspetos éticos e médico-legais

Informação apresentada detalhadamente no capítulo III, ponto 2.5.

2.6 Recolha de dados e avaliações

A metodologia estabelecida para a recolha de informação ao nascimento e aos 7 anos de idade seguiu um protocolo previamente apresentado no capítulo III, ponto 2.6. Nesta secção serão apenas evidenciadas as principais diferenças metodológicas.

As variáveis da avaliação ao nascimento recolhidas nas maternidades e usadas no presente estudo incluem: a idade gestacional (<37 semanas e ≥37 semanas), o peso ao nascimento (variável contínua), a idade (variável contínua) e o nível de escolaridade da mãe (≤9 anos, 10-12 anos ou > 12 anos). As características das crianças da amostra e das suas respetivas mães foram comparadas com as características da restante coorte avaliada no início do estudo (Tabela 12).

Tabela 12. Comparação entre as características dos participantes elegíveis e a restante coorte avaliada no início do estudo*.
(Número de participantes (n) e percentagens (%); mediana e amplitude interquartil (AIQ))

	Amostra [‡] (n = 335)		Coorte remanescente [§] (n = 8312)		
	n	%	n	%	p
Idade gestacional (n, %)					
<37 semanas	12	4,4	616	9,4	0,006
≥37 semanas	259	95,6	5971	90,6	
Peso ao nascimento (g)					
Mediana	3240		3190		0,074
(AIQ)	(2910-3530)		2880-3490		
Idade da mãe (anos)					
Mediana	29		29		0,536
(AIQ)	(25-33)		(25-33)		
Escolaridade materna (anos)					
≤9 anos	160	48,0	4068	49,3	0,278
10-12 anos	101	30,3	2199	26,6	
>12 anos	72	21,6	1991	24,1	
Rendimento familiar mensal (n, %)					
Baixo: ≤1000€	108	33,2	2021	31,8	0,906
Intermédio: 1001-1500€	91	28,0	1750	27,6	
Alto: >1500€	126	38,8	2575	40,6	

* Para cada variável, o total pode não representar 335 ou 8312 devido à falta de informação para algumas variáveis.

‡ Crianças que realizaram avaliação da cavidade oral aos 7 anos de idade com pelo menos um primeiro molar permanente erupcionado e com amostras sanguíneas disponíveis para o doseamento de vitamina D.

§ Coorte avaliada no início do estudo.

g: gramas;

€: euros.

A comparação demonstrou que as crianças da amostra elegível apresentavam uma idade gestacional superior às crianças da coorte remanescente (95,6% vs. 90,6%, $p=0,006$). No entanto, não foram encontradas diferenças significativas em relação ao rendimento familiar mensal aos 7 anos, à idade e escolaridade maternas e ao peso da criança ao nascimento (Tabela 12).

Na avaliação de acompanhamento aos 7 anos de idade foram recolhidas informações sobre: o rendimento familiar mensal (≤ 1000 €, 1001-1500 € ou >1500 €); condição de saúde ou doença da criança (doenças gastrointestinais, doenças ósseas, musculares e articulares, doenças renais, distúrbios do crescimento e hepáticos, epilepsia, paralisia cerebral, malformações congénitas e número de fraturas ósseas); ingestão de vitaminas e medicamentos pela criança; e as atividades de “tempos-livres” da criança (minutos semanais de leitura, a ver televisão e em atividades ao ar livre).

Neste estudo foram também recolhidas medidas antropométricas da criança e da sua progenitora. O IMC das crianças foi classificado de acordo com os valores-z de IMC específicos para idade e género desenvolvidos pela OMS ⁽²⁶³⁾ e os valores do IMC das mães foi avaliado como uma variável contínua.

A recolha de informação relativamente ao consumo alimentar das crianças foi realizada através da utilização de um QFA, tal como previamente apresentado e descrito no capítulo III ponto 2.6.1. As frequências de consumo alimentar foram convertidas em frequências diárias ⁽⁴²⁴⁾ e foram considerados os dois grupos de alimentos definidos precedentemente: “alimentos cariogénicos (gelados, cereais do pequeno-almoço, bolachas salgadas, biscoitos, bolos de pastelaria, chocolate, açúcar e doces) ⁽³⁹⁰⁾ e “bebidas cariogénicas” (refrigerantes gaseificados e outras bebidas adoçadas com açúcar) ⁽³⁸²⁾. Ambas as variáveis foram analisadas como variáveis contínuas.

2.6.1 Avaliação da saúde oral

Aos 7 anos de idade, como parte da avaliação física as crianças, na pessoa dos seus responsáveis legais foram convidadas para a realização de uma avaliação dentária que contemplou, tal como anteriormente descrito, um exame clínico da cavidade oral da criança e a aplicação de um questionário aos seus responsáveis. As informações relativas

à equipa de examinadores e ao processo de calibragem dos mesmos encontra-se descrita de forma detalhada no capítulo III, ponto 2.6.2. i.

No questionário aplicado aos 7 anos foram recolhidas informações sobre a frequência da escovagem dentária (“<1 vez/semana”, “1-2 vezes/semana”, “3-6 vezes/semana”, “1 vez/dia”, “2 vezes/dia, uma ao deitar”, “2 vezes/dia, mas nenhuma ao deitar”, “2 vezes/dia, sempre após as refeições”, “3 ou mais vezes/dia, sendo uma delas antes de deitar e as outras após as refeições”, “3 vezes/dia, mas sem ser ao deitar e após as refeições”), a qual foi convertida em três grupos: “<1 vez por dia”, “1 vez por dia” e “≥2 vezes por dia”, assim como, se a criança já havia realizado consulta de medicina dentária (não/sim).

As condições de realização do exame clínico da cavidade oral encontram-se pormenorizadamente descritas no capítulo III, ponto 2.6.2. iii.

Para o diagnóstico e registo de cárie dentária foram seguidos os procedimentos e critérios do ICDAS II. Salienta-se que o registo foi realizado por superfície dentária e, posteriormente, classificado o dente de acordo com o pior resultado para as várias superfícies do mesmo.

À semelhança do que foi reportado anteriormente no capítulo III, ponto 2.6.2. iv, sobre o registo clínico e os critérios adotados na avaliação aos 7 anos de idade, na ausência de ar comprimido para a secagem dos dentes, foi realizado um esforço adicional pela equipa de examinadores no sentido de secarem adequadamente as superfícies dentárias recorrendo a compressas estéreis e rolos de algodão. Porém, esta diligência e desvelo dos examinadores não se refletiram nem tiveram implicações diretas nesta análise, uma vez que a distinção entre a gravidade das lesões de cárie incipientes, código 1 ou 2, não foi objeto de estudo nesta investigação.

A partir do ICDAS II foi possível classificar os participantes do estudo relativamente à presença ou ausência de experiência de cárie dentária através da transformação dos códigos ICDAS II para cpo/CPO, seguindo a seguinte classificação:

Para a inclusão de lesões cavitadas e não cavitadas:

- superfícies sãs: ICDAS II – códigos: 00, 10, 20);
- superfícies cariadas: ICDAS II – códigos: 0A-03-06, 1A-13-16, 2A-23-26, 3A-33-36, 4A-43-46, 5A-53-56, 6A-63-66, 70-7A-76, 8A-83-86);
- superfícies obturadas: ICDAS II – códigos 30, 40, 50, 60, 80);
- dentes ausentes por motivo de cárie: ICDAS II – código 97).

Para a inclusão apenas de lesões cavitadas:

- superfícies sãs: ICDAS II – códigos: 00, 0A, 10, 1A, 20, 2A);
- superfícies cariadas: ICDAS II – códigos: 03-06, 13-16, 23-26, 33-36, 43-46, 53-56, 63-66, 70-76, 83-86);
- superfícies obturadas: ICDAS II – códigos 30-3A, 40-4A, 50-5A, 60-6A, 80-8A);
- dentes ausentes por motivo de cárie: ICDAS II – código 97).

Tal como reportado previamente, o pior resultado observado para as várias superfícies foi utilizado para a classificação do dente enquanto unidade. Se o mesmo dente apresentasse uma superfície cariada e outra obturada, o dente era considerado como cariado. Nenhum método adicional para a deteção de cárie, incluindo radiografias, foi utilizado.

Com base nos dados clínicos obtidos foram criadas duas variáveis para a classificação da cárie dentária: “presença de cárie dentária”, definida como a presença ou ausência de cárie dentária, incluindo lesões não cavitadas, em dentes permanentes ($C_{A-6}POD > 0$ vs. $C_{A-6}POD = 0$: sim/não) e na fase mista da dentição ($c_{A-6}pod/C_{A-6}POD > 0$ vs. $c_{A-6}pod/C_{A-6}POD = 0$: sim/não) e a “presença de cárie dentária cavitada”, definida como a presença ou ausência de lesões de cárie cavitadas em dentes permanentes ($C_{3-6}POD > 0$ vs. $C_{3-6}POD = 0$: sim/não) e na fase mista da dentição ($c_{3-6}pod/C_{3-6}POD > 0$ vs. $c_{3-6}pod/C_{3-6}POD = 0$: sim/não).

Crianças com pelo menos um dente afetado por cárie na fase mista da dentição ou na dentição permanente ($c_{A-6}pod/C_{A-6}OPD > 0$ ou $C_{A-6}POD > 0$) foram consideradas com presença de cárie dentária. Crianças com pelo menos um dente afetado por lesão de cárie cavitada na fase mista da dentição ou na dentição permanente ($c_{3-6}pod/C_{3-6}POD > 0$ ou $C_{3-6}POD > 0$) foram consideradas como com a presença de cárie dentária cavitada.

2.6.2 Níveis séricos de vitamina D

i. Medição de 25(OH) D – condições de avaliação

Na avaliação física aos 7 anos de idade as colheitas sanguíneas foram realizadas numa sala específica do Centro de Investigação Médica da FMUP, no Departamento de Ciências da Saúde Pública e Forenses e Educação Médica. A recolha foi realizada por uma enfermeira ou por uma analista clínica utilizando a técnica de vácuo com *butterflys*.

Após a recolha, as amostras de sangue venoso foram centrifugadas durante 10 minutos a 3500 rotações por minuto, armazenadas em *ependorfs* de 0,5 ml em crio-caixas e congeladas a uma temperatura de -80 graus Celsius no mesmo dia da recolha.

ii. Medição de 25-hidroxivitamina D — método de avaliação e registo

Os níveis de vitamina D foram determinados pela análise das concentrações de 25(OH) D nas amostras de soro recolhidas durante o exame físico. A 25(OH) D foi medida usando um analisador automático Elecsys Cobas® e411 (Roche, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemanha). O ensaio *Elecsys Vitamin D Total* é um imunoensaio eletroquimioluminescente competitivo de ligação a proteínas. O ensaio utiliza uma VDBP como proteína de captura, que se liga à 25(OH) D₃ e 25(OH) D₂.

Este ensaio utiliza um processo de incubação de 3 etapas. Na primeira etapa, a amostra é incubada com o reagente de pré-tratamento, o qual liberta a 25(OH) D ligada à VDBP. Na segunda incubação, a amostra pré-tratada é incubada com a VDBP marcada com ruténio criando um complexo entre a 25(OH) D e a VDBP rutenilada. A terceira etapa de incubação ocorre após a adição de micropartículas revestidas com estreptavidina e 25(OH) D marcada com biotina. A VDBP marcada não ligada vai formar um complexo com a VDBP rutenilada e a 25(OH) D biotinilada.

A mistura de reação é aspirada para a célula de medição onde as micropartículas são magneticamente capturadas na superfície do eletrodo. As substâncias não ligadas são então removidas com um reagente específico. A aplicação de uma voltagem ao eletrodo induz a emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador.

Os resultados são determinados por meio de uma curva de calibração que é o instrumento gerado especificamente pela calibração de dois pontos e uma curva-mestre fornecida por meio do código de barras do reagente.

Considerando a ausência de um consenso global sobre os valores adequados da concentração de 25(OH) D para funções extra-esqueléticas em crianças ⁽²⁶⁷⁾, os níveis de vitamina D foram classificados e analisados de acordo com os pontos de corte preconizados nas diretrizes clínicas da *Endocrine Society* (deficiência: ≤ 50 nmol/L (20 ng/ml); insuficiência: 52,5-72,5 nmol/L (21-29 ng/ml); e suficiência: ≥ 75 nmol/L (30 ng/ml) e do IOM (deficiência: < 30 nmol/L (12 ng/ml); insuficiência: 30-50 nmol/L (12-20 ng/ml); suficiência: > 50 nmol/L (20 ng/ml)).

Por motivos relacionados com a análise estatística, estes valores foram posteriormente dicotomizados em suficientes e insuficientes pela *Endocrine Society* (≥ 75 nmol/L vs. < 75 nmol/L) e pelo IOM (> 50 nmol/L vs. ≤ 50 nmol/L).

Por motivos teóricos de base científica ⁽⁴²⁵⁾ a estação do ano em que foram realizadas as colheitas sanguíneas foi considerada. Neste sentido, o ano foi dividido em duas estações: verão (abril a setembro) e inverno (outubro a março).

Todas as amostras foram analisadas no Laboratório Central do Centro Hospitalar de São João no Porto, Portugal.

2.7 Análise estatística

As variáveis categóricas foram descritas como frequências e percentagens (n, %), enquanto as variáveis quantitativas foram expressas como mediana e AIQ (AIQ: 1º e 3º quartis). Para todas as situações de inferência estatística foi considerado um nível de significância de 0,05.

A análise bivariada incluiu o teste Qui-quadrado ou teste Exato de Fisher para determinar a associação de cada variável independente qualitativa com a presença de cárie dentária e a presença de cárie dentária cavitada e todas as comparações ajustadas pela correção de Bonferroni. As comparações das variáveis quantitativas foram realizadas pelo teste de Mann-Whitney para amostras independentes.

Foi analisada a relação dose-resposta entre os níveis de 25(OH) D e as atividades de “tempos livres” das crianças (minutos semanais de leitura, a ver televisão e em atividades ao ar livre) usando o coeficiente de correlação de Spearman.

Análises de regressão logística multivariada foram realizadas para avaliar o OR não ajustado e respetivos ICs 95% para a associação entre os níveis de 25(OH) D e a presença de cárie dentária, e entre os níveis de 25(OH) D e a presença de cárie dentária cavitada.

Por razões teóricas ⁽³⁹¹⁾, o potencial efeito da estação do ano da colheita de sangue sobre os níveis de vitamina D das crianças foi avaliado incluindo um termo de interação (vitamina D <75 nmol/L x estação de inverno) nos modelos de regressão logística.

Outras análises de regressão logística multivariada foram realizadas para avaliar o OR ajustado e os ICs 95% para a presença de cárie dentária e a presença de cárie dentária cavitada. Variáveis com $p < 0,20$, na análise bivariada, em relação à presença de cárie dentária e a presença de cárie dentária cavitada foram incluídas na primeira etapa do modelo e a eliminação de *Wald Stepwise Backward* foi realizada ($p < 0,05$ para inclusão de covariáveis e $p > 0,20$ para exclusão). Os modelos foram ajustados para escolaridade materna em anos (≤ 9 anos, 10-12 anos ou > 12 anos) e a estação do ano da colheita sanguínea (verão e inverno) foi testada como variável de interação. A variável “rendimento familiar mensal” foi excluída dos modelos devido à evidência de multicolinearidade com a escolaridade materna.

A análise estatística foi desenvolvida no *software* estatístico IBM SPSS® *Statistics* vs. 26.0 (IBM Corp. lançado em 2017, Armonk, NY, USA: IBM Corp.).

3. Resultados

Nesta amostra, a idade mediana das mães foi de 29,0 anos (AIQ: 25-33), o seu IMC mediano foi de 23,1 kg/m² (AIQ: 21,2-26,4), 48,0% tinham completado menos de 10 anos de escolaridade e 38,8% tinham um rendimento familiar mensal superior a 1500€. Relativamente às características das crianças, 50,1% era do género masculino, o valor esperado dos valores-z do IMC foi de 0,7 (AIQ: 0-1,6), 95,6% tiveram uma idade

gestacional igual ou superior a 37 semanas e 85,4% tiveram um peso ao nascimento entre as 2500-3800g. O valor esperado da ingestão diária de bebidas e alimentos cariogênicos foi 2,7 (AIQ: 1,9-4,0) e 1,8 (AIQ: 1,9-3,1), respetivamente. Relativamente aos níveis de vitamina D, 12,2% das crianças apresentavam níveis insuficientes de vitamina D quando considerado o valor de corte do IOM (≤ 50 nmol/L), por outro lado, quando considerados os valores de referência da *Endocrine Society*, 65,1% da amostra apresentava níveis de insuficiência de vitamina D (< 75 nmol/L) (Tabela 13).

Para ambos os *outcomes* dentários avaliados, tanto na fase mista da dentição como na dentição permanente, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas para as seguintes características: género da criança, peso ao nascimento, idade gestacional, valores-z do IMC da criança e os níveis de vitamina D de acordo com o valor de corte do IOM (Tabela 13).

As crianças com lesões de cárie (incluindo as lesões não cavitadas) ou apenas lesões de cárie cavitadas na dentição permanente eram filhos de mães significativamente mais jovens e com menor rendimento familiar mensal. Estas crianças apresentavam de forma estatisticamente significativa uma maior prevalência de níveis de vitamina D inferiores a 75 nmol/L (considerados níveis insuficientes pela *Endocrine Society*) comparativamente com as crianças sem cárie nos dentes permanentes avaliados (Tabela 13).

De forma significativa, um maior número de mães de crianças com lesões de cárie (incluindo as lesões não cavitadas) ou apenas com lesões cavitadas tanto na dentição permanente como na fase mista da dentição, apresentavam menos de dez anos de escolaridade comparativamente com as mães das crianças sem sinais da doença, as quais apresentavam maior escolaridade (Tabela 13).

Relativamente aos comportamentos alimentares, as crianças que apresentavam lesões de cárie ou lesões de cárie apenas em fase de cavitação, apresentavam uma frequência de ingestão diária de bebidas e alimentos cariogênicos maior do que as crianças sem lesões de cárie. Situação que foi verificada quer para a fase mista da dentição quer para a dentição permanente (Tabela 13).

Tabela 13. Características das mães e das crianças de toda a amostra e das crianças de acordo com a presença de cárie dentária (sim/não) na fase mista da dentição e na dentição permanente, e das crianças com presença de cárie dentária cavitada (sim/não) na fase mista da dentição e na dentição permanente.

Presença de cárie dentária										Presença de cárie dentária cavitada					
Características	n	Amostra (n=335)		Fase mista da dentição			Dentição permanente			Fase mista da dentição			Dentição permanente		
		%	Mediana (AIQ)	Sim ^v	Não ^{vi}	p*	Sim ⁺	Não ⁺⁺	p*	Sim ^o	Não ^{oo}	p*	Sim ^s	Não ^{ss}	p*
Características da mãe															
Idade materna (n=335) (anos)															
mediana (AIQ)			29,0 (25-33)	28,5 (24-33)	29,0 (26-33)	0,066	27,0 (23-31.8)	29,0 (26-33)	0,013	28,0 (24-33)	29,0 (26-33)	0,082	27,0 (22-31)	29,0 (25.25-33)	0,008
IMC materno (n=300) (kg/m ²)															
mediana (AIQ)			23,1 (21,2-26,4)	23,4 (21,3-26,9)	22,7 (20,8-25,7)	0,056	23,2 (21,2-26,4)	23,1 (21,1-26,4)	0,957	23,5 (21,3-26,9)	22,6 (20,8-25,7)	0,026	23,2 (21,3-26,3)	23,1 (21,1-26,5)	0,805
Rendimento familiar mensal (n=325) (€)															
Baixo: ≤1000 €	108	33,2		76 (36,4)	32 (27,6)		38 (48,7)	70 (28,3)		72 (35,6)	36 (29,3)		30 (46,2)	78 (30,0)	
Intermédio: 1001-1500 €	91	28,0		62 (29,7)	29 (25,0)	0,055	19 (24,4)	72 (29,1)	0,003	62 (30,7)	29 (23,6)	0,052	16 (24,6)	75 (28,8)	0,042
Alto: >1500 €	126	38,8		71 (34,0)	55 (47,4)		21 (26,9)	105 (42,5)		68 (33,7)	58 (47,2)		19 (29,2)	107 (41,2)	
Escolaridade materna (n=333) (anos)															
≤ 9 anos	160	48,0		114 (53,3)	46 (38,7)		51 (43,1)	109 (43,1)		111 (53,6)	49 (38,9)		43 (64,2)	117 (44,0)	
10-12 anos	101	30,3		66 (30,8)	35 (29,4)	0,002	23 (28,8)	78 (30,8)	0,001	63 (30,4)	38 (30,2)	0,003	18 (26,9)	83 (31,2)	0,004
>12 anos	72	21,6		34 (15,9)	38 (31,9)		6 (7,5)	66 (26,1)		33 (15,9)	39 (31,0)		6 (9,0)	66 (24,8)	
Características da criança															
Género (n=335)															
Feminino	167	49,9		105 (48,6)	62 (52,1)	0,541	36 (45,0)	131 (51,4)	0,320	100 (47,8)	67 (53,2)	0,345	31 (46,3)	136 (50,7)	0,512
Masculino	168	50,1		111 (51,4)	57 (47,9)		44 (55,0)	124 (48,6)		109 (52,2)	59 (46,8)		36 (53,7)	132 (49,3)	
Peso ao nascimento (n=335) (g)															
< 2500 g	18	5,4		12 (5,6)	6 (5,0)		6 (7,5)	12 (4,7)		12 (5,7)	6 (4,8)		5 (7,5)	13 (4,9)	
2500-3800 g	286	85,4		187 (86,6)	99 (83,2)	0,497	68 (85,0)	218 (85,5)	0,539	180 (86,1)	106 (84,1)	0,628	56 (83,6)	230 (85,8)	0,698
>3800 g	31	9,3		17 (7,9)	14 (11,8)		6 (7,5)	25 (9,8)		17 (8,1)	14 (11,1)		6 (9,0)	25 (9,3)	

Tabela 13. Características das mães e das crianças de toda a amostra e das crianças de acordo com a presença de cárie dentária (sim/não) na fase mista da dentição e na dentição permanente, e das crianças com presença de cárie dentária cavitada (sim/não) na fase mista da dentição e na dentição permanente.

Presença de cárie dentária										Presença de cárie dentária cavitada					
		Amostra (n=335)		Fase mista da dentição			Dentição permanente			Fase mista da dentição			Dentição permanente		
Características	n	%	Mediana (AIQ)	Sim ^v	Não ^{vy}	<i>p</i> [*]	Sim [†]	Não ^{††}	<i>p</i> [*]	Sim ^o	Não ^{oo}	<i>p</i> [*]	Sim [§]	Não ^{§§}	<i>p</i> [*]
Idade gestacional (n=271)															
<37 semanas	12	4,4		8 (4,7)	4 (4,0)	1.000	4 (6,1)	8 (3,9)	0,494	8 (4,8)	4 (3,8)	0,771	3 (5,7)	9 (4,1)	0,708
≥37 semanas	259	95,6		164 (95,3)	95 (96,0)		62 (93,9)	197 (96,1)		158 (95,2)	101 (96,2)		50 (94,3)	209 (95,9)	
valores-z do IMC (n=334)															
mediana (AIQ)			0,7 (0-1,6)	0,7 (-0,1-1,8)	0,8 (0,1-1,5)	0,764	0,7 (0,0-2,0)	0,7 (-0,1-1,6)	0,679	0,7 (-0,1-1,8)	0,7 (0,1-1,5)	0,681	0,8 (0,0-2,2)	0,7 (-0,1-1,6)	0,264
Frequência diária de ingestão de alimentos cariogênicos (n=333)															
mediana (AIQ)			2,7 (1,9-4,0)	3,1 (2,1-4,3)	2,3 (1,7-3,3)	<0,001	3,0 (2,1-4,3)	2,6 (1,9-3,9)	0,050	3,1 (12,1-4,3)	2,3 (1,7-3,4)	<0,001	3,1 (2,2-4,3)	2,5 (1,9-3,9)	0,016
Frequência diária de ingestão de bebidas cariogênicas (n=333)															
mediana (AIQ)			1,8 (1,0-3,1)	2,1 (1,3-3,2)	1,3 (0,8-3,0)	0,002	2,4 (1,4-3,6)	1,7 (1,0-3,0)	0,004	2,1 (1,3-3,2)	1,4 (0,8-3,0)	0,005	2,3 (1,3-3,5)	1,7 (1,0-3,1)	0,020
Vitamina D (ref. Endocrine Society) (n=335)															
<75nmol/L	218	65,1		145 (67,1)	73 (61,3)	0,288	61 (76,3)	157 (61,6)	0,016	142 (67,9)	76 (60,3)	0,156	51 (76,1)	167 (62,3)	0,034
≥75nmol/L	117	34,9		71 (32,9)	46 (38,7)		19 (23,8)	98 (38,4)		67 (32,1)	50 (39,7)		16 (23,9)	101 (37,7)	
Vitamina D (ref. IOM) (n=335)															
≤ 50nmol/L	41	12,2		29 (13,4)	12 (10,1)	0,372	12 (15,0)	29 (11,4)	0,388	29 (13,9)	12 (9,5)	0,239	10 (14,9)	31 (11,6)	0,453
> 50nmol/L	294	87,8		187 (86,6)	107 (89,9)		68 (85,9)	226 (88,6)		180 (86,1)	114 (90,5)		57 (85,1)	237 (88,4)	

Valores apresentados a negrito denotam significância estatística ($p < 0,05$). * valor de p : teste U de Mann-Whitney, teste do Qui-quadrado ou teste exato de Fisher, conforme apropriado; $p < 0,001$ (correção de Bonferroni);

Sim^v: $c_{A-6}pod/C_{A-6}POD > 0$: lesão de cárie dentária na fase mista da dentição; Não^{vy}: $c_{A-6}pod/C_{A-6}POD = 0$: sem lesão de cárie dentária na fase mista da dentição; Sim[†]: $C_{A-6}POD > 0$: lesão de cárie dentária na dentição permanente; Não^{††}: $C_{A-6}POD = 0$: sem lesão de cárie dentária na dentição permanente Sim^o: $c_{3-6}pod/C_{3-6}POD > 0$: lesão de cárie dentária cavitada na fase mista da dentição; Não^{oo}: $c_{3-6}pod/C_{3-6}POD = 0$: sem lesão de cárie dentária cavitada na fase mista da dentição; Sim[§]: $C_{3-6}POD > 0$: lesão de cárie cavitada na dentição permanente; Não^{§§}: $C_{3-6}POD = 0$: sem lesão de cárie cavitada na dentição permanente;

AIQ: Amplitude interquartil; IOM: *Institute of Medicine*; ref.: referência.

Na análise do potencial efeito das atividades de “tempos livres” das crianças sobre os seus níveis de vitamina D, não foi verificada nenhuma relação entre os minutos semanais de leitura, a ver televisão ou ambas analisadas concomitantemente e os níveis de vitamina D apresentados pelas crianças. Relativamente às atividades realizadas ao ar livre foi verificada uma correlação positiva significativa ($p=0,031$) com os níveis de vitamina D infantis, contudo, o coeficiente de correlação foi de 0,118, o qual indica que a correlação é negligenciável e, por isso, sem relevância clínica (Tabela 14).

Tabela 14. Associação dose-resposta entre os níveis de 25(OH) D e as atividades de “tempos livres” das crianças aos 7 anos de idade (minutos semanais).

	Vitamina D (nmol/L) vs. Ler (min/semana)	Vitamina D (nmol/L) vs. Ver TV (min/semana)	Vitamina D (nmol/L) vs. Ler e ver TV (min/semana)	Vitamina D (nmol/L) vs. Atividades ao ar livre (min/semana)
n	334	334	334	333
p	0,625	0,300	0,194	0,031
r_s	-0,027	-0,057	-0,071	0,118

Valores apresentados a negrito denotam significância estatística ($p<0,05$).
nmol/L: nanomoles por litro; r: coeficiente de correlação de Spearman.

Pelos resultados acima observados o tempo despendido pelas crianças nas suas atividades de “tempos livres” não foi considerado na avaliação das variáveis relacionadas à presença de lesões de cárie (incluindo ou não as lesões cavitadas), ou mesmo na interação entre os níveis de vitamina D e a cárie dentária.

A prevalência de cárie dentária na amostra (incluindo as lesões não cavitadas) foi de 64,5% na fase mista da dentição e o valor médio do $c_{A-6}pod/C_{A-6}POD$ foi de 3,27 (dp: 3,88). Na dentição permanente, incluindo também as lesões não cavitadas, a prevalência de cárie foi de 23,9% e as crianças apresentavam um valor médio do $C_{A-6}POD$ de 0,49 (dp: 1,11) (Tabela 15).

Quando consideradas apenas as lesões cavitadas, a prevalência de cárie foi de 62,4% na fase mista da dentição e o valor médio do $c_{3-6}pod/C_{3-6}POD$ foi de 3,06 (dp: 3,76). Para a dentição permanente foi observada uma prevalência de cárie de 20,0% e um $C_{3-6}POD$ de 0,41 (dp: 0,98). De salientar que aproximadamente um quarto das crianças apresentava lesões de cárie dentária, incluindo lesões incipientes e um quinto apresentava lesões cavitadas na dentição permanente aos 7 anos. Uma vez mais, a proporção de crianças com

pelo menos 1 dente cariado sobressai claramente entre os restantes componentes deste índice. A cárie não tratada representa, indubitavelmente, o maior componente do índice avaliado (Tabela 15).

Tabela 15. Prevalência e gravidade da cárie dentária na amostra deste estudo.			
Prevalência			
	%	95% IC	
c_{A-6}pod	62,7	57,5-67,9	
c_{A-6}pod/C_{A-6}POD	64,5	59,4-69,6	
C_{A-6}POD	23,9	19,3-28,5	
C₃₋₆pod	60,3	55,1-65,5	
C₃₋₆pod/C₃₋₆POD	62,4	57,2-67,6	
C₃₋₆POD	20,0	15,7-24,3	
Gravidade			
	Média (dp)	C/P/O^a e c/p/o^a	Min-max^c
c_{A-6}pod	2,77 (3,21)	58,81/5,67/16,12	1-14
c_{A-6}pod/C_{A-6}POD	3,27 (3,88)	60,6/5,67/20,9	1-18
C_{A-6}POD	0,49 (1,11)	19,1/0,30/7,16	1-9
	Média (dp)	C/P/O^b e c/p/o^b	Min-max^c
C₃₋₆pod	2,65 (3,17)	55,52/5,67/17,31	0-14
C₃₋₆pod/C₃₋₆POD	3,06 (3,76)	57,31/5,67/21,79	1-17
C₃₋₆POD	0,41 (0,98)	14,63/0,30/7,16	1-4

^a Proporção de crianças com dentes cariados/perdidos/obturados por cárie no índice c_{A-6}pod ou C_{A-6}POD.

^b Proporção de crianças com dentes cariados/perdidos/obturados por cárie no índice c₃₋₆pod ou C₃₋₆POD.

^c Valores mínimos e máximos

IC: intervalo de confiança; dp: desvio-padrão.

A prevalência de cárie dentária e de cárie dentária cavitada foi maior tanto na dentição permanente como na fase mista da dentição nas crianças com níveis insuficientes de vitamina D, quer considerando os valores da *Endocrine Society* (<75 nmol/L) como os do IOM (≤50 nmol/L) (Tabela 16).

Para a amostra estudada, a associação entre a presença de cárie dentária e de cárie dentária cavitada com os níveis de vitamina D das crianças não foi afetada pela estação do ano em que foi realizada a colheita de sangue (Tabela 16).

Tabela 16. Prevalência de cárie dentária e de cárie dentária cavitada na fase mista da dentição e na dentição permanente de acordo com os níveis séricos de vitamina D.

	25(OH) D <75nmol/L		25(OH) D ≥75nmol/L		25(OH) D ≤50nmol/L		25(OH) D >50nmol/L	
	n (%)	95% IC	n (%)	95% IC	n (%)	95% IC	n (%)	95% IC
Presença de cárie dentária								
Fase mista da dentição	145 (66,5)	60,3-72,8	71 (60,7)	51,8-69,5	29 (70,7)	56,8-84,7	187 (63,6)	58,1-69,1
Dentição permanente	61 (28,0)	22,0-33,9	19 (16,2)	9,6-22,9	12 (29,3)	15,3-43,2	68 (23,1)	18,3-28,0
Presença de cárie dentária cavitada								
Fase mista da dentição	142 (65,1)	58,8-71,5	67 (57,3)	48,3-66,2	29 (70,7)	56,8-84,7	180 (61,2)	55,7-66,8
Dentição permanente	51 (23,4)	17,8-29,0	16 (13,7)	7,5-19,9	10 (24,4)	11,3-37,5	57 (19,4)	14,9-23,9

Nos modelos de regressão não ajustados, as crianças com níveis de 25(OH) D <75 nmol/L apresentavam uma frequência significativamente maior de cárie dentária (incluindo lesões incipientes) (OR=2,00; IC 95%: 1,13-3,56; $p=0,018$) e cárie dentária cavitada (OR=1,93; IC 95%: 1,04-3,56; $p=0,036$), na dentição permanente, comparativamente com as crianças com níveis de 25(OH) D ≥75 nmol/L (Tabela 17).

Tabela 17. Associação não ajustada entre a presença de cárie dentária e de cárie dentária cavitada com os níveis de vitamina D das crianças e a interação entre os níveis de vitamina D e estação do ano.

	Presença de cárie dentária		Presença de cárie dentária cavitada	
	OR	95 % IC	OR	95 % IC
Dentição permanente				
25(OH) D <75nmol/L	2,00	1,13-3,56	1,93	1,04-3,56
25(OH) D ≤50nmol/L	1,38	0,67-2,84	1,34	0,62-2,90
Estação do ano (inverno) x níveis de 25(OH) D (<75nmol/L)	1,38	0,82-2,33	1,26	0,72-2,20
Fase mista da dentição				
25(OH) D <75nmol/L	1,29	0,90-2,40	1,39	0,88-2,21
25(OH) D ≤50nmol/L	1,38	0,68-2,82	1,53	0,75-3,12
Estação do ano (inverno) x níveis de 25(OH) D (<75nmol/L)	1,47	0,90-2,40	1,49	0,92-2,40

Valores apresentados a negrito denotam significância estatística ($p<0,05$).

Variáveis inseridas na etapa 1: Níveis de vitamina D <75 nmol/L; Estação do ano x níveis de vitamina D <75 nmol/L (interação); IC: intervalo de confiança; nmol/L: nanomoles por litro; OR: odds ratio.

Na tabela 18 é apresentada a análise bivariada entre a presença de cárie dentária e a presença de cárie dentária cavitada, na fase mista da dentição e na dentição permanente, e as variáveis de exposição consideradas.

Na fase mista da dentição e na dentição permanente, a presença de ambos os *outcomes* dentários considerados estavam associados a crianças cujas mães apresentavam menos anos de escolaridade (≤ 9 anos e 10-12 anos), crianças que aos 7 anos já haviam realizado consulta de medicina dentária (exceção para a presença de cárie dentária na dentição permanente) e que, em média, tinham uma maior ingestão diária de bebidas e alimentos cariogénicos (Tabela 18).

As doenças gastrointestinais e os problemas renais demonstraram estar associados à presença de cárie dentária cavitada na dentição permanente ($p=0,030$) e na fase mista da dentição ($p=0,046$), respetivamente (Tabela 18).

Tabela 18. Análise bivariada entre a presença de cárie dentária e a presença de cárie dentária cavitada na fase mista da dentição e na dentição permanente com as variáveis independentes (exposição).

Presença de cárie dentária							Presença de cárie dentária cavitada					
Fase mista da dentição (c _{A-6} pod e C _{A-6} POD)			Dentição permanente (C _{A-6} POD)			Fase mista da dentição (c ₃₋₆ pod e C ₃₋₆ POD)			Dentição permanente (C ₃₋₆ POD)			
	Não n (%)	Sim n (%)	p	Não n (%)	Sim n (%)	p	Não n (%)	Sim n (%)	p	Não n (%)	Sim n (%)	p
Idade gestacional												
<37 semanas	4 (4,0)	8 (4,7)	1,000	8 (3,9)	4 (6,1)	0,494	4 (3,8)	8 (4,8)	0,771	9 (4,1)	3 (5,7)	0,708
≥37 semanas	95 (96,0)	164 (95,3)		197 (96,1)	62 (93,9)		101 (96,2)	158 (95,2)		209 (95,9)	50 (94,3)	
Peso ao nascimento (g)												
n	119	216	0,505	255	80	0,808	126	209	0,519	268	67	0,707
Mediana (AIQ)	3215	3250		3255	3190		3212,5	3250		3250	3230	
	(2790-3535)	(2962,8-3512,5)		(2850-3530)	(3012,5-3478,8)		(2807,5-3531,3)	(2957,5-3525)		(2882,5-3530)	(3000-3485)	
Escolaridade materna												
≤ 9 anos	46 (38,7)	114 (53,3)	0,002	109 (43,1)	51 (63,8)	0,001	49 (38,9)	111 (53,6)	0,003	117 (44,0)	43 (64,2)	0,004
10-12 anos	35 (29,4)	66 (30,8)		78 (30,8)	23 (28,8)		38 (30,2)	63 (30,4)		83 (31,2)	18 (26,9)	
>12 anos	38 (31,9)	34 (15,9)		66 (26,1)	6 (7,5)		39 (31,0)	33 (15,9)		66 (24,8)	6 (9,0)	
Toma de fármacos e vitaminas												
Não	99 (83,9)	181 (84,6)	0,870	213 (83,9)	67 (85,9)	0,665	103 (82,4)	177 (85,5)	0,450	223 (83,8)	57 (86,4)	0,613
Sim	19 (16,1)	33 (14,5)		41 (16,1)	11 (14,1)		22 (17,6)	30 (14,5)		43 (16,2)	9 (13,6)	
Fraturas ósseas												
Não	114 (95,8)	199 (92,6)	0,243	237 (92,9)	76 (96,2)	0,297	120 (95,2)	193 (92,8)	0,371	249 (92,9)	64 (97,0)	0,224
Sim	5 (4,2)	16 (7,4)		18 (7,1)	3 (3,8)		6 (4,8)	15 (7,2)		19 (7,1)	2 (3,0)	
Distúrbios gastrointestinais												
Não	114 (96,6)	208 (97,2)	0,748	249 (98,0)	73 (93,6)	0,059	120 (96,0)	202 (97,6)	0,511	261 (98,1)	61 (92,4)	0,030
Sim	4 (3,4)	6 (2,8)		5 (2,0)	5 (6,4)		5 (4,0)	5 (2,4)		5 (1,9)	5 (7,6)	
Doenças renais												
Não	113 (95,0)	210 (98,1)	0,176	244 (96,1)	79 (100)	0,125	119 (94,4)	204 (98,6)	0,046	256 (96,2)	67 (100)	0,222
Sim	6 (5,0)	4 (1,9)		10 (3,9)	0 (0,0)		7 (5,6)	3 (1,4)		10 (3,8)	0 (0,0)	
Distúrbios musculares												
Não	111 (94,9)	208 (97,2)	0,357	243 (96,0)	76 (97,4)	0,739	118 (95,2)	201 (97,1)	0,376	254 (95,8)	65 (98,5)	0,472
Sim	6 (5,1)	6 (2,8)		10 (4,0)	2 (2,6)		6 (4,8)	6 (2,9)		11 (4,2)	1 (1,5)	
Consulta de medicina dentária												
Não	35 (30,7)	36 (17,6)	0,007	58 (24,2)	13 (16,5)	0,153	36 (30,0)	35 (17,6)	0,010	63 (24,9)	8 (12,1)	0,026
Sim	79 (69,3)	169 (82,4)		182 (75,8)	66 (83,5)		84 (70,0)	164 (82,4)		190 (75,1)	58 (87,9)	

Frequência de escovagem dentária											
< 1 vez/dia	35 (29,4)	83 (40,1)		89 (35,3)	29 (39,2)		37 (29,4)	81 (40,5)		93 (35,2)	25 (40,3)
1 vez/dia	35 (29,4)	56 (27,1)	0,136	67 (26,6)	24 (32,4)	0,295	36 (28,6)	55 (27,5)	0,088	69 (26,1)	22 (35,5)
≥ 2 vezes/dia	49 (41,2)	68 (32,9)		96 (38,1)	21 (28,4)		53 (42,1)	64 (32,0)		102 (38,6)	15 (24,2)
Frequência diária de ingestão de alimentos cariogênicos											
n	119	214		255	78		126	207		267	66
Mediana (AIQ)	2,3 (1,7-3,3)	3,1 (2,1-4,3)	<0,001	2,6 (1,9-3,9)	3,0 (2,1-4,3)	0,050	2,3 (1,7-3,4)	3,1 (2,1-4,3)	<0,001	2,5 (1,9-3,9)	3,1 (2,2-4,3)
Frequência diária de ingestão de bebidas cariogênicas											
n	119	214		255	78		126	207		267	66
Mediana (AIQ)	1,3 (0,8-3,0)	2,1 (1,3-3,2)	0,002	1,7 (1,0-3,0)	2,4 (1,4-3,6)	0,004	1,4 (0,8-3,0)	2,1 (1,3-3,2)	0,005	1,7 (1,0-3,1)	2,3 (1,3-3,5)
z-IMC											
n	119	215		255	79		126	208		267	67
Mediana (AIQ)	0,8 (0,1-1,5)	0,7 (-0,1-1,8)	0,764	0,7 (-0,1-1,6)	0,7 (0,0-2,0)	0,679	0,7 (0,1-1,5)	0,7 (-0,1-1,8)	0,681	0,7 (-0,1-1,6)	0,8 (0,0-2,2)
Vitamina D											
n	119	216		255	80		126	209		268	67
Mediana (AIQ)	27,0 (22,0-32,0)	26,0 (22,3-32,0)	0,425	27,0 (22,0-32,0)	25,0 (22,3-29,0)	0,086	27,0 (22,0-32,3)	26,0 (22-32,0)	0,233	27,0 (22,0-32,0)	25,0 (22,0-29,0)

Valores apresentados a negrito denotam significância estatística ($p < 0,05$).

Os dados são apresentados como proporções (%) para medidas categóricas e valores medianos e intervalo interquartil para medidas contínuas. As diferenças entre os grupos foram testadas com o teste Exato de Fisher ou o teste do Qui-quadrado para variáveis categóricas e com o teste U de Mann-Whitney para as variáveis quantitativas.

Não^W: $c_{A-6}pod/C_{A-6}POD=0$: sem lesão de cárie dentária na fase mista da dentição; Sim^W: $c_{A-6}pod/C_{A-6}POD>0$: lesão de cárie dentária na fase mista da dentição; Não^{††}: $C_{A-6}POD=0$: sem lesão de cárie dentária na dentição permanente; Sim[†]: $C_{A-6}POD>0$: lesão de cárie dentária na dentição permanente; Sim⁰: $c_{3-6}pod/C_{3-6}POD>0$: lesão de cárie dentária cavitada na fase mista da dentição; Não^{††}: $c_{3-6}pod/C_{3-6}POD=0$: sem lesão de cárie dentária cavitada na fase mista da dentição; Não^{§§}: $C_{3-6}POD=0$: sem lesão de cárie cavitada na dentição permanente; Sim[§]: $C_{3-6}POD>0$: lesão de cárie cavitada na dentição permanente.
g: gramas; AIQ: amplitude interquartil.

De acordo com o critério estipulado e previamente apresentado, as variáveis com $p < 0,20$ na análise bivariada em relação à presença de cárie dentária e a presença de cárie dentária cavitada, foram incluídas na primeira etapa do modelo de regressão logística.

Os níveis de vitamina D foram incluídos no modelo uma vez que primeiro, cumpriam o critério estabelecido ($p < 0,20$, variável analisada como contínua) e segundo, tal como apresentado na análise bivariada na tabela 13, os níveis de 25(OH) D < 75 nmol/L e ≥ 75 nmol/L demonstraram estar associados de forma estatisticamente significativa com a presença de cárie dentária e de cárie dentária cavitada na dentição permanente. Pelos resultados observados apenas a vitamina D, como variável categórica de acordo com o ponto de referência da *Endocrine Society* (25(OH) D < 75 nmol/L vs. ≥ 75 nmol/L) foi incluída no modelo de regressão logística multivariável.

O ajuste para a escolaridade materna não atenuou a associação entre a presença de cárie dentária na dentição permanente ($C_{A-6}POD > 0$) e as seguintes variáveis independentes: maior ingestão diária de bebidas cariogênicas e consulta de medicina dentária aos 7 anos de idade (Tabela 19).

Tabela 19. Associação (modelo de regressão logística multivariada) entre a presença de cárie dentária e a presença de cárie dentária cavitada na dentição permanente e na fase mista da dentição e as variáveis de exposição consideradas.

	Fase mista da dentição		Dentição permanente	
	Presença de cárie dentária*	Presença de cárie dentária cavitada*	Presença de cárie dentária*	Presença de cárie dentária cavitada*
	OR (95% IC)	OR (95% IC)	OR (95% IC)	OR (95% IC)
Doenças gastrointestinais (Sim)	–	–	3,23 (0,78-13,44)	5,01 (1,13-22,15)
Bebidas cariogênicas (+1 bebida/dia)	–	–	1,20 (1,02-1,41)	–
Alimentos cariogênicos (+1 alimento/dia)	1,41 (1,18-1,68)	1,39 (1,18-1,65)	–	1,20 (1,03-1,40)
Consulta de Medicina Dentária (Sim)	2,94 (1,61-5,39)	2,68 (1,47-4,89)	2,57 (1,16-5,68)	3,21 (1,26-8,22)
Níveis de vitamina D (< 75 nmol/L)	–	–	1,64 (0,87-3,03)	2,27 (1,05-5,00)
Estação do ano x níveis de vitamina D (inverno x < 75 nmol/L)	0,52 (0,20-1,39)	–	–	2,93 (0,80-10,83)

Valores apresentados a negrito denotam significância estatística ($p < 0,05$).

a. Variáveis inseridas na etapa 1: escolaridade materna, doenças gastrointestinais, doenças renais, consulta de medicina dentária, frequência de escovagem dentária, frequência de ingestão de bebidas cariogênicas, frequência de ingestão de alimentos cariogênicos, níveis de 25(OH) D (*Endocrine Society*), interação (inverno x 25(OH) D < 75 nmol/L).

*Modelos ajustados para a escolaridade materna.

IC: intervalo de confiança; nmol/L: nanomoles por litro; OR: *odds ratio*.

A associação entre os níveis de vitamina D <75 nmol/L e a presença de cárie dentária na dentição permanente não foi significativa (OR=1,64 (IC 95%: 0,87-3,03); $p=0,127$) no modelo de regressão multivariável. Todavia, esta análise indicou uma associação ajustada significativa entre os níveis de vitamina D <75 nmol/L e a presença de cárie dentária cavitada na dentição permanente (OR=2,27 (IC 95%: 1,05-5,00); $p=0,037$) (Tabela 19).

Similarmente, foi verificado que a maior ingestão diária de alimentos cariogénicos pelas crianças (OR=1,30 (IC: 1,03-1,40); $p=0,018$), as mesmas já terem realizado consulta de medicina dentária aos 7 anos de idade (OR=3,21 (IC:1,26-8,22); $p=0,015$) e apresentarem patologias do foro gastrointestinal (OR=5,01 (IC: 1,13-22,15); $p=0,034$) foram também variáveis associadas à presença de cárie dentária cavitada nos dentes permanentes após ajuste para escolaridade materna (Tabela 19).

As análises de regressão logística realizadas indicaram uma associação significativa não ajustada (OR=1,93 (IC:1,04-3,56); $p=0,036$) (Tabela 17) e ajustada (OR=2,27 (IC:1,05-5,00); $p=0,037$) (Tabela 19) entre os níveis de vitamina D <75 nmol/L e a presença de cárie dentária cavitada na dentição permanente.

Relativamente à fase mista da dentição, as mesmas variáveis independentes foram associadas à presença de cárie dentária ($c_{A-6pod}/C_{A-6POD}>0$) e à presença de cárie dentária cavitada ($c_{3-6pod}/C_{3-6POD}>0$) após o ajuste para a escolaridade materna. A criança já ter realizado consulta de medicina dentária aos 7 anos de idade e ingerir mais do que 1 alimento cariogénico por dia são comportamentos que demonstraram estar associados aos dois *outcomes* dentários avaliados. Não foi observada uma associação estatisticamente significativa entre os níveis de vitamina D ou o termo de interação (vitamina D <75 nmol/L x inverno) e a presença de cárie dentária e de cárie dentária cavitada na fase mista da dentição mista (Tabela 19).

Pelas análises de regressão logística realizadas não foi detetada nenhuma associação estatisticamente significativa não ajustada ou ajustada entre os níveis de vitamina D e a presença de cárie dentária e de cárie dentária cavitada na fase mista da dentição.

4. Discussão

A consecução deste estudo, com uma base metodológica rigorosa e estritamente arquitetada para transpor algumas das limitações identificadas no capítulo IV, permitiu obter resultados robustos e precisos sobre a associação entre os níveis de vitamina D e a presença de cárie dentária nas crianças de 7 anos de idade de uma amostra por conveniência da coorte Geração XXI.

Os resultados deste estudo demonstraram que os níveis de 25(OH) D <75 nmol/L foram associados à presença de cárie dentária (incluindo ou não lesões de cárie incipientes) na dentição permanente. Esta associação não foi atenuada para a presença de cárie dentária cavitada mesmo após o ajuste para fatores socioeconómicos como a escolaridade materna. Além disso, as crianças com níveis de 25(OH) D ≥ 75 nmol/L representavam, de uma forma estatisticamente significativa, uma menor proporção de crianças com lesões de cárie e lesões de cárie cavitadas na fase mista da dentição. No entanto, estas concentrações séricas de 25(OH) D não foram significativamente correlacionadas com as lesões de cárie na fase mista da dentição, tanto no modelo ajustado como no modelo não ajustado. Relativamente aos valores de referência do IOM nenhuma associação foi observada entre os níveis de 25(OH) D ≤ 50 nmol/L e os *outcomes* dentários avaliados quer na dentição permanente quer na fase mista da dentição.

Estes resultados constituem uma informação de elevada relevância representando um contributo adicional para a construção de um conhecimento credível sobre um assunto que continua a suscitar muita controvérsia. Os valores de referência de suficiência de vitamina D na idade pediátrica parecem convergir, de forma consensual, para valores superiores a 50 nmol/L ⁽⁴²⁵⁾. Todavia, perante estes resultados constata-se se que a cárie dentária pode constituir parte da miríade de doenças para a qual o valor de corte de 50 nmol/L pode não representar o valor desejável para a otimização da saúde dentária. Este facto apoia e incita a realização de estudos longitudinais que permitam a aquisição de um conhecimento hercúleo sobre esta temática e, deste modo, seja possível compreender qual a concentração de vitamina D adequada para as funções extra-esqueléticas.

Os dados disponíveis sobre as concentrações de vitamina D na população pediátrica europeia são limitados e restritos apenas a alguns países ⁽²⁶³⁾.

Numa revisão sistemática publicada em 2018 foi verificado que apesar da abundância de radiação solar UVB nas regiões do Sul da Europa e das áreas leste do Mediterrâneo, mais de um terço dos estudos reportaram níveis médios de vitamina D inferiores a 50 nmol/L. Os autores realçaram ainda uma deficiência evidente de vitamina D em todos os subgrupos da população, destacando uma deficiência mais demarcada nos recém-nascidos, bebés e adolescentes, que atravessam períodos críticos de crescimento e desenvolvimento ósseo geral ⁽²³⁰⁾.

Para a amostra em estudo o nível médio de 25(OH) D foi de 69,8 nmol/L (dp: 20,5). Considerando a estação do ano de recolha de sangue nas crianças, a concentração média de 25(OH) D foi de 75,5 nmol/L (dp: 22,0) nos meses de verão e de 60,8 nmol/L (dp: 13,8) nos meses de inverno. As crianças da amostra deste estudo (Porto, Portugal), comparativamente com outras crianças de idade similar de outros países do Sul da Europa, nomeadamente, de Espanha (Pamplona e Astúrias), de Itália (Toscana, Florença e Verona) e da Turquia (Istambul) apresentaram níveis de 25(OH) D significativamente mais elevados. Mesmo estratificando por estação do ano, os níveis médios de vitamina D em Istambul são significativamente mais baixos do que os níveis observados na amostra deste estudo, tanto nos meses de verão como nos meses de inverno ⁽²⁷²⁾.

Curiosamente, a estação do ano na qual foi realizada a colheita sanguínea (verão vs. inverno) não afetou a associação entre a presença de cárie dentária (incluindo ou não as lesões incipientes) e os níveis de vitamina D. Este resultado pode ser decorrente das crianças portuenses apresentarem uma exposição solar insuficiente, mesmo nos meses de verão devido a um estilo de vida mais sedentário e ao uso excessivo de filtro solar com elevado fator de proteção promovido por campanhas de prevenção do cancro cutâneo ⁽²⁷²⁾.

Tal como reportado previamente, apesar de todos os esforços preventivos e terapêuticos desenvolvidos nas últimas décadas, a cárie dentária permanece como uma doença com elevada prevalência na faixa etária pediátrica ⁽²⁶⁷⁾. Neste sentido, compreender os mecanismos subjacentes que relacionam os eventos no início da vida das crianças e a

ocorrência posterior de cárie dentária poderá ser fundamental para o desenvolvimento de estratégias preventivas num âmbito mais holístico.

Sob esta perspetiva residiu o fundamento que impulsionou o estudo sobre a possível associação entre os níveis de vitamina D maternos e a prevalência de cárie na dentição decídua e os níveis de vitamina D na primeira infância e a prevalência de cárie dentária na dentição permanente.

Considerando, particularmente a faixa etária das crianças deste estudo, foi verificado que os resultados deste estudo corroboram os de Herzog e os seus colaboradores, os quais não encontraram nenhuma associação estatisticamente significativa entre os níveis de vitamina D e a cárie dentária cavitada na fase mista da dentição em crianças entre os 5 e os 12 anos de idade ⁽¹³⁾. Por outro lado, Schroth et al. observaram que as crianças com níveis de vitamina D ≥ 75 nmol/L apresentavam uma probabilidade 39% menor para o desenvolvimento de cárie na fase mista da dentição ⁽¹²⁾.

Relativamente à dentição permanente Kühnisch e os seus colaboradores verificaram que os níveis séricos mais elevados de 25(OH) D foram associados a uma menor incidência de cárie em dentes permanentes ⁽⁴¹⁷⁾. Nos resultados de Kim et al. foi verificado que as crianças com baixos níveis de vitamina D apresentavam uma maior proporção de cárie na dentição permanente, particularmente nos primeiros molares permanentes ⁽³⁶⁰⁾, que representam no nosso estudo, a maior parte dos dentes permanentes avaliados. Os resultados do nosso estudo realizado com as crianças portuguesas corroboram os resultados de Kühnisch e colaboradores ⁽⁴¹⁷⁾ e Kim e colaboradores ⁽³⁶⁰⁾.

Outras covariáveis que demonstraram estar associadas à presença de cárie nesta amostra foram as doenças gastrointestinais, a ingestão diária aumentada de bebidas e alimentos cariogénicos e a realização de consulta de medicina dentária até aos 7 anos de idade. Estes resultados quer pela inteligibilidade ou, por outro lado, pela incompreensão das relações encontradas são dignos de reflexão.

Relativamente à ingestão frequente de quantidades excessivas de bebidas adoçadas com açúcar é incontestável a sua relação com várias doenças e condições de saúde nas crianças, nas quais se inclui a cárie dentária ⁽⁴²⁶⁾. Llena e Calabuig num estudo de coorte recente

observaram que uma dieta cariogénica, especialmente a ingestão de refrigerantes estava associada a um valor elevado no índice CPOD global, mas sobretudo a um elevado valor do CPOD nos primeiros molares permanentes ⁽³⁹⁶⁾. Os resultados verificados neste estudo corroboram esta observação de Llena e Calabuig para as crianças espanholas. Neste panorama alimentar, estes resultados enfatizam e encorajam à adoção da recomendação preconizada pela OMS em 2015, a redução da ingestão de açúcares para menos de 5% da ingestão energética diária com o propósito da proteção da saúde oral ^(85,86,89,382).

Por outro lado, no que concerne à realização de consultas de medicina dentária, a ausência de consulta ou a irregularidade na sua frequência devida, são comportamentos que têm sido associados a um risco aumentado de cárie dentária ⁽⁴²⁷⁾. Curiosamente, os nossos resultados demonstraram que as crianças que já tinham realizado consulta de medicina dentária até aos 7 anos de idade apresentavam uma maior probabilidade de cárie dentária, tanto na fase mista da dentição como nos dentes permanentes, comparativamente com as que nunca tinham realizado consulta nesta especialidade. Apesar deste resultado afigurar-se como surpreendente e relativamente contraditório, esta observação pode ser resultante da decisão dos responsáveis apenas terem procurado atendimento médico-dentário em situações de presença de cárie dentária evidente com necessidade de implementação terapêutica. Acredita-se que à data da avaliação das crianças do nosso estudo, os cuidadores ainda não estariam suficientemente sensibilizados para a importância da saúde oral e, por isso, a realização de consultas de âmbito preventivo poderia representar um comportamento que ainda não estaria incutido nos responsáveis como necessário e fundamental. Apesar de portentosos os nossos resultados estão de acordo com outros publicados previamente ^(12,428).

Este estudo alude a um período particular do desenvolvimento da criança, a qual a nível dentário, encontra-se na fase mista da dentição. A maioria dos estudos de cárie dentária são concebidos na dentição decídua ou na dentição permanente, parecendo ficar descurado o conhecimento sobre esta fase peculiar do desenvolvimento orodentário.

Nesta perspetiva, os resultados deste estudo devem ser interpretados considerando o período de erupção e de permanência de todos os dentes que a criança apresenta na sua cavidade oral, recordando que nesta idade as crianças apresentam quase todos os dentes

decíduos, os quais erupcionaram entre os 6 meses e os 3 anos de idade, e os primeiros dentes permanentes que se encontram em erupção entre os 6 e os 7 anos. Com base neste conhecimento, depreende-se que os dentes decíduos apresentam, comparativamente com os permanentes, um período consideravelmente maior de exposição a fatores comportamentais de risco para a cárie dentária.

Assente nesta premissa não é surpreendente que a associação entre os níveis de vitamina D e a presença de cárie dentária se vá dissipando, sendo atenuada ao longo do tempo pela exposição a outros fatores de risco para o desenvolvimento da doença. No cômputo desta interpretação equaciona-se que outros fatores de risco para a cárie dentária (relacionados com a alimentação e com os hábitos de higiene oral) podem sobrepor-se ao possível efeito preventivo da vitamina D no processo de início e progressão da cárie. Daí que, os níveis insuficientes de vitamina D neste estudo estejam associados com a presença de cárie dentária apenas nos dentes permanentes, os quais erupcionaram recentemente.

Na análise dos resultados deste estudo devem ser evidenciados os aspetos metodológicos inerentes ao desenho e à estratégia desta investigação que permitiram contribuir para a aquisição de um conhecimento mais consistente nesta área, assim como, devem ser assinaladas as limitações a serem suplantadas em estudos futuros.

A avaliação laboratorial dos níveis de 25(OH) D reside num dos pontos fortes desta investigação. O nível sérico de 25(OH) D é o melhor indicador do conteúdo corporal de vitamina D ⁽²⁶²⁾. Com este propósito neste estudo, foi realizado um imunoensaio por eletroquimioluminescência, um teste direto, competitivo e confiável que permitiu a mensuração da vitamina D total (proveniente de fonte endógena e exógena). Contrariamente a alguns estudos, em que é realizada uma estimativa destes níveis através da quantificação de vários fatores relacionados com as características dos participantes, nomeadamente, o conteúdo da sua dieta. No entanto, ressalva-se que existem métodos mais fidedignos para avaliar com maior precisão e exatidão os níveis de vitamina D, como por exemplo, a cromatografia líquida de alta resolução, método que pelas particularidades de execução técnica que encerra não era de utilização viável no contexto deste estudo.

Outro aspeto positivo que deve ser registado nesta investigação consiste na inclusão de variáveis não estudadas previamente e que poderiam afetar a relação entre a vitamina D

e a cárie dentária, como por exemplo, o tempo despendido pelas crianças em atividades de “tempos-livres” e a estação do ano em que foram realizadas as colheitas sanguíneas. A inclusão destas variáveis contribuiu para que uma reflexão mais ampla e integrada pudesse ser realizada sobre o tema.

O nível de educação parental representa um dos fatores que melhor representa a condição socioeconómica da família uma vez que não determina apenas a disponibilidade financeira para o acesso a métodos preventivos no domicílio ou ao nível do acesso a cuidados profissionais, mas também porque tem influência sobre características não materiais, como a literacia e os cuidados em saúde, sobretudo relacionados com os hábitos alimentares e de higiene oral ^(132,262,429). Pelo descrito previamente no capítulo II, secção I desta dissertação está claramente reconhecido na literatura que o nível de escolaridade materna apresenta um efeito direto na experiência de cárie dentária das crianças ⁽⁴³⁰⁾. Com base no impacto deste fator de natureza socioeconómica na saúde oral infantil, neste estudo, a associação entre os níveis de vitamina D e a cárie dentária foi ajustada para este potencial fator confundidor.

Nos critérios definidos para avaliação da cárie dentária foi considerado e aplicado o sistema ICDAS II em toda a sua abrangência. A utilização deste sistema permitiu-nos categorizar as lesões de cárie como cavitadas e não cavitadas e distinguirmos as restaurações dentárias das ditas “restaurações preventivas”. Esta decisão possibilitou a realização de uma análise complexa com base na gravidade das lesões de cárie, tornando possível analisar a influência das variáveis independentes consideradas para a presença de cárie dentária, incluindo as lesões não cavitadas e apenas para as lesões de cárie mais graves (em fase de cavitação). De realçar que todos os procedimentos de observação e registo de cárie foram realizados por médicos dentistas treinados e calibrados. Este aspeto metodológico permitiu melhorar a consistência do diagnóstico de cárie dentária.

A aplicação desta metodologia de análise tanto para a fase mista da dentição, considerando todos os dentes presentes na cavidade oral aos 7 anos e, separadamente, apenas para os dentes permanentes demonstrou ser um dos pontos mais fortes deste trabalho. O período de tempo desigual de exposição dos dentes decíduos e permanentes a outros fatores comportamentais, tal como já foi previamente reportado, poderia

contribuir para introdução de vieses na interpretação dos resultados. Através desta opção metodológica foi possível obter resultados mais sólidos e confiáveis.

Por outro lado, o desenho transversal deste estudo é identificado como a principal limitação nesta investigação, não possibilitando a determinação de uma relação de causalidade entre as exposições estudadas e a cárie dentária nas crianças aos 7 anos de idade. A natureza deste estudo não nos facultou a noção prévia exata sobre os níveis de vitamina D nas crianças no período da odontogénese ⁽⁴³¹⁾. No entanto, com base no conhecimento de que as concentrações de vitamina D não se alteram substancialmente durante a infância, as crianças que aos 7 anos apresentavam níveis suficientes de vitamina D possivelmente apresentavam, de forma análoga, concentrações de 25(OH) D adequadas no período da formação e do desenvolvimento dentário ⁽⁴¹⁷⁾.

Outra limitação deste estudo consistiu na inclusão de uma amostra por conveniência, a qual pela sua natureza não aleatória, pode limitar a generalização dos resultados observados.

5. Conclusões

Para a amostra de crianças portuguesas considerada neste estudo, os níveis de vitamina D <75 nmol/L estão associados à presença de cárie dentária na dentição permanente. Não obstante, considerando os níveis de 25(OH) D de referência do IOM, nenhuma associação foi verificada para os *outcomes* dentários avaliados aos 7 anos de idade.

Na fase mista da dentição não foi observada nenhuma associação entre a presença de cárie dentária e os níveis de referência de vitamina D da *Endocrine Society* ou do IOM. Os resultados demonstraram que para este período da dentição outros fatores, sobretudo de ordem comportamental, surgem com maior relevância para a ocorrência de cárie dentária.

Foi verificado que a vitamina D, especificamente os níveis suficientes de 25(OH) D preconizados pela *Endocrine Society*, podem influir na prevalência da cárie dentária nas crianças. Suscitada a sua importância como um possível e importante determinante de cárie dentária, deve ser reforçada entre os investigadores, a necessidade de estudos

longitudinais com metodologias rígidas e inexoráveis que permitam, de forma evidente, identificar a posição da vitamina D como potencial fator protetor para a cárie dentária, dada a plausibilidade biológica dos mecanismos que lhe estão subjacentes.

As políticas de saúde oral maternas e infantis devem contemplar sempre medidas preventivas direcionadas aos comportamentos de risco para a ocorrência de cárie dentária, nomeadamente, aos hábitos alimentares e de higiene oral. No entanto, paralelamente a estas, outras medidas destinadas a melhorar os níveis de vitamina D nas grávidas e nas crianças mais jovens devem ser salvaguardadas.

A suplementação de vitamina D durante o primeiro ano de vida é uma medida de saúde pública universal e por isso deve ser adequadamente assegurada pelos pediatras ou médicos de saúde geral e familiar que acompanham a criança. Também na grávida está igualmente prevista a suplementação de vitamina D como parte de um suplemento combinado, do qual fazem parte outros micronutrientes como o ferro e o ácido fólico.

A par das atuais recomendações preconizadas de vitamina D, as grávidas e as crianças devem ser encorajadas a seguir um estilo de vida saudável, associado a um IMC normal com uma dieta com alimentos com vitamina D e à prática de atividades ao ar livre com uma exposição solar adequada.

Os resultados deste estudo encontram-se publicados na revista *Nutrients* ⁽⁴³²⁾.

CAPÍTULO VI

– Discussão

VI – Discussão

Ao longo da realização das várias etapas metodológicas que esta dissertação comportou, em cada capítulo foram discutidos os resultados obtidos, evidenciado o aporte de nova informação para a construção do conhecimento científico, assim como, foram identificadas as principais limitações que cada estudo apresentava.

Neste capítulo específico, no cômputo geral dos objetivos estipulados, pretende-se apenas realizar uma análise global sumária, tal como, uma reflexão crítica sobre as metodologias de estudo efetivadas.

1. Análise crítica e limitações metodológicas

1.1 Cárie dentária na população pediátrica

O enquadramento teórico realizado no capítulo II, secção I permitiu através de uma revisão da literatura atual, a aquisição de um conhecimento estruturado e inteligível relativamente à conceção, epidemiologia e abordagem preventiva da cárie dentária na população pediátrica. Os determinantes de cárie dentária e a epidemiologia da doença em Portugal foram estudados de forma abrangente e alvo de um escrutínio particular.

Em Portugal, o conhecimento sobre a epidemiologia da cárie dentária na população pré-escolar tem aumentado consideravelmente na última década. Denota-se que existe um interesse crescente nesta população pediátrica específica e que muitos esforços têm sido realizados no sentido da prevenção da doença, numa fase cada vez mais precoce. Contudo, os estudos publicados relativamente a esta faixa etária não apresentam o caráter nacional verificado, por exemplo, para as crianças em idade escolar.

De uma forma transversal, para os estudos portugueses avaliados e, de acordo com os critérios da OMS (2003) relativamente ao valor médio do índice cpod/CPOD, as amostras dos estudos classificam-se como de baixo (0,1-1,1) a moderado risco (1,2-2,6) de cárie dentária ⁽¹⁴⁸⁾.

Pela análise detalhada destes estudos, constata-se que em Portugal verificam-se as mesmas dificuldades reportadas por outros investigadores quando o objetivo reside na comparação de dados de diferentes localizações geográficas. Na realidade, existem muitos dados sobre a prevalência da cárie dentária a nível nacional, contudo, pelas diferenças observadas na amplitude das faixas etárias estudadas, pela divergência dos critérios usados para a identificação e classificação da doença, pelos diferentes níveis de experiência e calibragem dos investigadores, a comparação dos dados torna-se imprecisa.

Por outro lado, o relevo direcionado para o estudo dos determinantes de cárie dentária teve por base a convicção de que existindo um conhecimento végeto e abrangente sobre os fatores que determinam a doença, as medidas preventivo-terapêuticas direcionadas aos comportamentos podem ser melhor ajustadas ao risco individual que as crianças apresentam para o desenvolvimento de cárie dentária.

A partir da análise da literatura foi constatado que os resultados relativamente aos fatores de risco da doença são muito díspares, sobretudo, relacionados com os hábitos alimentares e de higiene oral, até porque a maior parte da evidência disponível é proveniente de estudos transversais que permitem estimar associações, mas não estabelecer relações causais entre os potenciais fatores de risco e a cárie dentária.

Com base nesta proposição e numa perspetiva persecutória para à aquisição de um conhecimento sustentado e credível sobre a causalidade dos fatores modificáveis de cárie dentária, nas crianças, foi elaborado um estudo longitudinal numa amostra de crianças entre os 4 e os 7 anos de idade.

1.2 Estudo longitudinal de cárie dentária em crianças dos 4 aos 7 anos de idade

De uma forma geral, a experiência de cárie dentária ($c_{3-6pod}/C_{3-6}POD > 0$) na amostra deste estudo aos 7 anos de idade (54,2% IC 95%: 50,1-58,2) foi relativamente inferior à verificada no III Estudo Nacional da Prevalência das Doenças Orais para a região Norte de Portugal, mas muito semelhante à proporção de crianças verificada para a média nacional registada no mesmo estudo, entre 2012 e 2014. No entanto, deve ser evidenciado que a experiência de cárie observada apenas para a dentição permanente foi

substancialmente superior nesta amostra comparativamente com a média para a região norte e para a média no país ⁽¹⁷⁷⁾.

Num estudo realizado na Alemanha, em 2016, sobre cárie dentária em crianças entre os 6 e os 7 anos de idade, é reportado que 49,7% das crianças estavam isentas de cárie incluindo as lesões incipientes ⁽¹⁶⁹⁾. Também, dados atuais do NHANES para o período entre 2015 e 2016, reportaram que para as crianças americanas com idade entre os 6 e os 11 anos de idade a prevalência de cárie dentária (tratada e não tratada) foi de 50,5% ⁽¹⁶⁶⁾.

A prevalência da cárie dentária em Portugal, de forma análoga ao verificado noutros países, efetivamente demonstrou uma tendência decrescente nos últimos anos (2000, 2006 e 2013), no entanto, a taxa de redução da doença tem sido substancialmente lenta nos anos mais recentes. Esta tendência decrescente da doença aparenta, todavia, estar a uma distância longínqua do que era o objetivo da OMS para as crianças de 6 anos de idade para o ano de 2020.

A análise efetuada neste estudo considerando a gravidade da doença, ou seja, apresentar 1 dente com uma nova lesão de cárie, ou obturação ou perdido por cárie, de forma independente, de apresentar mais de 2 dentes com novas lesões de cárie, obturações ou perdidos por cárie permitiu a identificação de fatores de risco para o desenvolvimento mais grave da doença nas crianças da amostra. Assim sendo, foi verificado que entre os 4 e os 7 anos de idade os padrões alimentares: “Alimentos densamente energéticos” e “*Snacking*”, assim como, o hábito de ingerir alimentos ou bebidas antes de ir para a cama, após escovar os dentes foram identificados como importantes fatores de risco para o G-DCD aos 7 anos de idade.

Esta abordagem, relativamente aos hábitos alimentares, é uma metodologia pouco aplicada na literatura. A transformação e validação da informação recolhida através dos QFA em padrões alimentares é uma tarefa exigente. Geralmente, quando se pretende avaliar os fatores de risco de natureza alimentar nos estudos de cárie dentária é considerada a ingestão separada de bebidas e alimentos cariogénicos. No entanto, na realidade a criança não ingere apenas alimentos com açúcares isoladamente e, por esse motivo, a análise realizada através dos padrões alimentares representa uma avaliação mais ajustada ao que, na verdade, é o consumo alimentar dos indivíduos.

Todas as variáveis analisadas neste estudo foram recolhidas através da aplicação de questionários concebidos de forma mista, ou seja, existiram questões que foram originalmente formuladas pela equipa de investigadores da Geração XXI, mas também foram aplicadas escalas já existentes, quando assim foi relevante. As escalas utilizadas foram previamente validadas ou então foram, entretanto, alvo de validação por parte da equipa de investigadores deste Projeto.

Sob o ponto de vista metodológico, neste estudo, apesar de ter sido utilizado os critérios do ICDAS II que permitiram a obtenção de registos de cárie dentária válidos e reprodutíveis considera-se uma desvantagem não ter sido realizada uma análise que permitisse a distinção entre lesões de cárie cavitadas e não cavitadas. Presentemente, é enfatizada a importância do diagnóstico de cárie ser realizado numa fase inicial da doença, apresentado inúmeras vantagens entre as quais, permitir uma intervenção precoce que intercepe o desenvolvimento das lesões e, desta forma, não exista uma evolução das lesões iniciais para lesões cavitadas. Todavia, salienta-se que a inclusão das lesões de cárie não cavitadas apresenta uma pertinência mais demarcada nas populações com baixa prevalência e progressão lenta da doença. As populações com estas características são as que beneficiam mais da aplicação de medidas preventivas evitando, posteriormente, a necessidade de tratamentos mais invasivos ⁽³⁹⁴⁾.

Outro ponto de reflexão neste estudo relaciona-se com o facto de não ter sido realizada uma análise da experiência prévia de cárie dentária (aos 4 anos) como fator de risco para o desenvolvimento da doença na dentição permanente (aos 7 anos). Esta análise teria sido útil uma vez que permitiria compreender a trajetória da doença nas crianças e, nesse contexto, possivelmente hierarquizar o risco para a doença, identificando de forma antecipatória, as crianças com maior probabilidade de a desenvolver, as quais poderiam ser integradas num esquema de cuidados preventivos mais exigente.

Outra consideração a ser relevada relaciona-se com a taxa de participação nas avaliações de medicina dentária aos 7 anos de idade. Tal como previamente mencionado apesar das avaliações da coorte terem iniciado em 2012, as avaliações dentárias apenas decorreram entre julho de 2013 e janeiro de 2014, situação que se traduziu numa amostra dimensionalmente inferior à amostra aos 4 anos de idade.

Neste estudo foi verificado que os comportamentos adquiridos na infância permanecem na idade escolar, paralelamente à associação indubitável entre os fatores socioeconómicos das famílias e a cárie dentária nas crianças, este aspeto reforça a necessidade de intervenções em idades precoces, sobretudo dirigidas aos responsáveis das crianças. Neste contexto, releva-se a importância da literacia em saúde, na medida em que para as crianças os pais são os modelos de conduta e, desse forma, devem estar adequadamente informados sobre os comportamentos de risco a evitar e as medidas preventivas a adotar, de forma direta ou indireta, para a proteção da saúde oral dos seus filhos ⁽¹⁴⁶⁾.

Mediante a observação dos resultados deste estudo foram equacionados novos desafios relacionados à fase dita “precoce” para a prevenção da cárie dentária nas crianças. Nas últimas décadas têm sido várias as recomendações para uma atuação preventiva sobre os fatores comportamentais nas idades mais jovens das crianças e, mesmo assim, a prevalência da cárie nestes indivíduos permanece com valores preocupantes. Com o propósito de atuar preventivamente numa fase ainda mais antecipatória, foi levantada a questão da intervenção no período da odontogénese, nomeadamente, de como a resistência da estrutura dentária poderia ou não ser favorecida. Nesse contexto, surgiu o interesse pelo estudo da vitamina D, neste patamar de intervenção, tendo em consideração a sua influência numa grande variedade de indicadores de saúde.

1.3 Vitamina D e as estruturas da cavidade oral

O enquadramento teórico realizado no capítulo II, secção II resulta da necessidade de uma compreensão mais profusa e exata sobre a vitamina D, nomeadamente, os processos inerentes à sua absorção, metabolismo e armazenamento, os seus mecanismos de ação, os métodos utilizados para a sua medição, os seus valores referência, as recomendações atuais desta vitamina pelas entidades de referência, entre outros aspetos considerados relevantes.

Não obstante, este capítulo foi de uma importância assaz para compreender se existiria plausibilidade biológica na relação entre os mecanismos de ação da vitamina D e as células dentárias. Constatada a evidência dos possíveis mecanismos subjacentes a esta associação, procurou-se perceber através da literatura qual o estado atual da investigação relativamente a esta temática. Estabeleceram-se critérios fidedignos para essa pesquisa,

tais como, a medição objetiva dos níveis de vitamina D nas crianças através de métodos laboratoriais e a avaliação dentária realizada, exclusivamente, por profissionais de saúde, no entanto, foi verificado que até à data, nenhuma revisão sistemática havia sido publicada nesse âmbito.

Detetada esta lacuna, avançou-se para a realização de uma revisão sistemática da literatura, apresentada no capítulo IV, que assente numa metodologia rígida pretendia evidenciar se os níveis de vitamina D estavam associados com a prevalência de cárie na população pediátrica.

1.4 Cárie dentária e vitamina D – Revisão sistemática

A realização deste estudo contribuiu de forma decisiva para a compreensão do estado da arte relativo a esta temática. Esta revisão permitiu sobretudo, que fossem relevadas as dificuldades encontradas na comparação dos estudos analisados.

A principal limitação deste estudo relacionou-se com a heterogeneidade observada nas avaliações e registos, tanto da exposição como do *outcome*. Estas dissonâncias de carácter metodológico, entre os estudos, impossibilitaram a realização de uma meta-análise.

Não obstante às limitações, foi possível a observação de uma associação entre os níveis insuficientes de vitamina D e a maior prevalência/experiência de cárie dentária, sendo verificado que os níveis inferiores a 75 nmol/L parecem mais correlacionados ao *outcome* avaliado. Todavia, emerge de imediato uma das dificuldades quando se pretende o estudo dos níveis de 25(OH) D: a dualidade de valores de referência para a definição de insuficiência de vitamina D.

Outra observação que irrompe desta revisão relaciona-se com a fase da dentição em que a associação entre os níveis de 25(OH) D e a cárie dentária foram estudados. Uma ínfima parte dos estudos são realizados na fase mista da dentição, período para o qual o estudo desta associação desponta maior interesse pelo período temporal desigual que os dentes decíduos e permanentes permanecem na cavidade oral.

Em suma, esta revisão sistemática permitiu a identificação dos principais problemas relacionados com a avaliação desta associação, representando este levantamento prévio

das dificuldades, uma oportunidade para a realização de um estudo que permitisse abordar as lacunas detetadas e transpor algumas das limitações elencadas. Com esse propósito foi realizado o estudo apresentado no capítulo V.

1.5 Cárie dentária e vitamina D – Estudo transversal

O desenho inicial proposto para estudar a influência dos níveis de 25(OH) D na cárie dentária nas crianças da amostra foi um estudo de coorte prospetivo. Pretendia-se analisar os níveis de vitamina D nas amostras de sangue recolhidas na gestante no segundo e terceiro trimestres de gravidez e verificar o seu efeito como potencial determinante de cárie dentária aos 4 anos de idade. No entanto, por motivos alheios, a consecução dessa investigação através de um desenho longitudinal não foi possível.

Perante esta adversidade e com base nos conhecimentos teóricos adquiridos ao longo da elaboração deste trabalho ⁽¹³⁰⁾ tornou-se plausível a realização de um estudo transversal que pudesse através de uma metodologia estruturada conceder evidência adicional, credível e consistente nesta área do conhecimento.

No entanto, não foi descurado o facto de que através de um desenho transversal não seria possível retirar ilações no que diz respeito à relação de causalidade entre os níveis de 25(OH) D e a prevalência da cárie dentária na amostra. Esta limitação foi identificada.

Assim como, tanto neste estudo como no estudo longitudinal apresentado no capítulo III, pelos critérios de inclusão e de exclusão estabelecidos em ambos, não foi possível o cálculo do tamanho da amostra. Nesse sentido, todos os participantes que cumpriam os critérios de elegibilidade foram incluídos.

Todavia, a realização deste estudo representou um contributo importante para esta área da investigação uma vez que contemplou vários aspetos metodológicos que permitiram a aquisição de resultados mais exatos, nomeadamente, através da inclusão de determinadas variáveis que poderiam influir diretamente nos níveis de vitamina D e, desse modo, enviesar os resultados obtidos para a associação com a cárie dentária.

No que concerne às dissonâncias relativas aos valores de referência de vitamina D para as crianças, este estudo demonstrou que quando o *outcome* avaliado é a cárie dentária, os

valores de *cut-off* da *Endocrine Society* emergem como mais ajustados para a avaliação desta doença do que os valores do IOM, com os quais nenhuma associação foi observada. Estes resultados corroboram alguns estudos já previamente publicados ^(12,346,416), apontando para que apenas níveis ótimos de vitamina D poderão estar associados a um efeito preventivo na cárie dentária.

Apesar deste estudo suplantarem algumas das lacunas de estudos publicados previamente, são igualmente observadas limitações nesta investigação que devem ser alvo de identificação e de indagação.

A despeito do objetivo deste estudo residir na avaliação da associação entre os níveis de vitamina D e a cárie dentária, a ausência de diagnóstico e registo dos DDE é, de forma indubitável, a principal limitação desta investigação. Por todo o conhecimento teórico adquirido e explanado nesta dissertação no capítulo do enquadramento teórico secção II sobre esta temática, seria de grande relevância perceber a relação entre os níveis de vitamina e este *outcome* dentário tendo em consideração os potenciais mecanismos que estão subjacentes à influência da vitamina D na estrutura dentária.

No sentido de relevar a importância desta associação salienta-se os resultados do ensaio clínico controlado randomizado realizado recentemente por Nørrisgaard e os seus colaboradores já previamente mencionado no capítulo IV. Os autores verificaram que a suplementação durante a gravidez com doses elevadas de vitamina D₃, embora não tivesse demonstrado estar associada a uma menor prevalência de cárie dentária aos 6 anos de idade, foi associada a uma diminuição da probabilidade do desenvolvimento de DDE na mesma idade ⁽³⁵⁶⁾.

Apesar de no questionário da avaliação dentária aplicado aos 7 anos de idade constar a indicação para o registo desta condição, o mesmo por razões alheias não foi devidamente preenchido e por isso os dados, lamentavelmente, não puderam ser utilizados. A importância desta informação assenta no conhecimento de que os DDE representam um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de cárie dentária tanto na dentição decídua ^(114,357,401–404) como na dentição permanente ^(120,405).

No âmbito desta investigação é sugerido que os níveis de vitamina considerados suficientes pela *Endocrine Society* podem apresentar um efeito preventivo na cárie dentária nas crianças. Todavia, se a suplementação de vitamina D fornece benefícios em termos de mediação do risco de cárie dentária, esta é uma premissa que, embora de enorme relevância pública, ainda não se encontra totalmente esclarecida. Uma outra questão chave relativamente à suplementação relaciona-se com a dose de vitamina D que seria necessária para a prevenção da cárie dentária, uma vez que alguns autores defendem que essa dose teria de ser superior à dose preconizada e utilizada para a prevenção de doenças esqueléticas.

Face à informação científica atualmente disponível, a recomendação de suplementação de vitamina D com o objetivo de prevenir as doenças orais, especificamente a cárie dentária, não está recomendada. A base para esta decisão assenta na escassez de estudos que aportam evidências robustas para esta indicação.

Contudo, é imperativo salientar que a vitamina D é dotada de uma extraordinária margem de segurança, sendo necessárias doses massivamente acima do recomendado para induzir um risco de intoxicação. Além disso, a carência de vitamina D na população pediátrica é altamente prevalente na Europa ⁽²³⁰⁾.

Também em Portugal os níveis de vitamina D na população são preocupantes, contudo, alguma discussão tem emergido sobre a verdadeira prevalência dos níveis insuficientes de vitamina D, incluindo sugestões subreptícias de que os resultados mais alarmantes estarão enviesados por interesses comerciais. Relativamente a esta questão vários estudos realizados por grupos independentes e em áreas geográficas distintas têm evidenciado resultados manifestamente consistentes.

Na nossa amostra considerando o valor de *cut-off* do IOM 12,2% das crianças apresentavam níveis inferiores a 50 nmol/L, porém, considerando o valor de referência da *Endocrine Society*, 65,1% das crianças apresentavam níveis insuficientes de vitamina D. Perante estes resultados e de outros estudos realizados em Portugal fica demonstrado que a carência de vitamina D é prevalente na população pediátrica e, por isso, impõe uma discussão consciente e séria sobre as suas implicações.

Pelos potenciais benefícios que os níveis suficientes de vitamina D podem representar para a saúde geral das crianças e, em específico, para a sua saúde oral, estudos sob o formato de ensaios clínicos controlados randomizados devem ser elaborados de modo a que exista uma evidência sustentada sobre esta relação que permita, eventualmente, que as medidas e recomendações recentes relativas à suplementação possam ser repensadas.

Presentemente, a suplementação diária durante o primeiro ano de vida da criança consiste numa recomendação universal estando preconizada a ingestão de doses diárias que permitam ao bebé obter níveis de 25(OH) D para a prevenção das principais doenças associadas à deficiência de vitamina D, independentemente do seu modo de alimentação ⁽²⁷¹⁾. Contudo, existe evidência de que em Portugal, de acordo com os resultados do Estudo do Padrão Alimentar e de Crescimento ⁽⁴³³⁾, cerca de 31% dos lactentes portugueses não efetuam suplementação regular com esta vitamina. A necessidade de haver uma rotina de administração diária nesta fase da vida do bebé e a falta de informação relativa à sua importância poderão estar na origem desta elevada percentagem de incumprimento.

A conceção da cárie dentária como uma doença multifatorial permite que abordagens preventivas para além das ditas clássicas (maioritariamente direcionadas para os fatores comportamentais) possam ser consideradas e validadas como medidas de implementação precoce, mas de carácter suplementar para a prevenção da cárie dentária na população pediátrica. Nesta perspetiva, sobretudo durante a odontogénese a vitamina D pode apresentar um efeito preventivo adicional, favorecendo um desenvolvimento dentário adequado, reduzindo a suscetibilidade do hospedeiro (dente) para o desenvolvimento da cárie dentária.

Numa retrospectiva ecuménica sobre o explanado nesta dissertação considera-se pertinente realizar um conspecto relativo ao período temporal em que as avaliações aos 4 e aos 7 anos de idade foram realizadas. Admite-se que desde esse período (2009-2011 e 2012-2014) até ao presente, o panorama da saúde oral preventiva em Portugal tenha granjeado alguns avanços significativos no domínio da prevenção da cárie dentária, principalmente, na população pediátrica. Por outro lado, face às circunstâncias atuais, numa análise comparativa entre estes períodos, torna-se indispensável um olhar atento e crítico sobre o maior confinamento em que as crianças atualmente vivem, geralmente

circunscritos a locais fechados, sem a possibilidade de exposição solar. Acredita-se, portanto, que face à situação pandémica atualmente vivenciada os níveis de vitamina D observados neste estudo sejam potencialmente mais elevados do que os valores presentemente registados nas crianças da mesma idade. Importa por isso, que a interpretação destes resultados não esteja dissociada desta realidade.

CAPÍTULO VII

– Conclusões e perspectivas futuras

VII – Conclusões e perspectivas futuras

As conclusões foram estruturadas mediante os objetivos gerais e específicos estipulados para cada estudo.

No estudo longitudinal de cárie dentária, apresentado no capítulo III foi possível obter um conhecimento consistente relativo ao estado de cárie dentária em crianças entre os 4 e os 7 anos de idade e aos seus principais fatores de risco de índole comportamental neste período de três anos. Especificamente:

- A prevalência e a gravidade da cárie dentária aos 4 e aos 7 anos de idade podem ser consideradas preocupantes. Existe uma trajetória crescente e cumulativa da doença nas crianças ao longo dos anos, caracterizada maioritariamente pela presença de lesões de cárie não tratadas;
- Na caracterização multiparamétrica da amostra de acordo com a prevalência de cárie aos 4 e aos 7 anos de idade foi demonstrado que os fatores socioeconómicos, alguns comportamentos em saúde oral, a ingestão de bebidas cariogénicas e o padrão alimentar das crianças são fatores relevantes para a prevalência da doença nestas idades;
- A incidência de cárie dentária foi avaliada mediante dois pontos de corte: pelo menos 1 dente com uma nova lesão de cárie, ou 1 dente perdido ou obturado por cárie (ICDAS II 3-6) ou mais de 2 dentes com novas lesões de cárie, ou mais de 2 dentes perdidos ou obturados por cárie (ICDAS II 3-6). A incidência de cárie entre os 4 e os 7 anos de idade, mediante os *cut-off* estabelecidos foi de 51,2% e 27,4%, respetivamente.
- Neste período de três anos o incremento de cárie dentária na dentição decídua foi de 1,39 e na fase mista da dentição foi de 1,71.
- Aos 4 anos de idade, um padrão alimentar de consumo de “Alimentos densamente energéticos” e “*Snacking*”, assim como, a ingestão de alimentos antes de deitar, após escovar os dentes são fatores de risco significativo para o G-DCD aos 7 anos;

- Os comportamentos das crianças relacionados com os hábitos alimentares e de higiene oral adotados aos 4 anos permanecem aos 7 anos de idade. Não se verificou uma alteração do padrão comportamental pré-estabelecido em idades mais jovens.

No capítulo IV e V foi possível explorar o potencial efeito da vitamina D na prevalência da cárie dentária em idade pediátrica através de duas linhas de estudo, a primeira com a realização de uma revisão sistemática sobre o tema e a segunda com a consecução de um estudo observacional transversal com uma amostra de crianças portuguesas.

A partir da revisão sistemática e respondendo, concretamente, à questão inicialmente formulada verificou-se que:

- Existe evidência, embora pouco robusta, de uma associação entre os níveis insuficientes de vitamina D e uma maior prevalência/experiência de cárie dentária, salientando-se que os níveis de 25(OH) D inferiores a 75 nmol/L parecem assumir uma maior relevância para o desenvolvimento de cárie dentária do que os valores de referência do IOM;
- Existem várias limitações metodológicas nos estudos que impossibilitaram a obtenção de resultados mais exatos, nomeadamente, aspetos relacionados com a heterogeneidade na definição e mensuração da cárie dentária, assim como, na medição dos níveis de vitamina D.

A realização, neste contexto, deste estudo transversal representou um contributo importante para esta área do conhecimento uma vez que incluiu vários aspetos metodológicos, previamente não considerados noutros estudos, permitindo a aquisição de resultados credíveis.

- Na caracterização multiparamétrica da amostra de acordo com a prevalência de cárie dentária (incluindo ou não lesões não cavitadas), foi demonstrado que fatores socioeconómicos, fatores maternos (idade e IMC), assim como, o maior consumo de bebidas e alimentos cariogénicos pelas crianças e os seus níveis de vitamina D <75 nmol/L são fatores associados com a prevalência de cárie dentária aos 7 anos de idade;

- Não foi verificada nenhuma associação entre as atividades de “tempos-livres” e os níveis de vitamin D das crianças. Apenas para as atividades ao ar livre foi verificada uma correlação positiva significativa com os níveis de 25(OH) D, porém, o coeficiente de correlação indicou que a associação foi negligenciável e, por isso, sem relevância clínica;
- A prevalência e a gravidade da cárie dentária nas crianças desta amostra, apresentaram valores muito inquietantes que vêm reforçar a necessidade urgente de medidas preventivas antecipatórias e ajustadas ao nível de risco dos indivíduos;
- A prevalência de cárie dentária e de cárie dentária cavitada foram mais elevadas, tanto na dentição permanente como na fase mista da dentição, nas crianças com níveis insuficientes de vitamina D, considerando quer os valores da *Endocrine Society* como os do IOM;
- Para a mostra deste estudo a estação do ano em que foram recolhidas as amostras sanguíneas das crianças não afetou a associação entre os *outcomes* dentários avaliados e os níveis de 25(OH) D;
- Aos 7 anos de idade, para a fase mista da dentição foi verificado que a ingestão de mais do que 1 alimento cariogénico por dia e a criança já ter realizado consulta de medicina dentária prévia foram comportamentos associados com ambos os *outcomes* dentários avaliados. Nenhuma associação estatisticamente significativa foi observada entre os níveis de 25(OH) D e a cárie dentária na fase mista da dentição, independentemente dos valores de referência considerados;
- Nesta idade, a ingestão de mais do que 1 alimento cariogénico por dia, já ter realizado consulta de medicina dentária prévia, as crianças apresentarem doenças do foro gastrointestinal e terem níveis de 25(OH) D inferiores a 75 nmol/L foram associados à presença de cárie dentária cavitada nos dentes permanentes;
- A vitamina D, especificamente, os níveis suficientes de 25(OH) D preconizados pela *Endocrine Society* podem influir na prevalência da cárie dentária nas crianças;
- Estes resultados reforçam a necessidade de estudos longitudinais com metodologias rígidas que permitam, de forma clara, identificar a posição da vitamina D como potencial determinante de cárie dentária.

Em suma, este estudo permitiu, através da análise dos resultados obtidos, identificar uma série de comportamentos com implicações diretas na cárie dentária em crianças, alguns dos quais já descritos e outros ainda pouco abordados na literatura como, por exemplo, os padrões alimentares.

Com a prossecução de várias linhas de investigação ao longo dos anos tornou-se evidente que o início e a progressão da cárie dentária envolvem a interação de uma multiplicidade de fatores de natureza muito variável que aliados à natureza dinâmica desta doença impõe, nos tempos vindouros, que outras investigações prospetivas sejam elaboradas. A investigação longitudinal contínua nesta área dos comportamentos é fulcral para o acompanhamento e monitorização dos fatores de risco modificáveis que estão na base etiológica da cárie dentária, doença que continua, presentemente, a permanecer como ubíqua.

A par dos avanços tecnológicos, as análises do microbioma e de biomoléculas salivares podem, num futuro próximo, ser combinadas com a avaliações do risco comportamental, de modo a otimizar a precisão dos métodos de triagem do risco de cárie, aumentando a previsibilidade sobre o desenvolvimento da doença. Esta abordagem personalizada, uma vez validada, pode permitir a implementação de intervenções precoces com medidas preventivas individualizadas, dirigidas para as crianças mais suscetíveis para o desenvolvimento desta doença.

No domínio da medicina dentária preventiva e da saúde pública, as potencialidades da prevenção da cárie dentária iniciar-se no período da odontogénese é uma área ainda pouco abordada. Assente num empenho persecutório pela exploração desta temática foi realizado este estudo com o objetivo de avaliar a relação entre os níveis de vitamina D e a cárie dentária em crianças. No que foi possível apurar, este trabalho representa a primeira investigação realizada em Portugal com este propósito.

Todavia, esta área de investigação representa uma área fértil para futuras pesquisas. São necessários ensaios clínicos controlados randomizados que permitam avaliar com maior exatidão e robustez a influência da vitamina D na cárie dentária. Os avanços tecnológicos, também na área da genética podem, num futuro próximo, ser cruciais para a identificação

e confirmação das potencialidades da vitamina D, como uma hormona promissora no espectro preventivo da cárie dentária.

Desta forma, na prestação de cuidados de saúde, é perentória a premência da abordagem da criança na multiplicidade dos seus fatores biológicos, genéticos, comportamentais e sociodemográficos. A saúde oral pelas relações de reciprocidade e interdependência com a saúde geral e a qualidade de vida das crianças impõe a implementação holística de medidas que visem a promoção da saúde e a prevenção das doenças, em idades cada vez mais jovens.

CAPÍTULO VIII

– Bibliografía

VIII – Bibliografia

1. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJL, Marcenes W. Global burden of untreated caries: a systematic review and metaregression. *J Dent Res*. 2015;94(5):650–658.
2. Kazeminia M, Abdi A, Shohaimi S, Jalali R, Vaisi-Raygani A, Salari N, et al. Dental caries in primary and permanent teeth in children's worldwide, 1995 to 2019: a systematic review and meta-analysis. *Head Face Med*. 2020;16(1):22.
3. Dickson-Swift V, Kenny A, Gussy M, McCarthy C, Bracksley-O'Grady S. The knowledge and practice of pediatricians in children's oral health: a scoping review. *BMC Oral Health*. 2020;20(1):211.
4. Chandregowda KY, Kumar VD, Shankarappa KB, Anandkumar AH, Ramegowda ABS, Honnegowda DK. Assessment of Dental Caries Status and Oral Hygiene Practices among 6-10-year-old Rural and Urban Schoolchildren in South Bengaluru, Karnataka, India. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2020;13(4):348–354.
5. Shivakumar S, Srivastava A, C Shivakumar G. Body Mass Index and Dental Caries: A Systematic Review. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2018;11(3):228–232.
6. Almoudi MM, Hussein AS, Abu Hassan MI, Schroth RJ. Dental caries and vitamin D status in children in Asia. *Pediatr Int*. 2019;61(4):327–338.
7. Dudding T, Thomas SJ, Duncan K, Lawlor DA, Timpson NJ. Re-Examining the Association between Vitamin D and Childhood Caries. *PLoS One*. 2015;10(12):e0143769.
8. Hujoel PP. Vitamin D and dental caries in controlled clinical trials: systematic review and meta-analysis. *Nutr Rev*. 2013;71(2):88–97.
9. Wójcik D, Krzewska A, Szalewski L, Pietryka-Michałowska E, Szalewska M, Krzewski S, et al. Dental caries and vitamin D3 in children with growth hormone deficiency: A STROBE compliant study. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(8):e9811.
10. Seminario AL, Velan E. Vitamin D and Dental Caries in Primary Dentition. *J Dent Child (Chic)*. 2016;83(3):114–119.
11. Chhonkar A, Gupta A, Arya V. Comparison of Vitamin D Level of Children with Severe Early Childhood Caries and Children with No Caries. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2018;11(3):199–204.
12. Schroth RJ, Rabbani R, Loewen G, Moffatt ME. Vitamin D and Dental Caries in Children. *J Dent Res*. 2016;95(2):173–179.
13. Herzog K, Scott JM, Hujoel P, Seminario AL. Association of vitamin D and dental caries in children: Findings from the National Health and Nutrition Examination Survey, 2005-2006. *J Am Dent Assoc*. 2016;147(6):413–420.
14. Silva MJ, Kilpatrick NM, Craig JM, Manton DJ, Leong P, Burgner DP, et al. Genetic and Early-Life Environmental Influences on Dental Caries Risk: A Twin Study. *Pediatrics*.

- 2019;143(5):e20183499.
15. Fejerskov O. Concepts of dental caries and their consequences for understanding the disease. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1997;25(1):5–12.
 16. Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F, et al. Dental caries. *Nat Rev Dis Prim.* 2017;3:17030.
 17. Machiulskiene V, Campus G, Carvalho JC, Dige I, Ekstrand KR, Jablonski-Momeni A, et al. Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. *Caries Res.* 2020;54(1):7–14.
 18. Fejerskov O, Kidd EAM, Nyvad B B. Defining the disease: an introduction. In: Fejerskov O KE. *Dental Caries, the Disease and its Clinical Management.* 2nd ed. Oxford: Blackwell Munksgaard; 2008: 4–7.
 19. AAPD. Policy on Early Childhood Caries (ECC): Classifications, Consequences, and Preventive Strategies. In: American Academy of Pediatric Dentistry. *The reference manual of Pediatric Dentistry.* Chicago; 2020: 79–81.
 20. Pitts NB, Baez RJ, Diaz-Guillory C, Donly KJ, Alberto Feldens C, McGrath C, et al. Early Childhood Caries: IAPD Bangkok Declaration. *J Dent Child (Chic).* 2019;86(2):72.
 21. Vadiakas G. Case definition, aetiology and risk assessment of early childhood caries (ECC): a revisited review. *Eur Arch Paediatr Dent Off J Eur Acad Paediatr Dent.* 2008;9(3):114–125.
 22. Caufield PW, Li Y, Bromage TG. Hypoplasia-associated severe early childhood caries--a proposed definition. *J Dent Res.* 2012;91(6):544–550.
 23. Parisotto TM, Steiner-Oliveira C, Silva CM, Rodrigues LK, Nobre-dos-Santos M. Early childhood caries and mutans streptococci: a systematic review. *Oral Health Prev Dent.* 2010;8(1):59–70.
 24. Valaitis R, Hesch R, Passarelli C, Sheehan D, Sinton J. A systematic review of the relationship between breastfeeding and early childhood caries. *Can J Public Health.* 2000;91(6):411–417.
 25. Palmer CA, Kent RJ, Loo CY, Hughes C V, Stutius E, Pradhan N, et al. Diet and caries-associated bacteria in severe early childhood caries. *J Dent Res.* 2010;89(11):1224–1229.
 26. Wyne AH. Early childhood caries: nomenclature and case definition. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1999;27(5):313–315.
 27. Takahashi N, Nyvad B. Caries ecology revisited: microbial dynamics and the caries process. *Caries Res.* 2008;42(6):409–418.
 28. Scheie AA, Petersen FC. The biofilm concept: Consequences for future prophylaxis of oral diseases? *Crit Rev oral Biol Med an Off Publ Am Assoc Oral Biol.* 2004;15(1):4–12.
 29. Takahashi N, Nyvad B. The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. *J Dent Res.* 2011;90(3):294–303.
 30. Marsh PD. Microbiology of dental plaque biofilms and their role in oral health and caries. *Dent Clin North Am.* 2010;54(3):441–454.

31. Takahashi N. Microbial ecosystem in the oral cavity: metabolic diversity in an ecological niche and its relationship with oral diseases. *Internatinal Congres Series* 1284. 2005;103-112.
32. ten Cate JM, Featherstone JD. Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. *Crit Rev oral Biol Med an Off Publ Am Assoc Oral Biol.* 1991;2(3):283–296.
33. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet (London, England).* 2007;369(9555):51–59.
34. Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res.* 2004;38(3):182–191.
35. García-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;139 Suppl:25S-34S.
36. ten Cate, J M Larsen, M J, Pearce E I F FO. Chemical interactions between the tooth and oral fluids. In: Ole Fejerskov EAMK. *Dental Caries The Disease and its Clinical.* 2nd ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2008: 209–31.
37. Featherstone JDB. The continuum of dental caries--evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res.* 2004;83 Spec No:C39-42.
38. Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries: role of saliva and dental plaque in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 1). *J Clin Pediatr Dent.* 2003;28(1):47–52.
39. Kidd EAM, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res.* 2004;83 Spec No:C35-8.
40. Fontana M, Young DA, Wolff MS. Evidence-based caries, risk assessment, and treatment. *Dent Clin North Am.* 2009;53(1):149–161.
41. Islam B, Khan SN, Khan AU. Dental caries: from infection to prevention. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res.* 2007;13(11):196-203.
42. Devine DA, Marsh PD, Meade J. Modulation of host responses by oral commensal bacteria. *J Oral Microbiol.* 2015;7:26941.
43. Nobbs AH, Jenkinson HF, Jakubovics NS. Stick to your gums: mechanisms of oral microbial adherence. *J Dent Res.* 2011;90(11):1271–1278.
44. Zijnge V, van Leeuwen MBM, Degener JE, Abbas F, Thurnheer T, Gmür R, et al. Oral biofilm architecture on natural teeth. *PLoS One.* 2010;5(2):e9321.
45. Zarco MF, Vess TJ, Ginsburg GS. The oral microbiome in health and disease and the potential impact on personalized dental medicine. *Oral Dis.* 2012;18(2):109–20.
46. Hannig C, Hannig M, Attin T. Enzymes in the acquired enamel pellicle. *Eur J Oral Sci.* 2005;113(1):2–13.
47. Hara AT, Zero DT. The caries environment: saliva, pellicle, diet, and hard tissue ultrastructure. *Dent Clin North Am.* 2010;54(3):455–67.

-
48. Bardow, A; Lagerlöf, F; Nauntofte, B; Tenovou J. The role of saliva. In: Fejerskov O, Kidd E. *Dental Caries, the Disease and its Clinical Management*. 2nd ed. Oxford: Blackwell Munksgaard; 2008:189–207.
 49. Bowen WH, Schilling K, Giertsen E, Pearson S, Lee SF, Bleiweis A, et al. Role of a cell surface-associated protein in adherence and dental caries. *Infect Immun*. 1991;59(12):4606–4609.
 50. Kolenbrander PE, Palmer RJJ, Rickard AH, Jakubovics NS, Chalmers NI, Diaz PI. Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontol 2000*. 2006;42:47–79.
 51. Hajishengallis E, Parsaei Y, Klein MI, Koo H. Advances in the microbial etiology and pathogenesis of early childhood caries. *Mol Oral Microbiol*. 2017;32(1):24–34.
 52. Jakubovics NS, Yassin SA, Rickard AH. Community interactions of oral streptococci. *Adv Appl Microbiol*. 2014;87:43–110.
 53. van Houte J. Microbiological predictors of caries risk. *Adv Dent Res*. 1993;7(2):87–96.
 54. Tanzer JM, Livingston J, Thompson AM. The microbiology of primary dental caries in humans. *J Dent Educ*. 2001;65(10):1028–1037.
 55. Okada M, Soda Y, Hayashi F, Doi T, Suzuki J, Miura K, et al. Longitudinal study of dental caries incidence associated with *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in pre-school children. *J Med Microbiol*. 2005;54:661–665.
 56. Thenisch NL, Bachmann LM, Imfeld T, Leisebach Minder T, Steurer J. Are *mutans* streptococci detected in preschool children a reliable predictive factor for dental caries risk? A systematic review. *Caries Res*. 2006;40(5):366–374.
 57. Bowen WH, Koo H. Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. *Caries Res*. 2011;45(1):69–86.
 58. Merritt J, Qi F. The mutacins of *Streptococcus mutans*: regulation and ecology. *Mol Oral Microbiol*. 2012;27(2):57–69.
 59. Kreth J, Zhang Y, Herzberg MC. Streptococcal antagonism in oral biofilms: *Streptococcus sanguinis* and *Streptococcus gordonii* interference with *Streptococcus mutans*. *J Bacteriol*. 2008;190(13):4632–4640.
 60. Lemos JA, Burne RA. A model of efficiency: stress tolerance by *Streptococcus mutans*. *Microbiology*. 2008;154:3247–3255.
 61. Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, et al. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol*. 2002;40(3):1001–1009.
 62. Tanner ACR, Mathney JMJ, Kent RL, Chalmers NI, Hughes C V, Loo CY, et al. Cultivable anaerobic microbiota of severe early childhood caries. *J Clin Microbiol*. 2011;49(4):1464–1474.
 63. Gross EL, Beall CJ, Kutsch SR, Firestone ND, Leys EJ, Griffen AL. Beyond *Streptococcus mutans*: dental caries onset linked to multiple species by 16S rRNA community analysis. *PLoS One*. 2012;7(10):e47722.

-
64. Jiang EM, Lo ECM, Chu CH, Wong MCM. Prevention of early childhood caries (ECC) through parental toothbrushing training and fluoride varnish application: a 24-month randomized controlled trial. *J Dent*. 2014;42(12):1543–1550.
 65. Simón-Soro A, Mira A. Solving the etiology of dental caries. *Trends Microbiol*. 2015;23(2):76–82.
 66. Klein, M I; Falseta, M L, Xiao, J, Bowen, W H, Koo H. The role of extracellular polysaccharides matrix in virulent oral biofilms. In: Jakubovics, N S; Palmer, R J; Jr. *Oral Microbial Ecology: Current Research and New Perspectives*. Norfolk, UK: Caister Academic Press; 2013: 63–83.
 67. Flemming H-C, Wingender J. The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol*. 2010;8(9):623–633.
 68. Yang XQ, Zhang Q, Lu LY, Yang R, Liu Y, Zou J. Genotypic distribution of *Candida albicans* in dental biofilm of Chinese children associated with severe early childhood caries. *Arch Oral Biol*. 2012;57(8):1048–1053.
 69. Raja M, Hannan A, Ali K. Association of oral candidal carriage with dental caries in children. *Caries Res*. 2010;44(3):272–276.
 70. de Carvalho FG, Silva DS, Hebling J, Spolidorio LC, Spolidorio DMP. Presence of mutans streptococci and *Candida* spp. in dental plaque/dentine of carious teeth and early childhood caries. *Arch Oral Biol*. 2006;51(11):1024–1028.
 71. Pereira-Cenci T, Deng DM, Kraneveld EA, Manders EMM, Del Bel Cury AA, Ten Cate JM, et al. The effect of *Streptococcus mutans* and *Candida glabrata* on *Candida albicans* biofilms formed on different surfaces. *Arch Oral Biol*. 2008;53(8):755–764.
 72. Gregoire S, Xiao J, Silva BB, Gonzalez I, Agidi PS, Klein MI, et al. Role of glucosyltransferase B in interactions of *Candida albicans* with *Streptococcus mutans* and with an experimental pellicle on hydroxyapatite surfaces. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77(18):6357–6367.
 73. Metwalli KH, Khan SA, Krom BP, Jabra-Rizk MA. *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, and the human mouth: a sticky situation. *PLoS Pathog*. 2013;9(10):e1003616.
 74. Falsetta ML, Klein MI, Colonne PM, Scott-Anne K, Gregoire S, Pai C-H, et al. Symbiotic relationship between *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* synergizes virulence of plaque biofilms in vivo. *Infect Immun*. 2014;82(5):1968–1981.
 75. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev*. 1986;50(4):353–380.
 76. Rosier BT, De Jager M, Zaura E, Krom BP. Historical and contemporary hypotheses on the development of oral diseases: are we there yet? *Front Cell Infect Microbiol*. 2014;4:92.
 77. Burne RA, Zeng L, Ahn SJ, Palmer SR, Liu Y, Lefebure T, et al. Progress dissecting the oral microbiome in caries and health. *Adv Dent Res*. 2012;24(2):77–80.
 78. Marsh PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology (Reading)*. 2003;149:279–294.
 79. Paes Leme AF, Koo H, Bellato CM, Bedi G, Cury JA. The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation-new insight. *J Dent Res*. 2006;85(10):878–887.

-
80. Burt BA, Pai S. Sugar consumption and caries risk: a systematic review. *J Dent Educ.* 2001;65(10):1017–1023.
 81. WHO. World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2014. Geneva; 2014.
 82. Malik VS, Pan A, Willett WC, Hu FB. Sugar-sweetened beverages and weight gain in children and adults: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 2013;98(4):1084–1102.
 83. INE. Instituto Nacional de Estatística. Balança Alimentar Portuguesa (1990-2012). 2014.
 84. DGS. Direção-Geral da Saúde. Redução do consumo de açúcar em Portugal: Evidência que justifica ação. Programa Nacional para Promoção da Alimentação Saudável. 2016.
 85. Moynihan PJ, Kelly SAM. Effect on caries of restricting sugars intake: systematic review to inform WHO guidelines. *J Dent Res.* 2014;93(1):8–18.
 86. WHO. World Health Organization. Sugars intake for adults and children. Geneva; 2015.
 87. Marshall TA, Levy SM, Broffitt B, Warren JJ, Eichenberger-Gilmore JM, Burns TL, et al. Dental caries and beverage consumption in young children. *Pediatrics.* 2003;112:e184-191.
 88. van Loveren C. Sugar Restriction for Caries Prevention: Amount and Frequency. Which Is More Important? *Caries Res.* 2019;53(2):168–175.
 89. Moynihan P. Sugars and Dental Caries: Evidence for Setting a Recommended Threshold for Intake. *Adv Nutr.* 2016;7(1):149–156.
 90. Marcenes W, Kassebaum NJ, Bernabé E, Flaxman A, Naghavi M, Lopez A, et al. Global burden of oral conditions in 1990-2010: a systematic analysis. *J Dent Res.* 2013;92(7):592–597.
 91. Freeman R. Moderate evidence support a relationship between sugar intake and dental caries. *Evid Based Dent.* 2014;15(4):98–99.
 92. Feldens CA, Vítolo MR, Maciel RR, Baratto PS, Rodrigues PH, Kramer PF. Exploring the risk factors for early-life sugar consumption: A birth cohort study. *Int J Paediatr Dent.* 2021;31(2):223-230.
 93. Bernabé E, Ballantyne H, Longbottom C, Pitts NB. Early Introduction of Sugar-Sweetened Beverages and Caries Trajectories from Age 12 to 48 Months. *J Dent Res.* 2020;99(8):898–906.
 94. Goodwin M, Patel DK, Vyas A, Khan AJ, McGrady MG, Boothman N, et al. Sugar before bed: a simple dietary risk factor for caries experience. *Community Dent Health.* 2017;34(1):8–13.
 95. Baghlaf K, Muirhead V, Moynihan P, Weston-Price S, Pine C. Free Sugars Consumption around Bedtime and Dental Caries in Children: A Systematic Review. *JDR Clin Transl Res.* 2018;3(2):118–129.
 96. Wang Y, Guglielmo D, Welsh JA. Consumption of sugars, saturated fat, and sodium among US children from infancy through preschool age, NHANES 2009-2014. *Am J Clin Nutr.* 2018;108(4):868–877.

-
97. Laitala M-L, Vehkalahti MM, Virtanen JI. Frequent consumption of sugar-sweetened beverages and sweets starts at early age. *Acta Odontol Scand*. 2018;76(2):105–110.
 98. ISPUP, Instituto de Saúde Pública da Universidade do Porto. Consumo Alimentar e Nutricional de Crianças em Idade Pré-Escolar: resultados da coorte Geração 21. 2014.
 99. Vilela S, Oliveira A, Ramos E, Moreira P, Barros H, Lopes C. Association between energy-dense food consumption at 2 years of age and diet quality at 4 years of age. *Br J Nutr*. 2014;111(7):1275–1282.
 100. Diet, nutrition, and the prevention of chronic diseases. Report of a WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 1990;797:1–204.
 101. Levine RS, Nugent ZJ, Rudolf MCJ, Sahota P. Dietary patterns, toothbrushing habits and caries experience of schoolchildren in West Yorkshire, England. *Community Dent Health*. 2007;24(2):82–87.
 102. Armfield JM, Spencer AJ, Roberts-Thomson KF, Plastow K. Water fluoridation and the association of sugar-sweetened beverage consumption and dental caries in Australian children. *Am J Public Health*. 2013;103(3):494–500.
 103. Lynch RJM. The primary and mixed dentition, post-eruptive enamel maturation and dental caries: a review. *Int Dent J*. 2013;63 Suppl 2:3–13.
 104. Carlos JP, Gittelsohn AM. Longitudinal studies of the natural history of caries. I. eruption patterns of the permanent teeth. *J Dent Res*. 1965;44:509–516.
 105. Fejerskov O, Larsen MJ, Richards A, Baelum V. Dental tissue effects of fluoride. *Adv Dent Res*. 1994;8(1):15–31.
 106. Fejerskov O, Nyvad B KE. Pathology of dental caries. In: Fejerskov O KE. *Dental Caries, the Disease and its Clinical Management*. 2ª. Oxford: Blackwell Munksgaard; 2008: 20–48.
 107. Huang A, Nakagaki H, Tsuboi S, Ji H, Ohno N, Chen R, et al. Fluoride profiles of perikymata in enamel surfaces of human premolars. *Arch Oral Biol*. 1998;43(9):669–677.
 108. ten Bosch JJ, Fennis-le Y, Verdonschot EH. Time-dependent decrease and seasonal variation of the porosity of recently erupted sound dental enamel in vivo. *J Dent Res*. 2000;79(8):1556–1559.
 109. Noronha JC, Massara M de L, Souki BQ, Nogueira AP. First permanent molar: first indicator of dental caries activity in initial mixed dentition. *Braz Dent J*. 1999;10(2):99–104.
 110. Curnow MMT, Pine CM, Burnside G, Nicholson JA, Chesters RK, Huntington E. A randomised controlled trial of the efficacy of supervised toothbrushing in high-caries-risk children. *Caries Res*. 2002;36(4):294–300.
 111. Carvalho JC, Dige I, Machiulskiene V, Qvist V, Bakhshandeh A, Fatturi-Parolo C, et al. Occlusal Caries: Biological Approach for Its Diagnosis and Management. *Caries Res*. 2016;50(6):527–542.
 112. Seow WK. Developmental defects of enamel and dentine: challenges for basic science research and clinical management. *Aust Dent J*. 2014;59 Suppl 1:143–154.

-
113. Vargas-Ferreira F, Salas MMS, Nascimento GG, Tarquinio SBC, Faggion CMJ, Peres MA, et al. Association between developmental defects of enamel and dental caries: A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 2015;43(6):619–628.
 114. Costa FS, Silveira ER, Pinto GS, Nascimento GG, Thomson WM, Demarco FF. Developmental defects of enamel and dental caries in the primary dentition: A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 2017;60:1–7.
 115. Suckling GW. Developmental defects of enamel--historical and present-day perspectives of their pathogenesis. *Adv Dent Res.* 1989;3(2):87–94.
 116. Wagner Y, Heinrich-Weltzien R. Risk factors for dental problems: Recommendations for oral health in infancy. *Early Hum Dev.* 2017;114:16–21.
 117. Salanitri S, Seow WK. Developmental enamel defects in the primary dentition: aetiology and clinical management. *Aust Dent J.* 2013;58(2):133–40.
 118. Costa-Silva CM, Paula JS de, Ambrosano GMB, Mialhe FL. Influence of deciduous molar hypomineralization on the development of molar-incisor hypomineralization. *Brazilian J Oral Sci* 2013;12(4):335–338.
 119. Wagner Y. Developmental defects of enamel in primary teeth - findings of a regional German birth cohort study. *BMC Oral Health.* 2016;17(1):10.
 120. Daneshkazemi AR, Davari A. Assessment of DMFT and enamel hypoplasia among junior high school children in Iran. *J Contemp Dent Pract.* 2005;6(4):85–92.
 121. Milgrom P, Riedy CA, Weinstein P, Tanner AC, Manibusan L, Bruss J. Dental caries and its relationship to bacterial infection, hypoplasia, diet, and oral hygiene in 6- to 36-month-old children. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2000;28(4):295–306.
 122. Piekoszewska-Ziętek P, Turska-Szybka A, Olczak-Kowalczyk D. Salivary proteins and peptides in the aetiology of caries in children: Systematic literature review. *Oral Dis.* 2019;25(4):1048–1056.
 123. Stookey GK. The effect of saliva on dental caries. *J Am Dent Assoc.* 2008;139 Suppl:11S-17S.
 124. Vacca Smith AM, Scott-Anne KM, Whelehan MT, Berkowitz RJ, Feng C, Bowen WH. Salivary glucosyltransferase B as a possible marker for caries activity. *Caries Res.* 2007;41(6):445–450.
 125. Shifa S, Muthu MS, Amaral D, Rathna Prabhu V. Quantitative assessment of IgA levels in the unstimulated whole saliva of caries-free and caries-active children. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2008;26(4):158–161.
 126. Mattila ML, Rautava P, Sillanpää M, Paunio P. Caries in five-year-old children and associations with family-related factors. *J Dent Res.* 2000;79(3):875–881.
 127. Kirthiga M, Murugan M, Saikia A, Kirubakaran R. Risk Factors for Early Childhood Caries: A Systematic Review and Meta-Analysis of Case Control and Cohort Studies. *Pediatr Dent.* 2019;41(2):95–112.
 128. Drewnowski A, Specter SE. Poverty and obesity: the role of energy density and energy costs. *Am J Clin Nutr.* 2004;79(1):6–16.

-
129. Dye BA, Arevalo O, Vargas CM. Trends in paediatric dental caries by poverty status in the United States, 1988-1994 and 1999-2004. *Int J Paediatr Dent*. 2010;20(2):132–143.
 130. Schwendicke F, Dörfer CE, Schlattmann P, Foster Page L, Thomson WM, Paris S. Socioeconomic inequality and caries: a systematic review and meta-analysis. *J Dent Res*. 2015;94(1):10–18.
 131. Bernabé E, Delgado-Angulo EK, Murasko JE, Marcenes W. Family income and tooth decay in US children: does the association change with age? *Caries Res*. 2012;46(3):221–227.
 132. Russell SL, Ickovics JR, Yaffee RA. Parity & untreated dental caries in US women. *J Dent Res*. 2010;89(10):1091–1096.
 133. Sanders AE, Slade GD, Turrell G, John Spencer A, Marcenes W. The shape of the socioeconomic-oral health gradient: implications for theoretical explanations. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2006;34(4):310–319.
 134. Deery C. Caries detection and diagnosis, sealants and management of the possibly carious fissure. *Br Dent J*. 2013;214(11):551–557.
 135. Marinho VC, Higgins JP, Sheiham A, Logan S. Fluoride toothpastes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane database Syst Rev*. 2003;(1):CD002278.
 136. Walsh T, Worthington H V, Glenny A-M, Appelbe P, Marinho VC, Shi X. Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane database Syst Rev*. 2010;(1):CD007868.
 137. Kumar S, Tadakamadla J, Johnson NW. Effect of Toothbrushing Frequency on Incidence and Increment of Dental Caries: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Dent Res*. 2016;95(11):1230–1236.
 138. Choo A, Delac DM, Messer LB. Oral hygiene measures and promotion: review and considerations. *Aust Dent J*. 2001;46(3):166–173.
 139. Dos Santos APP, de Oliveira BH, Nadanovsky P. A systematic review of the effects of supervised toothbrushing on caries incidence in children and adolescents. *Int J Paediatr Dent*. 2018;28(1):3–11.
 140. Gray-Burrows KA, Day PF, Marshman Z, Aliakbari E, Prady SL, McEachan RRC. Using intervention mapping to develop a home-based parental-supervised toothbrushing intervention for young children. *Implement Sci*. 2016;11:61.
 141. Woodall, J, Woodward J, Witty K MS. An evaluation of a toothbrushing programme in schools. *Heal Educ*. 2014;114:414–434.
 142. Chaves SCL, Vieira-da-Silva LM. Anticaries effectiveness of fluoride toothpaste: a meta-analysis. *Rev Saude Publica*. 2002;36(5):598–606.
 143. Twetman S, Axelsson S, Dahlgren H, Holm A-K, Källestål C, Lagerlöf F, et al. Caries-preventive effect of fluoride toothpaste: a systematic review. *Acta Odontol Scand*. 2003;61(6):347–355.
 144. Topping GVA, Pitts NB. Clinical visual caries detection. *Monogr Oral Sci*. 2009;21:15–41.

-
145. Pitts NB, Stamm JW. International Consensus Workshop on Caries Clinical Trials (ICW-CCT)--final consensus statements: agreeing where the evidence leads. *J Dent Res.* 2004;83 Spec No:C125-128.
 146. Braga MM, Oliveira LB, Bonini GAVC, Bönecker M, Mendes FM. Feasibility of the International Caries Detection and Assessment System (ICDAS-II) in epidemiological surveys and comparability with standard World Health Organization criteria. *Caries Res.* 2009;43(4):245-249.
 147. Baelum V, Heidmann J, Nyvad B. Dental caries paradigms in diagnosis and diagnostic research. *Eur J Oral Sci.* 2006;114(4):263-277.
 148. Petersen PE. The World Oral Health Report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century--the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2003;31 Suppl 1:3-23.
 149. Burt BA, Baelum V FO. The epidemiology of dental caries. In: Fejerskov O KE. *the Disease and its Clinical Management.* 2ª. Oxford: Blackwell Munksgaard; 2008: 123-45.
 150. WHO. World Health Organization. *Oral Health Surveys. Basic Methods.* 4th edition. Geneva; 1997.
 151. Namal N, Sheiham A. Comparison of ranking dental status using the Significant Caries Index and the Significant Filled and Sound-Teeth Index. *Community Dent Health.* 2008;25(2):103-106.
 152. Marthaler T, Menghini G, Steiner M. Use of the Significant Caries Index in quantifying the changes in caries in Switzerland from 1964 to 2000. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2005;33(3):159-166.
 153. Morgan MZ, Chestnutt IG, Treasure ET. Summary measures of caries prevalence to describe high-risk communities. *Community Dent Health.* 2005;22(4):246-252.
 154. Batchelor PA, Sheiham A. The distribution of burden of dental caries in schoolchildren: a critique of the high-risk caries prevention strategy for populations. *BMC Oral Health.* 2006;6:3.
 155. Ismail AI, Sohn W, Lim S, Willem JM. Predictors of dental caries progression in primary teeth. *J Dent Res.* 2009;88(3):270-275.
 156. Shoaib L, Deery C, Ricketts DNJ, Nugent ZJ. Validity and reproducibility of ICDAS II in primary teeth. *Caries Res.* 2009;43(6):442-428.
 157. Mendes FM, Braga MM, Oliveira LB, Antunes JLF, Ardenghi TM, Bönecker M. Discriminant validity of the International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) and comparability with World Health Organization criteria in a cross-sectional study. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2010;38(5):398-407.
 158. Iranzo-Cortés JE, Montiel-Company JM, Almerich-Silla JM. Caries diagnosis: agreement between WHO and ICDAS II criteria in epidemiological surveys. *Community Dent Health.* 2013;30(2):108-111.
 159. Pitts NB. Are we ready to move from operative to non-operative/preventive treatment of dental caries in clinical practice? *Caries Res.* 2004;38(3):294-304.
 160. Zero DT, Fontana M, Martínez-Mier EA, Ferreira-Zandoná A, Ando M, González-Cabezas C, et

- al. The biology, prevention, diagnosis and treatment of dental caries: scientific advances in the United States. *J Am Dent Assoc.* 2009;140 Suppl:25S-34S.
161. Dye BA, Hsu K-LC, Afful J. Prevalence and Measurement of Dental Caries in Young Children. *Pediatr Dent.* 2015;37(3):200–216.
162. Patel RN, Eaton KA, Pitts NB, Schulte A, Pieper K, White S. Variation in methods used to determine national mean DMFT scores for 12-year-old children in European countries. *Community Dent Health.* 2016;33(4):286–291.
163. Broadbent JM, Foster Page LA, Thomson WM, Poulton R. Permanent dentition caries through the first half of life. *Br Dent J.* 2013;215(7):E12.
164. Stecksén-Blicks C, Hasslöf P, Kieri C, Widman K. Caries and background factors in Swedish 4-year-old children with special reference to immigrant status. *Acta Odontol Scand.* 2014;72(8):852–858.
165. Dye BA, Mitnik GL, Iafolla TJ, Vargas CM. Trends in dental caries in children and adolescents according to poverty status in the United States from 1999 through 2004 and from 2011 through 2014. *J Am Dent Assoc.* 2017;148(8):550-565.
166. Fleming E, Afful J. Prevalence of Total and Untreated Dental Caries Among Youth: United States, 2015-2016. *NCHS Data Brief.* 2018;(307):1–8.
167. Tinanoff N, Baez RJ, Diaz Guillory C, Donly KJ, Feldens CA, McGrath C, et al. Early childhood caries epidemiology, aetiology, risk assessment, societal burden, management, education, and policy: Global perspective. *Int J Paediatr Dent.* 2019;29(3):238–248.
168. WHO. World Health Organization. Findings from the Global Burden of Disease Study. Seattle; 2018.
169. Santamaria RM, Schmoeckel J, Basner R, Schüler E, Splieth CH. Caries Trends in the Primary Dentition of 6- to 7-Year-old Schoolchildren in Germany from 1994 to 2016: Results from the German National Oral Health Surveys in Children. *Caries Res.* 2019;53(6):659–566.
170. Vernazza CR, Murray JJ. Child dental health: Forty year overview. *Br Dent J.* 2017;24(6):406–407.
171. Vrbič V, Vrbič M, Petersen PE. Epidemiology of Dental Caries and Disease Prevention Among 12-Year-Olds in Slovenia Over Thirty Years (1987-2017). *Oral Health Prev Dent.* 2020;18(1):185–196.
172. Szöke J, Petersen PE. Changing Levels of Dental Caries over 30 Years among Children in a Country of Central and Eastern Europe - The Case of Hungary. *Oral Health Prev Dent.* 2020;18(1):177–183.
173. Petersen PE, Bourgeois D, Ogawa H, Estupinan-Day S, Ndiaye C. The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bull World Health Organ.* 2005;83(9):661–669.
174. de Almeida CM, Emilio MC, Möller I MT. 1st exploratory national survey of disease prevalence and treatment needs of the oral cavity. *Rev Port Estomatol Cir Maxilofac.* 1990;31(3):137–149.
175. de Almeida CM, Petersen PE, André SJ TA. Changing oral health status of 6- and 12-year-old

- schoolchildren in Portugal. *Community Dent Heal*. 2003;4:211–216.
176. DGS. Direção-Geral da Saúde. Programa Nacional de Promoção da Saúde Oral. Lisboa; 2005.
177. DGS. Direção-Geral da Saúde. Estudo Nacional de Prevalência das Doenças Orais. Lisboa; 2008.
178. DGS. Direção-Geral da Saúde. Estudo Nacional de Prevalência da Cárie Dentária na População Escolarizada. Lisboa; 2000.
179. Calado R, Ferreira CS, Nogueira P, Melo P. Caries prevalence and treatment needs in young people in Portugal: the third national study. *Community Dent Health*. 2017;34(2):107–111.
180. DGS. Direção-Geral da Saúde. Programa Nacional de Promoção da Saúde Oral. III Estudo Nacional de Prevalência das Doenças Orais. Lisboa; 2015.
181. Pereira A. Prevalência da cárie dentária na população escolar do ensino básico do distrito do Porto - Crianças isentas de cárie aos 6, 9 e 12 anos. *Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac*. 1992;33(1):13–20.
182. Melo, P, Reis J. Estudo epidemiológico da cárie dentária em crianças de 7 e 9 anos de Vizela. *Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac*. 2001;42(1):3–9.
183. Martin MD, Benton T, Bernardo M, Woods JS, Townes BD, Luis H, et al. The association of dental caries with blood lead in children when adjusted for IQ and neurobehavioral performance. *Sci Total Environ*. 2007;377(2–3):159–164.
184. Baldini V, Tagliaferro EP da S, Ambrosano GMB, Meneghim M de C, Pereira AC. Use of occlusal sealant in a community program and caries incidence in high- and low-risk children. *J Appl Oral Sci*. 2011;19(4):396–402.
185. Silva, A. Determinantes de saúde oral no concelho de Baião. Tese apresentada para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária. Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa; 2010.
186. Veiga, N, Pereira, C, Amaral O. Prevalence and determinants of dental caries in a sample of schoolchildren of Sátão, Portugal. *Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac*. 2014;55(4):214–219.
187. Gomes, C, Mendes, S, Bernardo M. Prevalência e gravidade de cárie dentária na dentição decídua nas crianças de 6 anos de Mafra. *Rev Port Estomatol Cir Maxilofac*. 2015;56(2):103–109.
188. Veiga N, Pereira C, Resende C, Amaral O, Ferreira M, Nelas P, et al. Oral and gastric *Helicobacter pylori*: effects and associations. *PLoS One*. 2015;10(5):e0126923.
189. Teixeira, R, Mendes S. Fluorose e cárie dentária na Ilha de São Miguel. *Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac*. 2019;60(Supplement 1):52.
190. Branco, V. Cárie dentária infantil. Estudo de prevalência de cárie dentária e seus determinantes sociais numa amostra de crianças entre os 6 e os 11 anos de idade do Distrito de Coimbra. Tese apresentada para a obtenção do grau de Mestre em Antropologia Médica. Departamento de Ciências da Vida da Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra; 2015.

-
191. Frias-Bulhosa, J, Barbosa, P, Gomes, E, Manso M. Association between body mass index and caries among 13-year-old population in Castelo de Paiva, Portugal. *Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac.* 2015;56(1):3–8.
 192. Rozan, C, Manso, AG, Ventura, I, Ribas, D, Castano Seiquer A. A cárie dentária e o seu impacto no meio familiar. *Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac.* 2016;57(Supplement 1):38–39.
 193. Sousa, P. A prevalência e a gravidade de cárie dentária numa população do 2º e 3º ciclo na freguesia de Freiria em Torres Vedras. Tese apresentada para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária. Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz; 2016.
 194. Cavacas, A, Manso, AG, Silva, S, Proença L. Prevalência da cárie dentária numa população jovem numa escola pública em Torres Vedras. *Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac.* 2017;58(Supplement 1):33.
 195. Silva, LS, Oliveira, CF, Ferreira, L, Santiago, M, Figueiredo, A, Seabra M. Avaliação da saúde oral das crianças institucionalizadas em Viseu. *Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac.* 2018;59(Supplement 1):53–54.
 196. Vasconcelos, NP, Melo, P, Gavinha S. Estudo dos fatores etiológicos das cáries precoces da infância numa população de risco. *Rev Port Estomatol Cir Maxilofac.* 2004;45:69–77.
 197. Mendes, S, Rodrigues, J D, Abukumail, N, Guerreiro, A B, Bernardo M. Prevalência e Gravidade de Cárie Dentária em três jardins de Infância da Freguesia de Alcântara. *Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac.* 2009;50(3):175–176.
 198. Ângelo, T, Veiga, N, Araújo, FM, Mendes C. Determinação do índice cpod numa amostra de crianças dos jardins-de-infância de Mangualde. *Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac.* 2012;53(Supplement 1):e3.
 199. Borralho, S. Prevalência, Gravidade e Fatores Associados à Cárie Precoce da Infância no Distrito de Lisboa. Tese apresentada para a obtenção do grau de Doutor em Medicina Dentária. Faculdade de Medicina Dentária, Universidade de Lisboa; 2014.
 200. Martins, CC, Pires, IR, Pereira M. Cárie precoce de infância e seus determinantes numa população pré-escolar, Porto. *Rev Port Estomatol Cir Maxilofac.* 2014;55 Supplem:e6-7.
 201. Mendes, S, Abukumail, N, Silva, R, Esperancinha, C, Vilela, T, Bernardo M. Saúde oral numa população infantil da freguesia de Alvalade - Lisboa. *Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac.* 2016;57(Supplement 1):39.
 202. Neto, L. Prevalência e fatores associados à cárie dentária numa população pré-escolar do concelho de Lisboa. Tese apresentada para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária. Faculdade de Medicina Dentária, Universidade de Lisboa; 2018.
 203. Pereira JL, Caramelo F, Soares AD, Cunha B, Gil AM, Costa AL. Prevalence and sociobehavioural determinants of early childhood caries among 5-year-old Portuguese children: a longitudinal study. *Eur Arch Paediatr Dent Off J Eur Acad Paediatr Dent.* 2020.
 204. Areias CM, Sampaio-Maia B, Guimaraes H, Melo P, Andrade D. Caries in Portuguese children with Down syndrome. *Clinics (Sao Paulo).* 2011;66(7):1183–1186.

-
205. Areias C, Sampaio-Maia B, Pereira M de L, Azevedo A, Melo P, Andrade C, et al. Reduced salivary flow and colonization by mutans streptococci in children with Down syndrome. *Clinics (Sao Paulo)*. 2012;67(9):1007–1111.
206. Macho V, Palha M, Macedo AP, Ribeiro O, Andrade C. Comparative study between dental caries prevalence of Down syndrome children and their siblings. *Spec care Dent Off Publ Am Assoc Hosp Dent Acad Dent Handicap Am Soc Geriatr Dent*. 2013;33(1):2–7.
207. Costa ALM. Caracterização multiparamétrica da saúde oral de uma amostra de crianças portuguesas diabéticas tipo 1 - potenciais denterminantes de intervenção preventiva e terapêutica. Tese apresentada para a obtenção do grau de Doutor em Medicina Dentária. Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra; 2013.
208. Coelho ASEC, Carneiro AS, Pereira VF, Paula AP, Macedo AP, Carrilho EVP. Oral Health of Portuguese Children with Type 1 Diabetes: A Multiparametric Evaluation. *J Clin Pediatr Dent*. 2018;42(3):231–235.
209. Splieth CH, Banerjee A, Bottenberg P, Breschi L, Campus G, Ekstrand KR, et al. How to Intervene in the Caries Process in Children: A Joint ORCA and EFCD Expert Delphi Consensus Statement. *Caries Res*. 2020;54(4):297–305.
210. AAPD. American Academy of Pediatric Dentistry. Perinatal and Infant Oral Health Care. Chicago; 2020.
211. AAPD. American Academy of Pediatric Dentistry. Policy on Dietary Recommendations for Infants, Children, and Adolescents. Chicago; 2020.
212. Marinho AR, Severo M, Correia D, Lobato L, Vilela S, Oliveira A, et al. Total, added and free sugar intakes, dietary sources and determinants of consumption in Portugal: the National Food, Nutrition and Physical Activity Survey (IAN-AF 2015-2016). *Public Health Nutr*. 2020;23(5):869–881.
213. AAPD. American Academy of Pediatric Dentistry Fluoride Therapy. Chicago; 2020.
214. Xiao J, Alkhers N, Kopycka-Kedzierawski DT, Billings RJ, Wu TT, Castillo DA, et al. Prenatal Oral Health Care and Early Childhood Caries Prevention: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Caries Res*. 2019;53(4):411–421.
215. Wright JT, Hanson N, Ristic H, Whall CW, Estrich CG, Zentz RR. Fluoride toothpaste efficacy and safety in children younger than 6 years: a systematic review. *J Am Dent Assoc*. 2014;145(2):182–189.
216. Marinho VCC. Evidence-based effectiveness of topical fluorides. *Adv Dent Res*. 2008;20(1):3–7.
217. Buzalaf MAR, Levy SM. Fluoride intake of children: considerations for dental caries and dental fluorosis. *Monogr Oral Sci*. 2011;22:1–19.
218. Wong MCM, Clarkson J, Glenny A-M, Lo ECM, Marinho VCC, Tsang BWK, et al. Cochrane reviews on the benefits/risks of fluoride toothpastes. *J Dent Res*. 2011;90(5):573–579.
219. Toumba KJ, Twetman S, Splieth C, Parnell C, van Loveren C, Lygidakis NA. Guidelines on the use of fluoride for caries prevention in children: an updated EAPD policy document. *Eur Arch*

- Paediatr Dent Off J Eur Acad Paediatr Dent. 2019;20(6):507–516.
220. Schwendicke F, Splieth CH, Thomson WM, Reda S, Stolpe M, Foster Page L. Cost-effectiveness of caries-preventive fluoride varnish applications in clinic settings among patients of low, moderate and high risk. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2018;46(1):8–16.
221. AAPD. American Academy of Pediatric Dentistry Policy on the Use of Silver Diamine Fluoride for Pediatric Dental Patients. Chicago; 2020.
222. Rozier RG, Adair S, Graham F, Iafolla T, Kingman A, Kohn W, et al. Evidence-based clinical recommendations on the prescription of dietary fluoride supplements for caries prevention: a report of the American Dental Association Council on Scientific Affairs. *J Am Dent Assoc*. 2010;141(12):1480–1489.
223. Azarpazhooh A, Limeback H. Clinical efficacy of casein derivatives: a systematic review of the literature. *J Am Dent Assoc*. 2008;139(7):915.
224. Xu X, Li JY, Zhou XD, Xie Q, Zhan L, Featherstone JDB. Randomized controlled clinical trial on the evaluation of bacteriostatic and cariostatic effects of a novel povidone-iodine/fluoride foam in children with high caries risk. *Quintessence Int*. 2009;40(3):215–223.
225. Beauchamp J, Caufield PW, Crall JJ, Donly KJ, Feigal R, Gooch B, et al. Evidence-based clinical recommendations for the use of pit-and-fissure sealants: a report of the American Dental Association Council on Scientific Affairs. *Dent Clin North Am*. 2009;53(1):131–147.
226. Papageorgiou SN, Dimitraki D, Kotsanos N, Bekes K, van Waas H. Performance of pit and fissure sealants according to tooth characteristics: A systematic review and meta-analysis. *J Dent*. 2017;66:8–17.
227. Schwendicke F, Jäger AM, Paris S, Hsu LY, Tu YK. Treating pit-and-fissure caries: a systematic review and network meta-analysis. *J Dent Res*. 2015;94(4):522–533.
228. Wright JT, Tampi MP, Graham L, Estrich C, Crall JJ, Fontana M, et al. Sealants for Preventing and Arresting Pit-and-fissure Occlusal Caries in Primary and Permanent Molars. *Pediatr Dent*. 2016;38(4):282–308.
229. Wright JT, Crall JJ, Fontana M, Gillette EJ, Nový BB, Dhar V, et al. Evidence-based clinical practice guideline for the use of pit-and-fissure sealants: A report of the American Dental Association and the American Academy of Pediatric Dentistry. *J Am Dent Assoc*. 2016;147(8):672–682.e12.
230. Braegger C, Campoy C, Colomb V, Decsi T, Domellof M, Fewtrell M, et al. Vitamin D in the healthy European paediatric population. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2013;56(6):692–701.
231. Holick MF, Biancuzzo RM, Chen TC, Klein EK, Young A, Bibuld D, et al. Vitamin D2 is as effective as vitamin D3 in maintaining circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(3):677–681.
232. Gilchrest BA. Sun exposure and vitamin D sufficiency. *Am J Clin Nutr*. 2008;88(2):570S–577S.
233. Engelsen O, Brustad M, Aksnes L, Lund E. Daily duration of vitamin D synthesis in human skin with relation to latitude, total ozone, altitude, ground cover, aerosols and cloud thickness.

- Photochem Photobiol. 2005;81(6):1287–1290.
234. Faurschou A, Beyer DM, Schmedes A, Bogh MK, Philipsen PA, Wulf HC. The relation between sunscreen layer thickness and vitamin D production after ultraviolet B exposure: a randomized clinical trial. *Br J Dermatol*. 2012;167(2):391–395.
 235. Chung M, Balk EM, Brendel M, Ip S, Lau J, Lee J, et al. Vitamin D and calcium: a systematic review of health outcomes. *Evid Rep Technol Assess*. 2009;(183):1–420.
 236. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(1):53–58.
 237. Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(4):1080S–6S.
 238. Commission Directive 2006/141/EC of 22 December 2006 on infant formulae and follow-on formulae and amending Directive 1999/21/EC. 2006.
 239. Wagner CL, Greer FR. Prevention of rickets and vitamin D deficiency in infants, children, and adolescents. *Pediatrics*. 2008;122(5):1142–1152.
 240. Vidailhet M, Mallet E, Bocquet A, Bresson J-L, Briend A, Chouraqui JP, et al. Vitamin D: still a topical matter in children and adolescents. A position paper by the Committee on Nutrition of the French Society of Paediatrics. *Arch Pediatr*. 2012;19(3):316–328.
 241. Arundel P, Ahmed SF, Allgrove J, Bishop NJ, Burren CP, Jacobs B, et al. British Paediatric and Adolescent Bone Group's position statement on vitamin D deficiency. *BMJ*. 2012;3:345e8182.
 242. Botelho J, Machado V, Proença L, Delgado AS, Mendes JJ. Vitamin D Deficiency and Oral Health: A Comprehensive Review. *Nutrients*. 2020;12(5):1471.
 243. Alves M, Bastos M, Leitão F, Marques G, Ribeiro G, Carrilho F. Vitamina D-importância da avaliação laboratorial. *Rev Port Endocrinol Diabetes Metab*. 2013;8(1):32–39.
 244. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr*. 2000;72(3):690–693.
 245. Kremer R, Campbell PP, Reinhardt T, Gilsanz V. Vitamin D status and its relationship to body fat, final height, and peak bone mass in young women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(1):67–73.
 246. Alemzadeh R, Kichler J, Babar G, Calhoun M. Hypovitaminosis D in obese children and adolescents: relationship with adiposity, insulin sensitivity, ethnicity, and season. *Metabolism*. 2008;57(2):183–191.
 247. Weng FL, Shults J, Leonard MB, Stallings VA, Zemel BS. Risk factors for low serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in otherwise healthy children and adolescents. *Am J Clin Nutr*. 2007;86(1):150–158.
 248. Lenders CM, Feldman HA, Von Scheven E, Merewood A, Sweeney C, Wilson DM, et al. Relation of body fat indexes to vitamin D status and deficiency among obese adolescents. *Am J Clin Nutr*. 2009;90(3):459–467.

-
249. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007;357(3):266–281.
250. Girgis CM, Clifton-Bligh RJ, Hamrick MW, Holick MF, Gunton JE. The roles of vitamin D in skeletal muscle: form, function, and metabolism. *Endocr Rev*. 2013;34(1):33–83.
251. Morris HA, Anderson PH. Autocrine and paracrine actions of vitamin d. *Clin Biochem Rev*. 2010;31(4):129–138.
252. Bikle DD. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem Biol*. 2014;21(3):319–329.
253. Kongsbak M, Levring TB, Geisler C, von Essen MR. The vitamin d receptor and T cell function. *Front Immunol*. 2013;4:148.
254. Binkley N, Ramamurthy R, Krueger D. Low vitamin D status: definition, prevalence, consequences, and correction. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2010;39(2):287–301.
255. Baecher S, Leinenbach A, Wright JA, Pongratz S, Kobold U, Thiele R. Simultaneous quantification of four vitamin D metabolites in human serum using high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for vitamin D profiling. *Clin Biochem*. 2012;45(16–17):1491–1496.
256. IOM. Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for calcium and Vitamin D. Washington; 2011.
257. Binkley N, Krueger D, Lensmeyer G. 25-hydroxyvitamin D measurement, 2009: a review for clinicians. *J Clin Densitom Off J Int Soc Clin Densitom*. 2009;12(4):417–427.
258. Fraser WD, Milan AM. Vitamin D assays: past and present debates, difficulties, and developments. *Calcif Tissue Int*. 2013;92(2):118–127.
259. Hollis BW. Assessment of circulating 25(OH)D and 1,25(OH)2D: emergence as clinically important diagnostic tools. *Nutr Rev*. 2007;65:S87-90.
260. Hollis BW. Measuring 25-hydroxyvitamin D in a clinical environment: challenges and needs. *Am J Clin Nutr*. 2008;88(2):507S-510S.
261. Wallace AM, Gibson S, de la Hunty A, Lamberg-Allardt C, Ashwell M. Measurement of 25-hydroxyvitamin D in the clinical laboratory: current procedures, performance characteristics and limitations. *Steroids*. 2010;75(7):477–488.
262. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(7):1911–1930.
263. Munns CF, Shaw N, Kiely M, Specker BL, Thacher TD, Ozono K, et al. Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets. *Horm Res Paediatr*. 2016;85(2):83–106.
264. Ross AC. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D. *Public Health Nutr*. 2011;14(5):938–939.
265. Siafarikas A, Simm P, Zacharin M, Jefferies C, Lafferty AR, Wheeler BJ, et al. Global consensus

- on nutritional rickets: Implications for Australia. *J Paediatr Child Health*. 2020;56(6):841–846.
266. Lips P. Which circulating level of 25-hydroxyvitamin D is appropriate? *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2004;89–90(1–5):611–614.
 267. Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord*. 2017;18(2):153–165.
 268. Geary DF, Hodson EM, Craig JC. Interventions for bone disease in children with chronic kidney disease. *Cochrane database Syst Rev*. 2010;(1):CD008327.
 269. Leonard MB, Feldman HI, Shults J, Zemel BS, Foster BJ, Stallings VA. Long-term, high-dose glucocorticoids and bone mineral content in childhood glucocorticoid-sensitive nephrotic syndrome. *N Engl J Med*. 2004;351(9):868–875.
 270. Wetzsteon RJ, Shults J, Zemel BS, Gupta PU, Burnham JM, Herskovitz RM, et al. Divergent effects of glucocorticoids on cortical and trabecular compartment BMD in childhood nephrotic syndrome. *J bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2009;24(3):503–513.
 271. Cashman KD, Dowling KG, Škrabáková Z, Gonzalez-Gross M, Valtueña J, De Henauw S, et al. Vitamin D deficiency in Europe: pandemic? *Am J Clin Nutr*. 2016;103(4):1033–1044.
 272. Manios Y, Moschonis G, Lambrinou C-P, Tsoutsouloupoulou K, Binou P, Karachaliou A, et al. A systematic review of vitamin D status in southern European countries. *Eur J Nutr*. 2018;57(6):2001–2036.
 273. Østergård M, Arnberg K, Michaelsen KF, Madsen AL, Krarup H, Trolle E, et al. Vitamin D status in infants: relation to nutrition and season. *Eur J Clin Nutr*. 2011;65(5):657–660.
 274. Dawodu A, Zalla L, Woo JG, Herbers PM, Davidson BS, Heubi JE, et al. Heightened attention to supplementation is needed to improve the vitamin D status of breastfeeding mothers and infants when sunshine exposure is restricted. *Matern Child Nutr*. 2014;10(3):383–397.
 275. Duarte C, Carvalho H, Rodrigues AM, Dias SS, Marques A, Santiago T, et al. Prevalence of vitamin D deficiency and its predictors in the Portuguese population: a nationwide population-based study. *Arch Osteoporos*. 2020;15(1):36.
 276. Santos A, Amaral TF, Guerra RS, Sousa AS, Álvares L, Moreira P, et al. Vitamin D status and associated factors among Portuguese older adults: results from the Nutrition UP 65 cross-sectional study. *BMJ Open*. 2017;7(6):e016123.
 277. Ferreira, S, Tomada I, Carreiro E, Póinhos R RC. Déficit de Vitamina D: Comorbilidade da Obesidade Pediátrica ou Consequência do Estilo de Vida? *Acta Pediatr Port*. 2016;47:38–45.
 278. Tojal M. Carência de vitamina D: um problema de saúde pública não reconhecido e frequente no Grande Porto? *Acta Pediátrica Port*. 2009;40(2):49–52.
 279. Cabral M, Araújo J, Lopes C, Barros H, Guimarães JT, Severo M, et al. Relationship between dietary vitamin D and serum 25-hydroxyvitamin D levels in Portuguese adolescents. *Public Health Nutr*. 2018;21(2):325–332.
 280. Wacker M, Holick MF. Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health.

- Dermatoendocrinol. 2013;5(1):51–108.
281. Araki T, Holick MF, Alfonso BD, Charlap E, Romero CM, Rizk D, et al. Vitamin D intoxication with severe hypercalcemia due to manufacturing and labeling errors of two dietary supplements made in the United States. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(12):3603–3608.
 282. Koutkia P, Chen TC, Holick MF. Vitamin D intoxication associated with an over-the-counter supplement. *N Engl J Med.* 2001;345(1):66–67.
 283. Rosen CJ. Clinical practice. Vitamin D insufficiency. *N Engl J Med.* 2011;364(3):248–254.
 284. Palermo NE, Holick MF. Vitamin D, bone health, and other health benefits in pediatric patients. *J Pediatr Rehabil Med.* 2014;7(2):179–192.
 285. Stapleton T, Macdonald WB, Lightwood R. The pathogenesis of idiopathic hypercalcemia in infancy. *Am J Clin Nutr.* 1957;5(5):533–542.
 286. Samuel HS. Infantile hypercalcaemia, nutritional rickets, and infantile scurvy in Great Britain. A British paediatric association report. *Br Med J.* 1964;1(5399):1659–1661.
 287. Friedman WF, Roberts WC. Vitamin D and the supravalvar aortic stenosis syndrome. The transplacental effects of vitamin D on the aorta of the rabbit. *Circulation.* 1966;34(1):77–86.
 288. Holick MF. Vitamin D Is Not as Toxic as Was Once Thought: A Historical and an Up-to-Date Perspective. *Mayo Clin Proc.* 2015;90(5):561–564.
 289. Pober BR. Williams-Beuren syndrome. *N Engl J Med.* 2010;362(3):239–252.
 290. Taylor AB, Stern PH, Bell NH. Abnormal regulation of circulating 25-hydroxyvitamin D in the Williams syndrome. *N Engl J Med.* 1982;306(16):972–975.
 291. Schlingmann KP, Kaufmann M, Weber S, Irwin A, Goos C, John U, et al. Mutations in CYP24A1 and idiopathic infantile hypercalcemia. *N Engl J Med.* 2011;365(5):410–421.
 292. Vogiatzi MG, Jacobson-Dickman E, DeBoer MD. Vitamin D supplementation and risk of toxicity in pediatrics: a review of current literature. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(4):1132–1141.
 293. Kara C, Gunindi F, Ustyol A, Aydin M. Vitamin D intoxication due to an erroneously manufactured dietary supplement in seven children. *Pediatrics.* 2014;133(1):e240-4.
 294. Barrueto FJ, Wang-Flores HH, Howland MA, Hoffman RS, Nelson LS. Acute vitamin D intoxication in a child. *Pediatrics.* 2005;116(3):e453-456.
 295. EFSA. European Food Safety Authority. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. Scientific Opinion on the Tolerable Upper Intake Level of vitamin D. Parma, Italy; 2012.
 296. Weisberg P, Scanlon KS, Li R, Cogswell ME. Nutritional rickets among children in the United States: review of cases reported between 1986 and 2003. *Am J Clin Nutr.* 2004;80(6 Suppl):1697S-705S.
 297. Dratva J, Merten S, Ackermann-Liebrich U. Vitamin D supplementation in Swiss infants. *Swiss Med Wkly.* 2006;136(29–30):473–481.

-
298. Carter GD. Accuracy of 25-hydroxyvitamin D assays: confronting the issues. *Curr Drug Targets*. 2011;12(1):19–28.
299. Prentice A, Goldberg GR, Schoenmakers I. Vitamin D across the lifecycle: physiology and biomarkers. *Am J Clin Nutr*. 2008;88(2):500S-506S.
300. Calvo MS, Whiting SJ, Barton CN. Vitamin D fortification in the United States and Canada: current status and data needs. *Am J Clin Nutr*. 2004;80(6 Suppl):1710S-1716S.
301. DGS. Direção-Geral da Saúde. Prevenção e Tratamento da Deficiência de Vitamina D. Lisboa; 2019.
302. Foster, L, Hujoel PP. Vitamin D in Dentoalveolar and Oral health. In: Feldman, D, Pike, W J, Bouillon, R, Giovannucci, E, Goltzman, D, Hewison M. Vitamin D. 4ª. Elsevier; 2018: 497–519.
303. Foster BL, Nociti FHJ, Somerman MJ. The rachitic tooth. *Endocr Rev*. 2014;35(1):1–34.
304. Rajakumar K. Vitamin D, cod-liver oil, sunlight, and rickets: a historical perspective. *Pediatrics*. 2003;112(2):e132-5.
305. Dunn PM. Francis Glisson (1597-1677) and the “discovery” of rickets. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1998;78(2):F154-F155.
306. Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest*. 2006;116(8):2062–2072.
307. Liberman U. Hereditary deficiencies in vitamin D action. In: Bilezikian JP, Raisz LG MT. Principles of bone biology. 3ª. San Diego (CA): Elsevier; 2008:1532–48.
308. Thorogood J. On therapeutic agents for the promotion of osseous development. *Br J Dent Sci*. 1883;26:297–305.
309. Chesney RW. Early animal models of rickets and proof of a nutritional deficiency hypothesis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012;54(3):322–327.
310. Mellanby M. The influence of diet on the structure of teeth. *Physiol Rev*. 1928;8:545–577.
311. Harrand RB, Hartles RL. The effect of vitamin D in rats maintained on diets with different mineral content but with the same calcium to phosphorus ratio of unity. *Br J Nutr*. 1970;24(4):929–942.
312. Berdal A, Balmain N, Cuisinier-Gleizes P, Mathieu H. Histology and microradiography of early post-natal molar tooth development in vitamin-D deficient rats. *Arch Oral Biol*. 1987;32(7):493–498.
313. Berdal A, Nanci A, Smith CE, Ahluwalia JP, Thomasset M, Cuisinier-Gleizes P, et al. Differential expression of calbindin-D 28 kDa in rat incisor ameloblasts throughout enamel development. *Anat Rec*. 1991;230(2):149–163.
314. Berkovitz, BKB, Holland GR M. Desenvolvimento inicial do dente. In: Berkovitz, BKB, Holland GR M. Anatomia, Embriologia e Histologia Bucal. 3ª. São Paulo: Artmed Editora; 2004: 290–303.
315. Simmer JP, Papagerakis P, Smith CE, Fisher DC, Rountrey AN, Zheng L, et al. Regulation of

- dental enamel shape and hardness. *J Dent Res*. 2010;89(10):1024–1038.
316. Gibson CW SM. Enamel fabrication: the story of amelogenesis. In: McCauley LK SM. Mineralized tissues in oral and craniofacial science: biological principles and clinical correlates. 1ª. Ames (IA): John Wiley & Sons, Inc.; 2012: 153–161.
 317. Bartlett JD. Dental enamel development: proteinases and their enamel matrix substrates. *ISRN Dent*. 2013;2013:684607.
 318. Hu JC-C, Simmer JP. Developmental biology and genetics of dental malformations. *Orthod Craniofac Res*. 2007;10(2):45–52.
 319. Wang S-K, Hu Y, Simmer JP, Seymen F, Estrella NMRP, Pal S, et al. Novel KLK4 and MMP20 mutations discovered by whole-exome sequencing. *J Dent Res*. 2013;92(3):266–271.
 320. Goldberg M, Kulkarni AB, Young M, Boskey A. Dentin: structure, composition and mineralization. *Front Biosci*. 2011;3:711–735.
 321. Berkovitz, B K B, Holland, G R, Moxham BJ. Dentinógenese. In: Berkovitz, B K B, Holland, G R, Moxham BJ. *Anatomia, Embriologia e Histologia Bucal*. 3ª. São Paulo: Artmed editora; 2004: 320–331.
 322. Foster BL, Nagatomo KJ, Tso HW, Tran AB, Nociti FHJ, Narisawa S, et al. Tooth root dentin mineralization defects in a mouse model of hypophosphatasia. *J bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2013;28(2):271–282.
 323. Takano Y, Sakai H, Baba O, Terashima T. Differential involvement of matrix vesicles during the initial and appositional mineralization processes in bone, dentin, and cementum. *Bone*. 2000;26(4):333–339.
 324. Wuthier RE, Lipscomb GF. Matrix vesicles: structure, composition, formation and function in calcification. *Front Biosci*. 2011;16:2812–2902.
 325. Golub EE. Role of matrix vesicles in biomineralization. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1790(12):1592–1598.
 326. Fisher LW, Fedarko NS. Six genes expressed in bones and teeth encode the current members of the SIBLING family of proteins. *Connect Tissue Res*. 2003;44 Suppl 1:33–40.
 327. Opsahl Vital S, Gaucher C, Bardet C, Rowe PS, George A, Linglart A, et al. Tooth dentin defects reflect genetic disorders affecting bone mineralization. *Bone*. 2012;50(4):989–997.
 328. Nanci A SM. Periodontium. In: Nanci A. *Oral histology: development, structure, and function*. 7ª. St. Louis (MO): Mosby; 2008: 239–267.
 329. Foster BL, Popowics TE, Fong HK, Somerman MJ. Advances in defining regulators of cementum development and periodontal regeneration. *Curr Top Dev Biol*. 2007;78:47–126.
 330. Sodek J, McKee MD. Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontol* 2000. 2000;;24:99–126.
 331. Wang Z, McCauley LK. Osteoclasts and odontoclasts: signaling pathways to development and

- disease. *Oral Dis.* 2011;17(2):129–142.
332. Fong HK, Foster BL, Popowics TE, Somerman MJ. The crowning achievement: getting to the root of the problem. *J Dent Educ.* 2005;69(5):555–570.
 333. Berdal A, Hotton D, Pike JW, Mathieu H, Dupret JM. Cell- and stage-specific expression of vitamin D receptor and calbindin genes in rat incisor: regulation by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Dev Biol.* 1993;155(1):172–179.
 334. Berdal A, Papagerakis P, Hotton D, Bailleul-Forestier I, Davideau JL. Ameloblasts and odontoblasts, target-cells for 1,25-dihydroxyvitamin D₃: a review. *Int J Dev Biol.* 1995;39(1):257–262.
 335. Chen Y-C, Ninomiya T, Hosoya A, Hiraga T, Miyazawa H, Nakamura H. 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃ inhibits osteoblastic differentiation of mouse periodontal fibroblasts. *Arch Oral Biol.* 2012;57(5):453–459.
 336. Haussler MR, Whitfield GK, Kaneko I, Haussler CA, Hsieh D, Hsieh J-C, et al. Molecular mechanisms of vitamin D action. *Calcif Tissue Int.* 2013;92(2):77–98.
 337. Mesbah M, Nemere I, Papagerakis P, Nefussi J-R, Orestes-Cardoso S, Nessmann C, et al. Expression of a 1,25-dihydroxyvitamin D₃ membrane-associated rapid-response steroid binding protein during human tooth and bone development and biomineralization. *J bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res.* 2002;17(9):1588–1596.
 338. Fretz JA, Zella LA, Kim S, Shevde NK, Pike JW. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ regulates the expression of low-density lipoprotein receptor-related protein 5 via deoxyribonucleic acid sequence elements located downstream of the start site of transcription. *Mol Endocrinol.* 2006;20(9):2215–2230.
 339. L  zot F, Descroix V, Mesbah M, Hotton D, Blin C, Papagerakis P, et al. Cross-talk between Msx/Dlx homeobox genes and vitamin D during tooth mineralization. *Connect Tissue Res.* 2002;43(2–3):509–514.
 340. Pike JW, Meyer MB, Watanuki M, Kim S, Zella LA, Fretz JA, et al. Perspectives on mechanisms of gene regulation by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and its receptor. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2007;103(3–5):389–395.
 341. Chen JJ, Jin H, Ranly DM, Sodek J, Boyan BD. Altered expression of bone sialoproteins in vitamin D-deficient rBSP2.7Luc transgenic mice. *J bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res.* 1999;14(2):221–229.
 342. Papagerakis P, MacDougall M, Berdal A. Differential epithelial and mesenchymal regulation of tooth-specific matrix proteins expression by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in vivo. *Connect Tissue Res.* 2002;43(2–3):372–375.
 343. Kondo T, Kitazawa R, Maeda S, Kitazawa S. 1 α ,25 dihydroxyvitamin D₃ rapidly regulates the mouse osteoprotegerin gene through dual pathways. *J bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res.* 2004;19(9):1411–1419.
 344. Gu J, Tong X-S, Chen G-H, Wang D, Chen Y, Yuan Y, et al. Effects of 1 α ,25-(OH)₂D₃ on the formation and activity of osteoclasts in RAW264.7 cells. *J Steroid Biochem Mol Biol.*

- 2015;152:25–33.
345. Ono W, Sakagami N, Nishimori S, Ono N, Kronenberg HM. Parathyroid hormone receptor signalling in osterix-expressing mesenchymal progenitors is essential for tooth root formation. *Nat Commun.* 2016;7:11277.
 346. Schroth RJ, Levi JA, Sellers EA, Friel J, Kliwer E, Moffatt MEK. Vitamin D status of children with severe early childhood caries: a case-control study. *BMC Pediatr.* 2013;13:174.
 347. Dietrich T, Joshipura KJ, Dawson-Hughes B, Bischoff-Ferrari HA. Association between serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D3 and periodontal disease in the US population. *Am J Clin Nutr.* 2004;80(1):108–113.
 348. Martínez-Maestre MÁ, González-Cejudo C, Machuca G, Torrejón R, Castelo-Branco C. Periodontitis and osteoporosis: a systematic review. *Climacteric.* 2010;13(6):523–529.
 349. Fathi N, Ahmadian E, Shahi S, Roshangar L, Khan H, Kouhsoltani M, et al. Role of vitamin D and vitamin D receptor (VDR) in oral cancer. *Biomed Pharmacother.* 2019;109:391–401.
 350. D’Ortenzio L, Kahlon B, Peacock T, Salahuddin H, Brickley M. The rachitic tooth: Refining the use of interglobular dentine in diagnosing vitamin D deficiency. *Int J Paleopathol.* 2018;22:101–108.
 351. Bergwitz C, Jüppner H. Regulation of phosphate homeostasis by PTH, vitamin D, and FGF23. *Annu Rev Med.* 2010;61:91–104.
 352. Pike JW, Meyer MB. The vitamin D receptor: new paradigms for the regulation of gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D(3). *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010;39(2):255–269.
 353. Schroth RJ, Lavelle C, Tate R, Bruce S, Billings RJ, Moffatt MEK. Prenatal vitamin D and dental caries in infants. *Pediatrics.* 2014;133(5):e1277-e1284.
 354. Singleton R, Day G, Thomas T, Schroth R, Klejka J, Lenaker D, et al. Association of Maternal Vitamin D Deficiency with Early Childhood Caries. *J Dent Res.* 2019;98(5):549–555.
 355. Karras SN, Fakhoury H, Muscogiuri G, Grant WB, van den Ouweland JM, Colao AM, et al. Maternal vitamin D levels during pregnancy and neonatal health: evidence to date and clinical implications. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2016;8(4):124–135.
 356. Nørrisgaard PE, Haubek D, Kühnisch J, Chawes BL, Stokholm J, Bønnelykke K, et al. Association of High-Dose Vitamin D Supplementation During Pregnancy With the Risk of Enamel Defects in Offspring: A 6-Year Follow-up of a Randomized Clinical Trial. *JAMA Pediatr.* 2019;173(10):924–930.
 357. Reed SG, Voronca D, Wingate JS, Murali M, Lawson AB, Hulsey TC, et al. Prenatal vitamin D and enamel hypoplasia in human primary maxillary central incisors: a pilot study. *Pediatr Dent J Int J Japanese Soc Pediatr Dent.* 2017;27(1):21–28.
 358. Yildiz G, Ermis RB, Calapoglu NS, Celik EU, Türel GY. Gene-environment Interactions in the Etiology of Dental Caries. *J Dent Res.* 2016;95(1):74–79.
 359. Rosier BT, Marsh PD, Mira A. Resilience of the Oral Microbiota in Health: Mechanisms That

- Prevent Dysbiosis. *J Dent Res*. 2018;97(4):371–380.
360. Kim I-J, Lee H-S, Ju H-J, Na J-Y, Oh H-W. A cross-sectional study on the association between vitamin D levels and caries in the permanent dentition of Korean children. *BMC Oral Health*. 2018;18(1):43.
 361. Gyll J, Ridell K, Öhlund I, Karlsland Åkeson P, Johansson I, Lif Holgersson P. Vitamin D status and dental caries in healthy Swedish children. *Nutr J*. 2018;17(1):11.
 362. Grant WB. A review of the role of solar ultraviolet-B irradiance and vitamin D in reducing risk of dental caries. *Dermatoendocrinol*. 2011;3(3):193–198.
 363. Wong JH, Ye XJ, Ng TB. Cathelicidins: peptides with antimicrobial, immunomodulatory, anti-inflammatory, angiogenic, anticancer and procancer activities. *Curr Protein Pept Sci*. 2013;14(6):504–514.
 364. Goeke JE, Kist S, Schubert S, Hickel R, Huth KC, Kollmuss M. Sensitivity of caries pathogens to antimicrobial peptides related to caries risk. *Clin Oral Investig*. 2018;22(7):2519–2525.
 365. Chapple ILC, Bouchard P, Cagetti MG, Campus G, Carra M-C, Cocco F, et al. Interaction of lifestyle, behaviour or systemic diseases with dental caries and periodontal diseases: consensus report of group 2 of the joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal diseases. *J Clin Periodontol*. 2017;44 Suppl 1:S39–S51.
 366. Antonoglou GN, Knuuttila M, Niemelä O, Raunio T, Karttunen R, Vainio O, et al. Low serum level of 1,25(OH)₂ D is associated with chronic periodontitis. *J Periodontol Res*. 2015;50(2):274–280.
 367. Costantini E, Sinjari B, Piscopo F, Porreca A, Reale M, Caputi S, et al. Evaluation of Salivary Cytokines and Vitamin D Levels in Periodontopathic Patients. *Int J Mol Sci*. 2020;21(8).
 368. Hu X, Niu L, Ma C, Huang Y, Yang X, Shi Y, et al. Calcitriol decreases live *Porphyromonas gingivalis* internalized into epithelial cells and monocytes by promoting autophagy. *J Periodontol*. 2020;91(7):956–966.
 369. Bi C-S, Wang J, Qu H-L, Li X, Tian B-M, Ge S, et al. Calcitriol suppresses lipopolysaccharide-induced alveolar bone damage in rats by regulating T helper cell subset polarization. *J Periodontol Res*. 2019;54(6):612–623.
 370. Jagelavičienė E, Vaitkevičienė I, Šilingaitė D, Šinkūnaitė E, Daugėlaitė G. The Relationship between Vitamin D and Periodontal Pathology. *Medicina (Kaunas)*. 2018;54(3).
 371. Wan Q-S, Li L, Yang S-K, Liu Z-L, Song N. Role of Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms on the Susceptibility to Periodontitis: A Meta-Analysis of a Controversial Issue. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2019;23(9):618–633.
 372. Gao W, Tang H, Wang D, Zhou X, Song Y, Wang Z. Effect of short-term vitamin D supplementation after nonsurgical periodontal treatment: A randomized, double-masked, placebo-controlled clinical trial. *J Periodontol Res*. 2020;55(3):354–362.
 373. Boggess KA, Espinola JA, Moss K, Beck J, Offenbacher S, Camargo CAJ. Vitamin D status and periodontal disease among pregnant women. *J Periodontol*. 2011;82(2):195–200.

-
374. Nimeri G, Kau CH, Abou-Kheir NS, Corona R. Acceleration of tooth movement during orthodontic treatment--a frontier in orthodontics. *Prog Orthod.* 2013;14:42.
375. Kale S, Kocadereli I, Atila P, Aşan E. Comparison of the effects of 1,25 dihydroxycholecalciferol and prostaglandin E2 on orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofac Orthop Off Publ Am Assoc Orthod its Const Soc Am Board Orthod.* 2004;125(5):607–614.
376. Anand A, Singh S, Sonkar AA, Husain N, Singh KR, Singh S, et al. Expression of vitamin D receptor and vitamin D status in patients with oral neoplasms and effect of vitamin D supplementation on quality of life in advanced cancer treatment. *Contemp Oncol (Poznan, Poland).* 2017;21(2):145–151.
377. Reiter AM, Lewis JR, Okuda A. Update on the etiology of tooth resorption in domestic cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2005 Jul;35(4):913–942.
378. Padbury ADJ, Tözüm TF, Taba MJ, Ealba EL, West BT, Burney RE, et al. The impact of primary hyperparathyroidism on the oral cavity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(9):3439–3445.
379. Berdal A. Vitamin D action on tooth development and biomineralization. In: Feldman D, Glorieux FH PJ. *Vitamin D.* 1st ed. EUA: Academic Press; 1997: 423–436.
380. Davit-Béal T, Gabay J, Antonioli P, Masle-Farquhar J, Wolikow M. Dental complications of rickets in early childhood: case report on 2 young girls. *Pediatrics.* 2014;133(4):e1077-e1081.
381. Warren JJ, Blanchette D, Dawson D V, Marshall TA, Phipps KR, Starr D, et al. Factors associated with dental caries in a group of American Indian children at age 36 months. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2016;44(2):154–161.
382. Moynihan P, Makino Y, Petersen PE, Ogawa H. Implications of WHO Guideline on Sugars for dental health professionals. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2018;46(1):1–7.
383. Crozier SR, Robinson SM, Borland SE, Inskip HM. Dietary patterns in the Southampton Women's Survey. *Eur J Clin Nutr.* 2006;60(12):1391–1399.
384. Hu S, Sim YF, Toh JY, Saw SM, Godfrey KM, Chong Y-S, et al. Infant dietary patterns and early childhood caries in a multi-ethnic Asian cohort. *Sci Rep.* 2019;9(1):852.
385. Marinho VCC, Higgins JPT, Logan S, Sheiham A. Topical fluoride (toothpastes, mouthrinses, gels or varnishes) for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane database Syst Rev.* 2003;2003(4):CD002782.
386. Hilgert LA, Leal SC, Mulder J, Creugers NHJ, Frencken JE. Caries-preventive Effect of Supervised Toothbrushing and Sealants. *J Dent Res.* 2015;94(9):1218–1224.
387. Hall-Scullin E, Whitehead H, Milsom K, Tickle M, Su T-L, Walsh T. Longitudinal Study of Caries Development from Childhood to Adolescence. *J Dent Res.* 2017;96(7):762–767.
388. Larsen PS, Kamper-Jørgensen M, Adamson A, Barros H, Bonde JP, Brescianini S, et al. Pregnancy and birth cohort resources in europe: a large opportunity for aetiological child health research. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2013;27(4):393–414.
389. Vilela S, Severo M, Moreira T, Ramos E, Lopes C. Evaluation of a short food frequency

- questionnaire for dietary intake assessment among children. *Eur J Clin Nutr.* 2019;73(5):679–691.
390. Durão C, Andreozzi V, Oliveira A, Moreira P, Guerra A, Barros H, et al. Maternal child-feeding practices and dietary inadequacy of 4-year-old children. *Appetite.* 2015;92:15–23.
391. Valenzuela MJ, Waterhouse B, Aggarwal VR, Bloor K, Doran T. Effect of sugar-sweetened beverages on oral health: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Public Health.* 2021;31(1):122-129.
392. Durão C, Severo M, Oliveira A, Moreira P, Guerra A, Barros H, et al. Association of maternal characteristics and behaviours with 4-year-old children's dietary patterns. *Matern Child Nutr.* 2017;13(2)e12278.
393. Byrt T. How Good Is That Agreement? *Epidemiology.* 1996;7(5):561.
394. Ismail AI, Sohn W, Tellez M, Amaya A, Sen A, Hasson H, et al. The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): an integrated system for measuring dental caries. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2007;35(3):170–178.
395. Winter J, Glaser M, Heinzl-Gutenbrunner M, Pieper K. Association of caries increment in preschool children with nutritional and preventive variables. *Clin Oral Investig.* 2015;19(8):1913–1119.
396. Llena C, Calabuig E. Risk factors associated with new caries lesions in permanent first molars in children: a 5-year historical cohort follow-up study. *Clin Oral Investig.* 2018;22(3):1579–1586.
397. Lim S, Tellez M, Ismail AI. Dental caries development among African American children: results from a 4-year longitudinal study. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2015;43(3):200–207.
398. Un Lam C, Khin LW, Kalhan AC, Yee R, Lee YS, Chong MF-F, et al. Identification of Caries Risk Determinants in Toddlers: Results of the GUSTO Birth Cohort Study. *Caries Res.* 2017;51(4):271–282.
399. Wagner Y, Heinrich-Weltzien R. Evaluation of an interdisciplinary preventive programme for early childhood caries: findings of a regional German birth cohort study. *Clin Oral Investig.* 2016;20(8):1943–1952.
400. DGS. Direção-Geral da Saúde. III Estudo Nacional de Prevalência das Doenças Orais (Resultados). Lisboa; 2015.
401. Oliveira AFB, Chaves AMB, Rosenblatt A. The influence of enamel defects on the development of early childhood caries in a population with low socioeconomic status: a longitudinal study. *Caries Res.* 2006;40(4):296–302.
402. Hong L, Levy SM, Warren JJ, Broffitt B. Association between enamel hypoplasia and dental caries in primary second molars: a cohort study. *Caries Res.* 2009;43(5):345–353.
403. Targino AGR, Rosenblatt A, Oliveira AF, Chaves AMB, Santos VE. The relationship of enamel defects and caries: a cohort study. *Oral Dis.* 2011;17(4):420–426.
404. Silva MJ, Riggs E, Kilpatrick NM. Getting ahead of the oral health game: it starts before we're born? *Aust Dent J.* 2019;64 Suppl 1:S4–S9.

-
405. Vargas-Ferreira F, Zeng J, Thomson WM, Peres MA, Demarco FF. Association between developmental defects of enamel and dental caries in schoolchildren. *J Dent*. 2014;42(5):540–546.
 406. Salam RA, Zuberi NF, Bhutta ZA. Pyridoxine (vitamin B6) supplementation during pregnancy or labour for maternal and neonatal outcomes. *Cochrane database Syst Rev*. 2015;(6):CD000179.
 407. Southward K. A hypothetical role for vitamin K2 in the endocrine and exocrine aspects of dental caries. *Med Hypotheses*. 2015;84(3):276–280.
 408. Hujoel PP, Lingström P. Nutrition, dental caries and periodontal disease: a narrative review. *J Clin Periodontol*. 2017;44 Suppl 1:S79–S84.
 409. Zhang X, Beck P, Rahemtulla F, Thomas HF. Regulation of enamel and dentin mineralization by vitamin D receptor. *Front Oral Biol*. 2009;13:102–109.
 410. Hewison M. Vitamin D and innate and adaptive immunity. *Vitam Horm*. 2011;86:23–62.
 411. Tanaka K, Hitsumoto S, Miyake Y, Okubo H, Sasaki S, Miyatake N, et al. Higher vitamin D intake during pregnancy is associated with reduced risk of dental caries in young Japanese children. *Ann Epidemiol*. 2015;25(8):620–625.
 412. Higgins JPT, Altman DG, Gøtzsche PC, Jüni P, Moher D, Oxman AD, et al. The Cochrane Collaboration’s tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ*. 2011;343:d5928.
 413. Wells GA, Shea B, O’Connell D, Peterson J, Welch V, Losos M, Tugwell P. The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for Assessing the Quality of Nonrandomized Studies in Meta-analyses. Canada; 2015.
 414. Jüni P, Witschi A, Bloch R, Egger M. The hazards of scoring the quality of clinical trials for meta-analysis. *JAMA*. 1999;282(11):1054–1060.
 415. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, Ioannidis JPA, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. *J Clin Epidemiol*. 2009;62(10):e1–e34.
 416. Korun, S.; Bahececiler, N.N.; Uncu, M.M.; Galip, N.; Dalkan, C.; Cetiner S. Impact of cord blood vitamin D level on early childhood caries in infancy: a pilot study. *Iran Red Crescent Med*. 2017;(19):55625.
 417. Kühnisch J, Thiering E, Kratzsch J, Heinrich-Weltzien R, Hickel R, Heinrich J. Elevated serum 25(OH)-vitamin D levels are negatively correlated with molar-incisor hypomineralization. *J Dent Res*. 2015;94(2):381–387.
 418. Schroth RJ, Jeal NS, Kliewer E, Sellers EAC. The relationship between vitamin D and severe early childhood caries: a pilot study. *Int J Vitam Nutr Res*. 2012; 82(1):53–62.
 419. Harinarayan C V, Joshi SR. Vitamin D status in India--its implications and remedial measures. *J Assoc Physicians India*. 2009;57:40–48.
 420. Gordon CM, Williams AL, Feldman HA, May J, Sinclair L, Vasquez A, et al. Treatment of hypovitaminosis D in infants and toddlers. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(7):2716–2721.
 421. Duffy EL, Kranz AM, Dick AW, Sorbero M, Stein BD. Association between type of health

- insurance and children's oral health, NHANES 2011-2014. *J Public Health Dent.* 2018;78(4):337–345.
422. Willems S, Vanobbergen J, Martens L, De Maeseneer J. The independent impact of household- and neighborhood-based social determinants on early childhood caries: a cross-sectional study of inner-city children. *Fam Community Health.* 2005;28(2):168–175.
 423. Carvalho Silva C, Mendes R, Manso M da C, Gavinha S, Melo P. Prenatal or Childhood Serum Levels of Vitamin D and Dental Caries in Paediatric Patients: A Systematic Review. *Oral Health Prev Dent.* 2020;18(1):653–667.
 424. WHO. World Health Organization. Child Growth Standards based on length/height, weight and age. *Acta Paediatr Suppl.* 2006;450:76–85.
 425. Stagi S, Bertini F, Rigante D, Falcini F. Vitamin D levels and effects of vitamin D replacement in children with periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis (PFAPA) syndrome. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2014;78(6):964–968.
 426. von Philipsborn P, Stratil JM, Burns J, Busert LK, Pfadenhauer LM, Polus S, et al. Environmental interventions to reduce the consumption of sugar-sweetened beverages and their effects on health. *Cochrane database Syst Rev.* 2019;6(6):CD012292.
 427. Dye BA, Shenkin JD, Ogden CL, Marshall TA, Levy SM, Kanellis MJ. The relationship between healthful eating practices and dental caries in children aged 2-5 years in the United States, 1988-1994. *J Am Dent Assoc.* 2004;135(1):55–66.
 428. Graves RC, Abernathy JR, Disney JA, Stamm JW, Bohannon HM. University of North Carolina caries risk assessment study. III. Multiple factors in caries prevalence. *J Public Health Dent.* 1991;51(3):134–143.
 429. Fisher-Owens SA, Gansky SA, Platt LJ, Weintraub JA, Soobader M-J, Bramlett MD, et al. Influences on children's oral health: a conceptual model. *Pediatrics.* 2007;120(3):e510-e520.
 430. van der Tas JT, Kragt L, Elfrink MEC, Bertens LCM, Jaddoe VW V, Moll HA, et al. Social inequalities and dental caries in six-year-old children from the Netherlands. *J Dent.* 2017;62:18–24.
 431. Ju X, Jamieson LM, Mejia GC. Estimating the effects of maternal education on child dental caries using marginal structural models: The Longitudinal Study of Indigenous Australian Children. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2016;44(6):602–610.
 432. Carvalho Silva C, Gavinha S, Manso MC, Rodrigues R, Martins S, Guimarães JT, et al. Serum Levels of Vitamin D and Dental Caries in 7-Year-Old Children in Porto Metropolitan Area. *Nutrients.* 2021;13(1):166.
 433. EPACI. Estudo do Padrão Alimentar e de Crescimento Infantil: EPACI Portugal 2012. 2013.