ESTER MI RYOUNG LEE

Análise *in vitro* da morfologia superficial de uma nova formulação de biovidro associado ao laser de Nd:YAG e laser de CO₂ aplicados sobre dentina humana

São Paulo

2017

ESTER MI RYOUNG LEE

Análise *in vitro* da morfologia superficial de uma nova formulação de biovidro associado ao laser de Nd:YAG e laser de CO₂ aplicados sobre dentina humana

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Dentística) para obter o título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Carlos de Paula
Eduardo

Área de concentração: Laser em
Odontologia

Orientador: Prof. Dr. Carlos de Paula
Eduardo

São Paulo

2017

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Lee, Ester Mi Ryoung.

Análise *in vitro* da morfologia superficial de uma nova formulação de biovidro associado ao laser de Nd: YAG e laser de CO₂ aplicados sobre dentina humana / Ester Mi Ryoung Lee ; orientador Carlos de Paula Eduardo. -- São Paulo, 2017.

104 p. : fig., tab., graf.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) -- Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Dentística). Área de Concentração: Laser em Odontologia. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão corrigida

1. Sensibilidade da dentina. 2. Laser. 3. Microscopia eletrônica de varredura. 4. Difração por raios X. I. Eduardo, Carlos de Paula. II. Título.

Lee EMR. Análise *in vitro* da morfologia superficial de uma nova formulação de biovidro associado ao laser de Nd:YAG e laser de CO₂ aplicados sobre dentina humana. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em: 13 / 06 / 2017

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). Márcia Martins Marques

Instituição: FOU SP

Julgamento: Aprovada

Prof(a). Dr(a). Victor Elias Aranha - Chaves

Instituição: FOU SP

Julgamento: Aprovada

Prof(a). Dr(a). Marina Stella Bello Silva

Instituição: UNINOVE

Julgamento: Aprovada

Dedico esse trabalho a Deus

E a minha família que me ama sem limites

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo seu amor incondicional, sua maravilhosa graça e bondade sem fim. Pelos sonhos que tenho vivido nele. Os seus planos são maiores que os meus.

A minha família: aos meus pais que sempre confiaram em mim e têm me dado todo o suporte e apoio ao longo da minha vida. A minha avó que sempre foi como uma mãe. As minhas irmãs, Bruna e Gabriela, que são as minhas melhores amigas! Ao meu noivo Jaime, por acreditar em mim, pela sua paciência e espera.

Ao meu orientador Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo, uma das pessoas mais visionárias que tive a chance de conhecer. Obrigada por todas as oportunidades, pela compreensão e constante confiança depositada em mim. Por me incentivar a fazer o mestrado em laser em odontologia. O senhor tem sido a minha maior referência como profissional completo na Odontologia. A sua paixão pela pesquisa e pela clínica me impulsionam sempre a ser uma profissional completa que une a ciência à prática clínica. Com o senhor, tenho aprendido o valor e a importância do COMPROMETIMENTO e paixão pela Odontologia.

A Profa. Dra. Márcia Martins Marques. Obrigada por todas as contribuições, sugestões e idéias para esse trabalho. Agradeço pela sua constante ajuda e por manter as portas de sua sala e de seu laboratório abertas para mim. Admiro muito a sua genialidade, versatilidade e competência como pesquisadora e acadêmica.

A Profa. Dra. Juliana Marchi pela oportunidade de trabalhar com a maravilhosa equipe de alunos da UFABC e por abrir as portas de sua sala e de seu laboratório para que eu realizasse parte importante desse trabalho.

Ao Roger Borges pela colaboração nesse trabalho. Por todas as idéias e sugestões e por sua imensa contribuição nas análises e discussão desse trabalho, pelas nossas incontáveis conversas, e-mails e encontros para que esse trabalho

acontecesse. Você tem a habilidade de tornar qualquer assunto difícil em algo simples e fácil! Sua positividade e energia me incentivaram nessa jornada!

A Telma Zambanini por sua contribuição nesse trabalho. Por passar longas horas comigo nas salas gélidas da central multiusuário da UFABC e a Isis por sua ajuda, disposição e contribuição no início desse trabalho. Pelas trocas de idéias e experiências profissionais. Muito obrigada!

A Thais Regina Elmadjian, por toda a sua ajuda e disposição em tirar dúvidas mesmo à distância. Meu muito obrigada!

Ao Prof. Dr. Victor Elias Arana-Chavez, por toda aprendizagem e ensino. Pelo aprendizado que se iniciou na graduação e se estendeu até a pós-graduação. Pelas inúmeras conversas e sugestões. Por abrir as portas de sua sala e de seu laboratório para que eu pudesse fazer parte importante desse trabalho. Agradeço pelas horas na sala de microscopia eletrônica no LELO, onde tive a oportunidade de aprender um pouco mais de sobre Microscopia Eletrônica.

A Elisângela Chinen, pela sua ajuda durante o processamento das amostras para as leituras de MEV. Agradeço pela sua paciência e pelo aprendizado que tive com você!

A Profa. Dra. Ana Cecília Correa Aranha, por toda a ajuda e contribuições para esse trabalho. Por sua disposição em sempre ajudar e oferecer condições para que os alunos atinjam seus objetivos. Agradeço pela sua amizade e por todos os conselhos em momentos difíceis durante a minha trajetória e também, pelos momentos agradáveis que compartilhamos juntas no LELO. A sua competência, seriedade profissional e a sua dedicação como esposa e mãe me inspiram demais! Você é uma *wonderwoman*!

A Profa. Dra. Patrícia Moreira Freitas, pelo aprendizado e amizade que tive desde a 1ª monitoria na graduação. Muito obrigada pela amizade, pelo acolhimento e pelo ensino. Agradeço por estar sempre disponível a aqueles que querem crescer profissionalmente, por me dar conselhos de vida e carreira em um momento delicado

na minha jornada. Você teve um papel importante para algumas das minhas decisões profissionais mais importantes.

A Profa. Dra. Luciane Hiramatsu Azevedo, pelo ensino e amizade. Obrigada por me acolher e por acolher a todos que têm o desejo de se aprofundar na prática clínica com os lasers.

A Profa Dra Marina Stella Bello Silva por sua ajuda na minha trajetória profissional e por me ensinar tanto sobre o laser, a terapia fotodinâmica, por todos os conselhos e dicas que você me deu durante fases do mestrado!

A Profa. Dra. Karen Muller Ramalho por suas contribuições e sugestões de projeto no início do mestrado.

A Profa. Dra. Carolina Steiner Oliveira Alarcon por todas as suas contribuições e ajuda durante o meu mestrado, especialmente na época de minha qualificação.

A Profa. Dra. Taís Scaramucci, por todo o conhecimento e aprendizado que obtive com você. Pelas suas contribuições e idéias para a elaboração desse trabalho.

A todos os professores do Departamento de Dentística: Adriana Bona Matos, Antonio Alberto de Cara, Eliza Maria Agueda Russo, Glauco Fionarelli Vieira, Luciana Fávaro Francisconi dos Rios, Taís Scaramucci Maria Aparecida A. de C. Luz, Maria Angela Pita Sobral, Margareth Oda, Michel Nicolau Youssef, Miriam Lacalle Turbino, Narciso Garone Neto e Rubens Corte Real de Carvalho. Agradeço a todos pelo ensino e dedicação de vocês para tornar a nossa FOU SP uma instituição de excelência.

A todos os meus colegas de pós-graduação pela amizade e pelas brincadeiras que tornaram o dia a dia da pós-graduação ainda mais leve e agradável. Alana e Tati que me ensinaram tudo sobre a máquina de permeabilidade dentinária. A Bia Togoro, Camilinha, Tais, Raquel e Lívia. Tivemos momentos de risadas durante o mestrado que tornaram aa trajetória mais leve! A Sandrinha Cunha que me ajudou muito no início do mestrado, dando idéias, sugestões e muitos conselhos para a

execução desse trabalho. A Silvia e Alessandra, pelos momentos de aprendizado que tivemos juntas. Meus sinceros agradecimentos a todas vocês!

Ao Christian, Paola e Luciane, meus colegas da equipe CPE!

A todas as funcionárias do LELO: Ana, Miriam, Liliane e Leni. A Liliane por toda ajuda, dedicação e paciência com os alunos. A Leni pela sua paciência, pelos seus sábios conselhos e amizade.

A todos os funcionários da Central Multiusuário da UFABC. Ao técnico Leonardo e Fabiano do campus de Santo André e ao Tanil e Adrian do campus de São Bernardo. Adrian, obrigada pela sua disposição em ajudar e por me ensinar tantas coisas novas sobre a microscopia!

A todos os funcionários do departamento da Dentística: o sr. Aldo, David, Débora, Leandro, Selminha e Soninha, que me ajudaram tanto no nosso laboratório, com documentos e ofícios! A todos os funcionários do serviço de limpeza e segurança da FOUSP, por proporcionarem um espaço seguro e limpo para realizarmos nosso trabalho.

A todos os funcionários do Serviço de Documentação Odontológica da FOUSP. Especial agradecimento a Glauci Fidelis por me ajudar com a formatação desse trabalho. Agradeço também, a Vânia Martins por seu auxílio e colaboração nesse processo.

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS:

Ao Centro de Ciências Naturais e Humanas, Programa de Pós-Graduação em Nanociência e Materiais Avançados da Universidade Federal do ABC.

Ao Departamento de Dentística da FOUSP.

Ao Laboratório Especial de Laser em Odontologia (LELO) – FOUSP, na pessoa do Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo, coordenador.

A Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP), na pessoa do Prof. Dr. Waldyr Jorge, atual diretor da instituição.

A Comissão de Pós-Graduação em Odontologia da FOUSP, na pessoa do Prof. Dr. Edgard Michel Crosato, atual presidente.

A Coordenadoria do Programa de Pós-Graduação em Dentística, na pessoa da Profa. Dra. Adriana Bona Matos, atual coordenadora.

Ao Comitê de Ética em Pesquisa da FOUSP, na pessoa da Profa. Dra. Maria Gabriela Haye Biazevic, atual coordenadora.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de mestrado (134268/2015-6) concedida durante o curso de Pós-Graduação.

“ Mera mudança não é crescimento. Crescimento é a síntese de mudança e continuidade, e onde não há continuidade, não há crescimento. Dificuldades preparam pessoas comuns para destinos extraordinários. ”

C.S. Lewis

RESUMO

Lee, EMR. Análise *in vitro* da morfologia superficial de uma nova formulação de biovidro associado ao laser de Nd:YAG e laser de CO₂ sobre dentina humana. [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2017. Versão Original

Dentre as opções de terapias dessensibilizantes, a proposta mais recente para o tratamento da Hipersensibilidade Dentinária é o uso do biovidro. Esse novo material apresenta a capacidade de promover a formação de hidroxiapatita na superfície da dentina, representando uma união química mais estável e duradoura sobre os túbulos dentinários. Este trabalho comparou o efeito de uma nova formulação de biovidro disperso em ácido fosfórico 30%, associado ao laser de Nd:YAG e ao laser de CO₂ na obliteração de túbulos dentinários expostos. Foram obtidas 96 amostras de dentina humana que foram divididas em 6 grupos experimentais (n=16) e distribuídas como a seguir: G1 - controle negativo (nenhum tratamento adicional); G2 - laser de Nd:YAG; G3 - laser de CO₂; G4 - pasta de biovidro (biovidro + ácido fosfórico 30%); G5 - pasta de biovidro + laser de Nd:YAG; G6 - pasta de biovidro + laser de CO₂. Os grupos G5 e G6 foram irradiados com laser de Nd:YAG e laser de CO₂, respectivamente, após tratamento com a pasta de biovidro disperso em ácido fosfórico. Ao final do experimento, os grupos foram analisados qualitativamente por Espectroscopia de Infravermelho na Transformada de Fourier (FTIR), Difração de Raios X (DRX), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Dispersão de Energia de Raios X (EDS). As análises evidenciaram que a dispersão do biovidro em ácido fosfórico 30% é capaz de formar cristais de hidrogenofosfato de cálcio e, quando a pasta formulada é aplicada sobre a dentina, ocorrem reações químicas com a estrutura dental, formando cristais de monetita. Ao irradiar os cristais formados com laser de Nd:YAG e CO₂, ocorreu a desidratação desses cristais, levando à formação de hidroxiapatita. As imagens de MEV demonstram a formação de precipitados cristalinos e amorfos de dimensões variadas sobre a superfície de dentina e na entrada dos túbulos dentinários em todos os grupos que receberam o tratamento com a formulação de biovidro. O laser de CO₂ foi capaz de promover alterações na morfologia do material formado de maneira ainda mais evidente

especialmente nas dimensões e disposição dos cristais de hidroxiapatita formado sobre a superfície. A análise de EDS evidenciou presença de silício, composto que não está presente naturalmente na estrutura dentária, mas somente na composição do biovidro. Dessa forma, pode-se concluir que a associação do pó de biovidro com ácido fosfórico 30% permitiu a formação de uma camada de cristais na superfície e entrada dos túbulos dentinários, evidenciando que a pasta formulada viabiliza a aplicação e manutenção do biovidro sobre a superfície dentinária. Sua associação com o laser de Nd:YAG e CO₂ parece melhorar a interação desses cristais com a dentina, formando cristais de hidroxiapatita. Nesse estudo, o laser de CO₂ promoveu a melhor distribuição e conformação dos cristais sobre a dentina.

Palavras-chave: Hiperensibilidade dentinária. Laser. Nd:YAG. CO₂. Biovidro. Vidro bioativo. Microscopia eletrônica de varredura. MEV. Energia dispersiva de raios-X. EDS. Espectroscopia no infravermelho de transformada por Fourier. FTIR. Difração de raios-X. DRX.

ABSTRACT

Lee, EMR. In vitro analysis of the surface morphology of a new bioglass formulation associated with Nd: YAG laser and CO₂ laser on human dentin. [dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2017. Original version

Among desensitizing therapies options, the most recent proposal for Dentin Hypersensitivity treatment is the use of bioglass. This new material presents the ability to promote the formation of hydroxyapatite on dentin surface, representing a more stable and lasting chemical bond on dentin tubules. This work compared the effect of a new formulation of bioglass dispersed in 30% phosphoric acid, associated with Nd: YAG laser and CO₂ laser in the obliteration of exposed dentin tubules. 96 human dentin samples were obtained, divided into 6 experimental groups (n = 16) and distributed as follows: G1 - negative control (no additional treatment); G2- Nd: YAG laser; G3 – CO₂ laser; G4 - bioglass paste (bioglass + 30% phosphoric acid); G5 - bioglass paste + Nd: YAG laser; G6 - bioglass paste + CO₂ laser. Groups G5 and G6 were irradiated with Nd:YAG laser and CO₂ laser, respectively, after treatment with the slurry dispersed in phosphoric acid. At the end of the experiment, all groups were qualitatively analyzed by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), X-ray Diffraction (XRD), Scanning Electron Microscopy (SEM) and X-ray Energy Dispersion Spectroscopy (EDS). The analysis showed that the dispersion of bioglass in 30% phosphoric acid forms calcium hydrogen phosphate crystals and when the formulated paste is applied on dentin surface, chemical reactions occur with the dental structure, forming monetite crystals. When irradiating these crystals with Nd: YAG and CO₂ laser, dehydration of these crystals occurred leading to the formation of hydroxyapatite. MEV images demonstrate the formation of crystalline and amorphous precipitates of varying dimensions on the dentin surface and at the entrance of dentinal tubules in all groups receiving treatment with the bioglass formulation. The CO₂ laser was able to promote changes in the morphology of the formed material even more evident especially in the dimension and arrangement of hydroxyapatite crystals formed on the surface. The analysis of EDS showed the presence of silicon, a compound that is not naturally present in the tooth structure,

but only in the bioglass composition. Thus, it can be concluded that the association of bioglass powder with 30% phosphoric acid allowed the formation of a layer of crystals on the surface and its entrance of the dentinal tubules, evidencing that the formulated paste enables the application and maintenance of bioglass on dentin surface. Its association with the Nd:YAG and CO₂ laser seems to improve the interaction of these crystals with dentin, forming hydroxyapatite crystals. In this study, CO₂ laser promoted better crystals distribution and conformation on dentin surface.

Key words: Dentin Hypersensitivity. Laser. Nd:YAG. CO₂. Bioglass. Bioactive glass. Scanning electron microscopy. MEV. Dispersive energy of X-rays. EDS. Fourier transform infrared spectroscopy. FTIR. X-ray diffraction. DRX.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AsGaAl	Arseneto de gálio e alumínio
ATP	Adenosina trifosfato
C	Carbono
Ca ²⁺	Cálcio
CaO	Óxido de cálcio
Ca ₂ P ₂ O ₇	Pirofosfato de cálcio
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	Nitrato de cálcio tetrahidratado
Ca(H ₂ PO ₄) ₂ .H ₂ O	Hidrogenofosfato de cálcio hidratado
Ca(PO ₃)OH.2H ₂ O	Hidroxofosfato de cálcio dihidratado (monetita)
Ca ₅ (PO ₄) ₃ OH	Hidroxiapatita
cm ⁻¹	Número de onda
CO ₂	Dióxido de carbono
Cu	Cobre
DMP-1	Proteínas da Matriz Dentinária 1
DMP-2	Proteínas da Matriz Dentinária 2
DMP-3	Proteínas da Matriz Dentinária 3
DGP	Glicoproteína Dentinária
DPP	Fosforina Dentinária
DRX	Difração de Raios X
DSP	Sialoproteína Dentinária
EDS	Espectroscopia por Dispersão de Energia de Raios X
Er,Cr:YSGG	erbium, chromium: yttrium-scandium-gallium-garnet
Er:YAG	erbium: yttrium-aluminum garnet
Eq	Equação

FOUSP	Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
g	Gramma
H	Hidrogênio
HD	Hipersensibilidade Dentinária
He-Ne	Hélio-neônio
HNO ₃	Ácido nítrico
HPO ₄ ²⁻	Hidrogenofosfato
Hz	Hertz
J/cm ²	Joule(s) por centímetro quadrado
K ⁺	Potássio
kV	Quilovolt(s)
LCNC	Lesão Cervical Não Cariosa
M	Mol
mA	Miliampere
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
Min	Minuto(s)
mJ	Milijoule(s)
ml	Mililitro(s)
mm	Milímetro(s)
mW	Miliwatt(s)
N	Nitrogênio
Na ⁺	Sódio
Na ₂ O	Óxido de sódio
NH ₄ OH	Hidróxido de amônio
Nd:YAG	neodymium-doped yttrium aluminum garnet

Nd:YAP	neodymium-doped yttrium aluminum perovskite
nm	Nanometros
O	Oxigênio
P	Fósforo
P ₂ O ₅	Pentóxido de fósforo
PO ₄ ³⁻	Fosfato
pH	Potencial hidrogeniônico
rpm	Rotações por minuto
s	Segundos
Si	Silício
SiO ₂	Dióxido de silício
Si-OH	Silanol
Si-O-Si	Siloxano
SNC	Sistema Nervoso Central
TEOS	Tetraetil ortossilicato
TEP	Trietilfosfato
UFABC	Universidade Federal do ABC
W	Watt(s)
W/cm ²	Watt(s) por centímetro quadrado
μm	Micrometro

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
λ	lâmbda
°C	graus Celsius
®	marca registrada
$\approx$	aproximadamente
k	número de onda angular
θ	teta
°	grau(s)
x	vezes

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	29
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	31
2.1	Complexo dentina-polpa.....	31
2.2	Hipersensibilidade dentinária (HD)	32
2.3	Perda estrutural e HD	33
2.4	Diagnóstico	36
2.5	Tratamento	36
3	PROPOSIÇÃO.....	45
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	47
4.1	Obtenção e preparo dos dentes	47
4.2	Divisão dos fragmentos e distribuição nos grupos experimentais	48
4.3	Obtenção do biovidro.....	48
4.4	Dispersão do pó de biovidro em ácido fosfórico	49
4.5	Caracterização microestrutural do biovidro e superfície dentinária.....	51
4.5.1	Preparo das amostras para análise de FTIR e DRX	51
4.5.2	Preparo das amostras para análise de MEV e EDS.....	52
5	RESULTADOS	53
5.1	Caracterização do biovidro.....	53
5.2	Caracterização do biovidro disperso em ácido fosfórico 30% (pasta BG).....	57
5.3	Caracterização da dentina (grupo 1).....	59
5.4	Caracterização da dentina irradiada com laser de Nd:YAG (grupo 2) e laser de CO ₂ (grupo 3).....	63
5.5	Caracterização da dentina com pasta BG (grupo 4).....	68
5.6	Caracterização da dentina com pasta BG após irradiação com laser de Nd:YAG (grupo 5) e laser de CO ₂ (grupo 6).....	72
6	DISCUSSÃO.....	79
7	CONCLUSÃO	91
	REFERÊNCIAS	93
	ANEXOS	105

1 INTRODUÇÃO

A odontologia tem conquistado avanços crescentes por meio de pesquisas laboratoriais e clínicas. Hoje, existem inúmeras opções de tratamentos, especialmente, medidas preventivas para que a população consiga preservar seus dentes naturais por mais tempo. Assim, nota-se que a prevalência de cárie tem apresentado um declínio nas três últimas décadas do século XX e no início do século XXI (1). Além disso, as mudanças de hábitos e o aumento na expectativa de vida da população têm auxiliado a manutenção de dentes na cavidade bucal por um período de tempo mais prolongado (2). Esse fato permite que os dentes estejam expostos a desafios mecânicos e ácidos que podem gerar perdas estruturais nos dentes e a consequente formação de lesões não cariosas (3, 4). A exposição dentinária permite que o fluido contido nos túbulos dentinários movimente-se em resposta a estímulos mecânicos e térmicos aplicados sobre a dentina exposta, gerando uma sintomatologia dolorosa, denominada hipersensibilidade dentinária (HD) (5). A HD caracteriza-se como uma dor transitória, aguda e rápida que se origina frente a um estímulo (térmico, mecânico, osmótico e/ou químico) sobre uma superfície de dentina exposta. Essa condição está presente também em superfícies dentárias devido a recessões gengivais, doenças crônicas periodontais devido a mau posicionamento dentário, problemas oclusais e em situações onde há uma combinação desses fatores (6, 7).

A HD tem se tornado cada vez mais frequente e, atualmente, representa uma das maiores queixas de pacientes em consultórios odontológicos (6, 8). Por esse motivo, nota-se a importância de adequadas opções de tratamento para a HD. Os tratamentos disponíveis atuam obliterando a entrada dos túbulos dentinários, impedindo a movimentação do fluido dentinário dentro dos túbulos ou então, bloqueando a ativação neural dos mecano-receptores pulparem ou ainda, ambos simultaneamente resultando em efeito analgésico (9). Esses tratamentos, no entanto, nem sempre são efetivos em todos os pacientes ou podem perder seu efeito a longo prazo, quando expostos a desafios erosivos e ácidos provenientes da escovação diária e alimentos ácidos, pois o poder de obliteração dos túbulos dentinários podem ser facilmente perdidos frente a esses desafios (10, 11) fato que estimula a busca de

novos materiais e tratamentos (12).

Dentre as opções de tratamento disponíveis, pode-se destacar a utilização de lasers de alta e baixa potência. Os últimos promovem a ação analgésica alterando a transmissão nervosa do estímulo doloroso e possivelmente, biomodulando células pulpares, aumentando a produção de dentina terciária, podendo promover indiretamente, uma ação mecânica de dessensibilização. Os lasers de alta potência atuam, essencialmente, obliterando mecanicamente a entrada dos túbulos dentinários, alterando a morfologia de superfície da dentina através do aumento de temperatura. Tanto os lasers de alta como os de baixa potência são utilizados como tratamento para HD.

A proposta mais recente para o tratamento da HD é o uso do biovidro. Esse novo material apresenta a capacidade de promover a formação de hidroxiapatita na superfície da dentina (13-16) além de apresentar biocompatibilidade e induzir a migração, adesão, proliferação e diferenciação celular quando depositados no interior dos túbulos dentinários, onde esta substância entrará em contato direto com o fluido dentinário e estará, então, sujeita à solubilização neste fluido, entrando em contato com as células pulpares. A bioatividade desse material poderia induzir a formação de tecido dentinário responsável pelo vedamento biológico dos túbulos dentinários, promovendo, assim, um tratamento dessensibilizante a longo prazo. Este seria o melhor mecanismo de dessensibilização, já que a dentina formada seria atubular, conseqüentemente, de baixa permeabilidade, que além de dificultar a difusão de agentes nocivos dos túbulos dentinários à polpa dentária, também diminuiria a movimentação do fluido dentinário, minimizando a HD.

O biovidro é um material promissor para a redução da HD a longo prazo. Entretanto, ainda não há um veículo eficaz para carregar e manter esse material sobre a superfície dentinária por tempo suficiente para que ocorra a obliteração dos túbulos dentinários.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Complexo dentina-polpa

A dentina e a polpa são duas estruturas intimamente conectadas desde as suas formações até o desenvolvimento completo do dente, constituindo, assim, o complexo dentina-polpa. Embora sejam histologicamente diferentes, possuem a mesma origem embriológica (17, 18).

A dentina é um tecido conjuntivo especializado, mineralizado, avascular e acelular e apresenta ramificações dos prolongamentos de odontoblastos em sua matriz. Sua composição é de cerca de 70% de material mineral (parte inorgânica) na forma de hidroxiapatita, 18% de material orgânico e 12% de água. A porção inorgânica da dentina corresponde à deposição de cristais de hidroxiapatita sobre as fibras colágenas da matriz orgânica secretada pelos odontoblastos. Além disso, é possível encontrar fosfatos amorfos, carbonatos, sulfatos e cálcio que atuam como reservatório para a formação de cristais de hidroxiapatita (19). A porção orgânica da dentina consiste em 90% de colágeno e em 10% de proteínas de matriz fosforiladas e não fosforiladas, proteoglicanas, metaloproteinases, fatores de crescimento, além de proteínas não colagênicas como a osteonectina, osteopontina, sialoproteína dentinária (DSP), proteínas da matriz dentinária 1, 2, 3 (DMP-1, DMP-2, DMP-3), fosforina dentinária (DPP) e glicoproteína dentinária (DGP) (20, 21) .

A dentina pode ser classificada em 3 tipos: primária, secundária e terciária. A dentina primária é formada até o fechamento do ápice radicular, ou seja, é formada até a erupção do dente na cavidade bucal, enquanto a dentina secundária corresponde à dentina formada após o seu fechamento, ou seja, é secretada de forma lenta ao longo de toda a vida do dente e em volta da polpa. Por outro lado, a dentina terciária pode ser do tipo reacional ou reparadora e é formada devido a diferentes estímulos, frente a uma agressão no interior da câmara pulpar. Apresenta-se desorganizada e mais mineralizada, já que a formação de dentina, nesses casos, ocorre de forma mais rápida como resposta ao estímulo agressor (18, 22).

A dentina reacional e reparadora representa duas estratégias usadas pelo complexo dentina-polpa para responder às injúrias ao elemento dental. A resposta pulpar (reacional ou reparativa) depende do agente agressor e sua intensidade. A dentina terciária do tipo reacional forma-se frente a agentes agressores menos intensos, sendo depositada por odontoblastos sobreviventes com o objetivo de manter o agente agressor longe da polpa. Dessa forma, os túbulos dentinários estarão dispostos de forma desordenada e irregular (23). Já a dentina do tipo reparativa é formada devido estímulos mais intensos e é produzida por células mesenquimais indiferenciadas da polpa, que se diferenciam em células odontoblasto-símile (*odontoblast-like*), uma vez que os odontoblastos já não estão mais presentes. Assim, forma-se uma dentina com poucos túbulos regulares e até mesmo com um aspecto atubular (21, 23).

A polpa, por outro lado, é um tecido conjuntivo frouxo composto por matriz extracelular e células como fibroblastos, odontoblastos, células de defesas e as células mesenquimais indiferenciadas, além de vasos sanguíneos, linfáticos e células nervosas, ocupando a porção central do elemento dentário, da coroa ao ápice. Os odontoblastos se localizam na periferia da polpa, no limite com a pré-dentina, compondo a camada odontoblástica, e seus prolongamentos se estendem para o interior dos túbulos dentinários, compondo a camada subodontoblástica.

2.2 Hipersensibilidade dentinária

A hipersensibilidade dentinária é uma condição clínica decorrente da presença de dentina exposta e túbulos dentinários abertos da polpa até a superfície dentinária exposta em contato com o meio bucal (3, 7, 24). A HD é descrita clinicamente como uma dor intensa, aguda e localizada, não espontânea, que ocorre em resposta a estímulos térmicos, mecânicos, químicos, osmóticos, ou evaporativos em dentes vitais, e que não pode ser atribuída a nenhuma outra patologia dental (3, 9, 25, 26). Essa condição ocorre em 90% dos casos na margem cervical vestibular de dentes superiores e inferiores, sendo os pré-molares os mais afetados (cerca de 30%), podendo afetar qualquer faixa etária, com predileção para a faixa entre os 20 a 50 anos de idade (13, 27) e afeta mais as mulheres do que os homens (7, 28).

Diversas são as teorias para explicar o mecanismo da dor decorrente da exposição dos túbulos dentinários. Contudo, a teoria mais amplamente aceita atualmente é a Teoria hidrodinâmica de Brännström. A partir do prévio conhecimento de que os túbulos dentinários são preenchidos por um fluido, Brännström concluiu que quando a dentina exposta recebe um estímulo, o fluido dentinário se movimenta respeitando o princípio de capilaridade, de maneira que este movimento atinge as terminações nervosas, sendo transmitidas até o Sistema Nervoso Central, causando, conseqüentemente, a sensação dolorosa da HD (29, 30).

Acredita-se que a movimentação do fluido pode ocorrer pelos estímulos de sondagem, frio, jato de ar e soluções hipertônicas, ocorrendo a saída do fluido que preenche o túbulo, sendo o fluido da polpa transportado para fora, ou seja, em direção à superfície da dentina para a reposição do fluido intratubular perdido. Já a sensação dolorosa provocado pelo estímulo quente ocorre no sentido contrário: a movimentação do fluido ocorre em direção à polpa e de forma mais lenta (30).

Já foi demonstrado que a dentina sensível apresenta um maior número de túbulos dentinários com maior diâmetro do que a dentina não sensível (31). Além disso, diversos trabalhos já demonstraram que em dentes com lesões cervicais não cariosas, a dentina apresenta um número de túbulos dentinários expostos por unidade de área até oito vezes maior e diâmetro de túbulo duas vezes mais amplos do que em dentes não sensíveis (32-34). Além disso, já foi constatado que o gênero (feminino), a escovação com força excessiva, o bruxismo e o refluxo gastroesofágico correspondem a importantes fatores de risco para HD (28, 35).

2.3 Perda estrutural e HD

A exposição da dentina pode ocorrer pela perda de esmalte, pela recessão gengival acompanhada ou não de perda óssea e ainda uma combinação entre os mesmos. As recessões gengivais podem ocorrer devido às escovações traumáticas, doenças periodontais agravadas ou não por fatores oclusais, cirurgias de redução de bolsa periodontal e movimentação ortodôntica (36-38).

A recessão gengival consiste na exposição da superfície radicular devido à migração apical da margem gengival e afeta uma proporção significativa da população adulta (39). Sua presença em indivíduos com boa higiene oral sugere que a sua etiologia é complexa e multifatorial (40) e envolve fatores anatômicos e iatrogênicos, podendo estar associado à gengivite e à periodontite (41). A recessão gengival expõe o cimento, que reveste a porção radicular. Uma vez que o cimento é uma estrutura delgada, é removido facilmente, expondo a dentina radicular.

O esmalte dental pode ser desgastado através dos processos de erosão, abrasão, atrição e abfração, levando à formação de lesões não cariosas. Estas lesões compreendem toda perda lenta e irreversível da estrutura dental a partir da superfície externa. Como não há envolvimento bacteriano, não está relacionada à cárie (42). As lesões que acometem o terço cervical, na região da junção amelocementária, podem atingir a região da raiz subjacente e são classificadas como lesão cervical não cariosa (35). As faces mais acometidas são as vestibulares, entretanto as faces linguais/palatinas e proximais também podem ser afetadas, sendo os caninos e pré-molares os dentes mais acometidos (35, 42).

A etiologia das LCNC é, segundo muitos pesquisadores, multifatorial (28, 35, 43). As LCNCs podem ocorrer devido à abrasão, abfração e erosão, mas estudos demonstram que mais de um fator pode estar atuando concomitantemente (35, 42).

A erosão é a perda de tecido dentário provocada pela presença de soluções ácidas de origem não bacteriana, mas que podem ter origem intrínseca ou extrínseca. Os ácidos intrínsecos entram em contato com os elementos dentais devido a situações de vômito e/ou regurgitação. Os casos de vômitos são muito comuns em pacientes com distúrbios alimentares como a bulimia, e as faces palatinas dos dentes anteriores superiores são as mais afetadas, seguida dos dentes posteriores. Em casos de regurgitação, as lesões atingem principalmente, molares inferiores. Já os ácidos de origem extrínseca são provenientes do consumo de alimentos e bebidas ácidas, como frutas ácidas e sucos derivados das mesmas, isotônicos, refrigerantes, alimentos industrializados, bebidas alcoólicas e drogas com baixo pH, como a aspirina, por exemplo e estão fortemente associadas ao surgimento de lesões de erosão (35, 44, 45).

A abrasão é decorrente da ação mecânica de agentes extrínsecos sobre os dentes, como por exemplo, as escovas dentais e os dentífrícios somados à escovação inadvertida que incluem tempo, frequência e força aplicada durante o ato

da escovação pelo paciente. Além disso, alguns hábitos e determinados movimentos repetitivos como a onicofagia, o hábito de morder caneta ou lápis e o contato com próteses parciais removíveis podem induzir a perda estrutural do elemento dental produzindo lesões de abrasão (35, 36).

A lesão do tipo abfração é ocasionada pela concentração de tensões de tração/compressão, geradas pela flexão dos dentes durante movimentos oclusais com carga intensa propiciados pelo contato prematuro, interferências oclusais e bruxismo levando à perda microestrutural. A flexão gera o rompimento de finas camadas dos prismas de esmalte e ocorre ordinariamente na porção cervical dos dentes, onde as forças oclusais estão concentradas (35).

Ainda existem as lesões do tipo atrição, que ocorrem nas superfícies incisais e/ou oclusais dos dentes. Essas lesões ocorrem pelo contato entre as superfícies incisais e oclusais em função (deglutição) e parafunção (bruxismo), iniciando-se pelo esmalte até atingir a dentina (36). Podem apresentar uma grande variedade de formas, podendo atingir as superfícies vestibular, incisal/oclusal, lingual/palatina e proximais (35).

É importante salientar que mais de um fator coopera simultaneamente ou alternadamente para o surgimento dessas lesões. A abfração e a abrasão podem estar associadas na escovação de áreas cervicais com concentração de tensões, assim como a atrição pode estar combinada com a abfração em indivíduos que apresentam tanto apertamento como bruxismo ou ainda a abrasão e a erosão podem estar agregadas em situações em que o indivíduo executa a escovação dental logo após a exposição dos elementos dentais a substâncias de baixo pH, dentre outras associações possíveis (36).

É necessário entender a etiologia das lesões não cariosas e das recessões gengivais para a adequada prevenção e tratamento das mesmas para impedir o surgimento de novas lesões e a progressão de lesões já existentes, além de evitar recidivas e maiores desconfortos (43, 46).

2.4 Diagnóstico

O diagnóstico correto de HD é necessário para o estabelecimento do tratamento adequado, uma vez que há outras condições que apresentam sintomas semelhantes à HD. Dentre algumas, é possível citar restaurações infiltradas ou fraturadas, cárie dental, dentes trincados ou fraturados, inflamação gengival, sensibilidade pós clareamento dental, dentre outras (9, 42). O diagnóstico é realizado por meio de anamnese e exame clínico composto de exame visual e tátil. É importante investigar a história, natureza, intensidade da dor, a presença de hábitos e condições sistêmicas que possam estar relacionadas à doença, ao passo que, no exame clínico, é necessário fazer teste mecânico com sonda exploradora e teste térmico com jato de ar através de seringa triplice (42, 47). É esperado que nos casos positivos de HD, a resposta aos estímulos seja uma dor aguda e de curta duração (47).

2.5 Tratamento

O tratamento adequado para a HD deve ser escolhido de acordo com a extensão da lesão e severidade da dor (37, 47), e seu principal objetivo é promover analgesia e/ou a obliteração dos túbulos dentinários (37, 46). Dentre as formas de tratamento, pode-se citar a utilização de agentes dessensibilizantes, utilização de laser de baixa ou alta potência e cirurgias periodontais. Esses tratamentos têm sido testados clinicamente ao longo dos anos para avaliar a sua eficiência para diminuir ou cessar o desconforto causado pela HD (2, 48, 49).

No passado, muito agentes dessensibilizantes já foram utilizados para o tratamento da HD como nitrato de prata, arsênico, óleo quente, formalina e glicerina (50). É esperado que o agente dessensibilizante apresente uma rápida ação, seja de fácil aplicação, seja incolor, que não altere a cor da estrutura dental e que seja biocompatível, ou seja, não irritante à polpa (51). Os mesmos podem ser classificados como agentes de tamponamento tubular, precipitantes de proteínas e bloqueador da atividade nervosa (12, 52-55). Embora sejam classificados

separadamente, esses agentes podem ser utilizados isoladamente ou em associação uns com os outros com o intuito de aumentar o sucesso do tratamento (9).

Sabe-se que dentre as opções de agentes dessensibilizantes disponíveis, alguns podem ser utilizados não somente pelos dentistas, mas também pelo próprio paciente de forma caseira em seu dia a dia (7), através da utilização de dentifrícios e enxaguatórios bucais que são comercializados em farmácias e supermercados. Esses produtos podem conter como agentes dessensibilizantes fluoreto de sódio, arginina, monofluorofosfatase, amina fluorada, sais de potássio, formaldeído ou baixas concentrações de flúor, e podem auxiliar na redução do desconforto provocado pela HD (37, 56). O tratamento caseiro possui a vantagem de fácil acesso e auto-aplicação, no entanto, ao se comparar com o tratamento de consultório, o efeito do primeiro pode levar semanas para surgir (57), e a principal diferença entre os dois tipos de tratamentos fundamenta-se na eficácia em minimizar ou suspender a dor da HD, sendo os tratamentos de consultório relatados como mais eficientes (52). Além dos compostos citados anteriormente, a literatura relata o efeito positivo de agentes como fluoreto estanhoso, cloreto de estrôncio, oxalato de potássio, fosfato de cálcio, carbonato de cálcio que, juntamente com o fluoreto de sódio já mencionado anteriormente, representam agentes de tamponamento dos túbulos dentinários; alguns agentes promovem a precipitação de proteínas por meio de glutaraldeído, nitrato de prata, cloreto de zinco; ou ainda por agentes adesivos, vernizes fluoretados, cimentos de ionômero de vidro, ácido oxálico, resina composta e, ainda, irradiações com laser de baixa e/ou alta potência (37, 58-60).

Os lasers têm sido estudados como alternativa de tratamento para a HD e podem ser agrupados de acordo com a potência de irradiação em laser de alta ou baixa potência. Os lasers de baixa potência como He-Ne e diodo de arseneto de gálio e alumínio (AsGaAl) representam um tratamento efetivo para reduzir a HD (49, 58-60), pois promovem a mudança no potencial elétrico da membrana celular, ativando as bombas de Na^+ e K^+ , proporcionando assim, o aumento da síntese de Adenosina Trifosfato (ATP). Os eventos descritos são responsáveis pelo efeito analgésico e anti-inflamatório e efeito biomodulador para as células pulpares. Alguns estudos sugerem que esses lasers atuam no bloqueio da despolarização de fibras C aferentes, impedindo que a transmissão neural do estímulo doloroso na polpa atinja o sistema nervoso central (SNC), promovendo, assim, analgesia imediata (38, 61).

Outros estudos apontam o potencial que os lasers de baixa potência apresentam para a obliteração dos túbulos dentinários por meio da biomodulação das células pulpares, através do aumento da atividade metabólica dos odontoblastos, aumentando, assim, a produção de dentina reacional (22, 62).

Aranha et al. (49) realizaram um trabalho clínico com 39 pacientes que receberam diferentes tratamentos para HD. O intuito do trabalho foi comparar quatro agentes dessensibilizantes (Gluma Desensitizer – Heraeus Kulzer, Seal & Protect – Dentsply, Oxa Gel – Art Dent, Flúor Fosfato Acidulado – Dentsply) com a ação de um laser de diodo de baixa potência com comprimento de onda de 660 nm, seguindo os seguintes parâmetros de irradiação 3,8 J/cm², 15 mW, 10 s em aplicação contínua e em contato em 3 pontos cervicais e um apical. Foram realizadas avaliações de dor antes, imediatamente após, depois de 1 semana, em 1, 3 e 6 meses. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os 5 grupos de tratamento e todos os tratamentos testados foram capazes de reduzir a HD. A única diferença encontrada nesse estudo foi relativa à diminuição da dor imediata, sendo o Gluma Desensitizer o mais eficiente.

Enquanto lasers de baixa potência promovem o efeito analgésico diminuindo a transmissão do estímulo nervoso (61), os lasers de alta potência atuam na HD através do calor gerado durante a sua irradiação na superfície dentinária, onde ocorre fusão e ressolidificação (do inglês *melting*), da superfície irradiada ao se utilizar determinados tipos de lasers de alta potência. Esse processo acarreta na diminuição do diâmetro dos túbulos dentinários e seu selamento (49, 63). O primeiro laser usado para o tratamento da HD foi o laser de Nd:YAG (*neodymium: yttrium-aluminum garnet*) por Matsumoto e colaboradores em 1985 (64). A partir de então, outros trabalhos foram realizados para avaliar a eficácia do laser de Nd:YAG como tratamento de HD (25, 63, 65-69), laser de Er:YAG (*erbium: yttrium-aluminum garnet*) e Er,Cr:YSGG (*erbium, chromium: yttrium-scandium-gallium-garnet*) (12, 54, 63, 70), laser de CO₂ (dióxido de carbono) (69, 71) e laser de diodo de alta potência (72). O mecanismo de ação do laser na HD está relacionado ao tipo de laser utilizado. É importante ressaltar que para a adequada indicação dos lasers, os protocolos de irradiação devem garantir a segurança do tratamento em relação ao aumento de temperatura gerado na estrutura dentária e as alterações morfológicas sobre essa superfície.

Os lasers de Er:YAG ($\lambda = 2940 \text{ nm}$) e Er,Cr:YSGG ($\lambda = 2780 \text{ nm}$) atuam sobre a superfície dentária através de um mecanismo de ablação termomecânica. Durante esse processo, a energia irradiada é altamente absorvida pela água presente na subsuperfície, que está na matriz do tecido duro, levando à ocorrência de “micro-explosões” que removem o tecido mineralizado (73). A maior parte da energia é absorvida durante o processo de ablação e, dessa forma, um sistema de irrigação ar/água é importante para evitar ou minimizar danos térmicos para os tecidos irradiados e o aumento de temperatura na câmara pulpar, preservando, assim, a vitalidade do dente irradiado (74, 75). Apesar da alta absorção por água e hidroxiapatita e sua indicação para ablação do tecido dental, os lasers de érbio também podem ser bem indicados para o tratamento da HD com parâmetros adequados (12, 54, 70, 76, 77). Através do mesmo mecanismo, ocorre uma diminuição do fluido dentinário devido à sua evaporação e obliteração parcial dos túbulos dentinários (70).

O laser de CO_2 ($\lambda = 9300 \text{ nm}$, 9600 nm ou 10600 nm), assim como os lasers de érbio, possui alta interação com água e hidroxiapatita, e tem sido indicado principalmente para cirurgias de tecidos moles (78-80) e prevenção de cárie e erosão dental (81-87). Além das indicações anteriores, esse laser também tem sido investigado para o tratamento da HD, evidenciando a redução da permeabilidade dentinária e diminuição dos túbulos dentinários (88, 89).

Em 2011, Romano et al. (71), analisou *in vitro*, os efeitos do laser de CO_2 ($\lambda = 10600 \text{ nm}$) isoladamente e associado a uma pasta de hidróxido de cálcio para o tratamento da HD. A irradiação foi realizada de forma desfocada e com movimentos de varredura no sentido mesio-distal, testando-se diferentes protocolos de irradiação. Ao final do estudo, Romano et al., constatou que os grupos que receberam somente a irradiação do laser apresentaram em suas superfícies, fusão, ressolidificação, trincas e áreas de carbonização, enquanto que os grupos que receberam os mesmos parâmetros de irradiação associados à pasta de hidróxido de cálcio apresentaram túbulos dentinários selados com deposição de material granular sobre a superfície (71). As imagens obtidas por Romano et al., sugerem que a irradiação laser pode prolongar a retenção de hidróxido de cálcio no interior dos túbulos dentinários, elevando a adesão da pasta na superfície subjacente. Nesse mesmo

estudo, foi avaliada a alteração de temperatura durante as irradiações e notou-se que houve um aumento de temperatura de até 5°C. Segundo Zach e Cohen (1965), para que não ocorra ao danos tecido pulpar, o mesmo não deve passar por um aumento de temperatura superior a 5°C (74). Sabe-se que o aumento de temperatura no interior da câmara pulpar está diretamente relacionado à quantidade de energia aplicada e o tempo de exposição.

Já a redução da HD com laser de Nd:YAG ($\lambda = 1064 \text{ nm}$) pode ser explicada por meio de dois mecanismos: ao se comparar a superfície de dentina irradiada à não irradiada, observa-se uma área homogênea, com túbulos dentinários menores em diâmetro e em quantidade (90, 91) devido ao *melting* que altera a morfologia superficial da dentina; o outro mecanismo seria a ação secundária do laser sobre a polpa dental como um laser de baixa potência, quando baixas densidades de energia são empregadas e os lasers de alta potência passam a atuar como lasers de baixa potência promovendo assim, analgesia (49, 58, 71). O mecanismo de ação dos lasers de baixa potência será mais bem elucidados abaixo.

Lan e Liu, em 1996, realizaram um estudo *in vivo* e evidenciaram que a irradiação com laser de Nd:YAG foi eficaz para promover a redução de HD em até 72% ao estímulo mecânico e em até 65% ao estímulo de ar em uma avaliação de controle de 3 meses após o tratamento, sem causar danos à polpa dental (66).

Em 2003, Ciaramicoli et al., realizaram um estudo clínico para avaliar a diminuição da HD após diferentes padrões de irradiações com laser de Nd:YAG em 20 indivíduos que foram distribuídos para os grupos de estudo: um grupo controle em que apenas os fatores etiológicos da HD foram removidos; um grupo que recebeu a irradiação laser em contato e em um único ponto seguindo o protocolo de 1 W, 40 mJ, 25 Hz, 30 s em três aplicações com intervalo de sete dias entre elas; outro grupo recebeu o mesmo protocolo de irradiação mas a mesma ocorreu em movimento de varredura nas direções apical–cervical e mesial–distal; outro grupo recebeu o mesmo protocolo de irradiação associado a ajustes oclusais que eram realizados nos 7 dias anteriores ao tratamento com laser. Foram realizadas avaliações de dor antes, ao final de cada sessão e após 6 meses de tratamento através de estímulo mecânico e de ar. Ao final do estudo, constatou-se que houve uma redução de dor estatisticamente significativa nos grupos que receberam o tratamento com laser quando comparado ao grupo controle. Entretanto, a maior

diferença esteve presente no grupo em que foi realizada uma associação do tratamento laser com os ajustes oclusais (25).

Em 2013, Lopes e Aranha propuseram a associação da irradiação com laser de Nd:YAG e Gluma Desensitizer devido ao fato do laser não promover alívio completo da dor em longo prazo. Foi constatado nesse estudo clínico que a associação dos dois tratamentos apresentou melhores resultados em relação ao uso isolado de cada terapia a longo prazo, uma vez que o Gluma complementaria a obliteração de túbulos que permanecessem abertos mesmo após o processo de fusão e ressolidificação a partir da irradiação laser (67).

Recentemente, uma nova proposta de tratamento tem sido proposta para a HD. O biovidro é um material cerâmico amorfo, podendo ser bioativo ou bioabsorvível de acordo com a sua composição química. O primeiro biovidro foi sintetizado por Hench et al., (92) com o intuito de estimular a formação de tecido ósseo (93), especialmente para melhorar a união entre implante e osso e no preenchimento de defeitos ósseos na área da Ortopedia. De forma semelhante, na odontologia, o uso do biovidro também tem sido estudado na Periodontia e Implantodontia para preenchimento ósseo (94, 95) e para o tratamento da HD, tem sido utilizado em alguns dentifrícios como, por exemplo, o NovaMin® (NovaMin Technology Inc., FL, EUA) e o Sensodyne® Repair & Protect, que utiliza a tecnologia NovaMin® (37).

Com exceção dos vidros bioativos de boratos, todos os demais biovidros são vidros silicatos. O mecanismo de interação dos biovidros com os tecidos biológicos ocorre por meio da clivagem de ligações Si-O-Si (siloxano) presentes na superfície vítrea desses materiais, quando em contato com o fluido corporal. A partir disso, formam-se ligações Si-OH (silanol), que favorecem a nucleação de hidroxiapatita sobre a superfície estruturando uma camada de silanol, sobre a superfície vítrea (92).

Segundo Hench, o processo de bioatividade do biovidro ocorre da seguinte maneira: inicialmente, ocorre a troca de íons de cálcio e sódio do biovidro com prótons do ambiente biológico ao passo que as ligações Si-O-Si da rede tetraédrica são clivadas, ocorre a precipitação de uma camada de fosfato de cálcio amorfa sobre a superfície de silanol, meio em que a hidroxiapatita será nucleada. O processo de nucleação do fosfato de cálcio amorfo em hidroxiapatita é termodinamicamente favorável em condições fisiológicas e é responsável pela

bioatividade deste material. Posteriormente, ocorre a ligação de proteínas, adesão celular, dissolução contínua do biovidro e ligação da camada superficial de hidroxiapatita aos tecidos adjacentes, completando assim, o processo de bioatividade (92, 93, 96).

Os biovidros apresentam diversas formulações como 45S5, 45S2, 55S5, entre outras e a primeira dezena à esquerda do “S” representa o percentual de SiO_2 no composto e o último número, a relação molar entre Ca/P. A composição básica do biovidro mais utilizado na Odontologia é 45% SiO_2 , 24,5% CaO, 24,5% Na_2O e 6% P_2O_5 . Entretanto, há algumas composições que facilitam a cristalização do biovidro durante seu resfriamento após sua fusão e retirada do forno (97). Alguns autores sugerem por outro lado, que a mesma cristalização é capaz de reduzir a bioatividade do material (93, 98). Dessa forma, estudos têm sido desenvolvidos com o intuito de desenvolver composições que não cristalizem ou que apresentem nível de cristalização baixa a fim de evitar a redução da bioatividade destes materiais (99). Nos estudos de Brink (100), constatou-se que biovidros contendo 45 a 59% mol de SiO_2 apresentam bioatividade (99, 100).

Estudos sugerem que o biovidro promove a obliteração e remineralização da dentina tubular (15, 101, 102) e sua composição química confere-lhe um comportamento biocompatível com os tecidos dentais, efeito antibacteriano, baixa citotoxicidade, propriedades osteoindutoras, osteocondutoras (103) e osteogênicas devido aos produtos da dissolução do biovidro, permitindo a migração, proliferação e diferenciação celular (14, 96, 102, 104). Estudos demonstram que a obliteração obtida após a utilização desses materiais é resistente à escovação e aos desafios de desgaste e abrasão. Com isso, esse material poderia ser uma alternativa para o tratamento da HD a longo prazo (15, 105). Alguns dentifrícios comercializados possuem o biovidro em sua composição e apresentam a proposta de promover a obliteração dos túbulos dentinários após a escovação diária (37) sendo uma desvantagem desses produtos, a necessidade de utilização diária para a manutenção do efeito oclusivo.

Da mesma forma, iniciou-se uma busca por um produto para tratamento em consultório e alguns estudos relatam terem testado diferentes veículos para o pó de biovidro, dentre os quais, água destilada (106), saliva humana (15), ácido fosfórico em diferentes concentrações (14, 104, 107, 108) e associação com laser de Nd:YAP

(109) e laser de CO₂ (16). O laser de Nd:YAG já é utilizado no tratamento para HD (64, 67, 90) e atua derretendo e ressolidificando a superfície dentinária irradiada, obliterando os túbulos dentinários. Além disso, foi constatado que o laser de Nd:YAG foi capaz de provocar o selamento de até 4µm do interior dos túbulos dentinários, promovendo assim, uma redução imediata da HD (90). Dessa forma, poder-se-ia levar em consideração, a utilização desse laser para promover a incorporação do biovidro à matriz dentinária (110). Alguns autores também relatam a possibilidade de se utilizar o laser de CO₂ para o tratamento da hipersensibilidade dentinária. A irradiação da superfície dentinária com este laser permite que os túbulos dentinários se estreitem, diminuindo assim, a permeabilidade dentinária (71, 88, 89).

Curtis et al (15) sugerem que esse material deve permanecer sobre a superfície em que é aplicado por um tempo suficiente para que a formação de hidroxiapatita ocorra. Uma vez presente na entrada dos túbulos dentinários, o biovidro promoverá um efeito dessensibilizante imediato através da obliteração mecânica da entrada dos túbulos dentinários e efeito a longo prazo através de seu potencial bioativo, isto é, atuando indiretamente, na formação de dentina terciária. Dessa forma, é interessante que haja um veículo para que o pó de biovidro seja aplicado no consultório odontológico, mantendo-o por tempo suficiente sobre a superfície dentinária exposta de pacientes que procuram tratamento no consultório odontológico (15).

Além do potencial de obliteração dos túbulos dentinários, estudos têm sido feitos para avaliar o comportamento das células da polpa frente a este biomaterial. Kuo et al (104), avaliaram a citotoxicidade da pasta DP-bioglass (biovidro experimental associado ao ácido fosfórico a 30%) sobre as células da polpa dentária humana e verificaram que mesmo após 3 dias de contato com a cultura celular, a pasta experimental apresentou significativa biocompatibilidade (104). Ao se comparar com outros materiais utilizados para o tratamento de HD, como o Gluma® Desensitizer e o SuperSeal®, o biovidro apresentou menor alteração na viabilidade celular (104, 105, 111).

Lopez et al., (112) avaliou a resposta de células tronco frente a dois materiais utilizados para o tratamento da HD: o Gluma® Desensitizer e uma nova formulação de biovidro, associando-os ou não à irradiação com laser de baixa potência e

verificou que o biovidro foi capaz de promover e melhorar a proliferação celular sem interferir na diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas da polpa dentária humana, permitindo a formação de uma quantidade significativa de matriz mineral, enquanto que as substâncias liberadas pelo Gluma®Desensitizer apresentaram efeitos citotóxicos sobre as células. O laser de baixa potência foi capaz de atenuar a citotoxicidade do Gluma e quando o laser foi associado ao biovidro, o mesmo melhorou a proliferação das células mesenquimais indiferenciadas (112).

Elmadjian (113) avaliou diferentes veículos para a aplicação do biovidro testado por Lopez et al. sobre a superfície de dentina com HD. Nesse estudo, foram testados técnicas que correspondem a tratamentos de HD bem estabelecidos pela literatura, tais como o laser de Nd:YAG e o Gluma®Desensitizer. Foi utilizado também, o ácido fosfórico a 30% como outros estudos sugerem (14, 15, 102). Ao final do estudo, constatou-se que, o laser de Nd:YAG e o Gluma, isoladamente, promoveram a oclusão parcial e total de túbulos dentinários, mas a associação do biovidro aos três veículos testados não foi eficiente para promover a obliteração mecânica dos túbulos dentinários expostos (113).

O biovidro apresenta características que justificariam o seu emprego no tratamento da HD. A sua biocompatibilidade, baixa citotoxicidade, a capacidade de promover a obliteração mecânica dos túbulos dentinário, não interferir na diferenciação celular, promover a migração e proliferação celular fazem desse material uma alternativa que favoreceria a formação de dentina terciária que, dentre todas as alternativas de tratamento disponíveis, representa a barreira mais eficaz e duradoura para oclusão tubular.

3 PROPOSIÇÃO

Geral:

Com vistas a novas alternativas de tratamento para a hiperssensibilidade dentinária o objetivo deste estudo *in vitro* foi o de avaliar o efeito de diferentes formas de aplicação de uma formulação de biovidro em uma solução de ácido fosfórico a 30% sobre a estrutura física e química da superfície da dentina humana artificialmente erodida.

Específicas

1. Avaliar a aplicação da dispersão do pó de biovidro em solução de ácido fosfórico com escova de Robinson em baixa rotação;
2. Avaliar a aplicação do pó de biovidro em solução de ácido fosfórico seguida de irradiação com laser de Nd:YAG;
3. Avaliação do pó de biovidro em solução de ácido fosfórico seguida da irradiação com laser de CO₂.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Obtenção e preparo dos dentes

Foram selecionados para este estudo 78 molares humanos íntegros, extraídos por motivos não relacionados à pesquisa, cedidos pelo Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo após aprovação do projeto pelo Comitê de Ética da mesma instituição (Anexo A)

Os dentes receberam raspagem e alisamento radicular com ultrassom e curetas periodontais para a remoção de fibras gengivais, cimento e eventuais cálculos dentários. Em seguida, foi realizado polimento das superfícies raspadas com pedra pomes e água com o auxílio de uma taça de borracha em contra-ângulo de baixa rotação. As coroas dentais foram separadas das raízes e estas foram seccionadas longitudinalmente no sentido vestibulo-lingual/palatino para a obtenção de espécimes de dentina da porção cervical da raiz (1 espécime de cada face mesial e distal) com dimensões de 3 x 3 x 2 mm. Assim, a partir de 78 dentes, foi possível obter 156 amostras de dentina, obtidas com o auxílio de um disco diamantado dupla face em baixa rotação (KG Sorensen – Cotia, SP, Brasil), com exceção da remoção da polpa dentária que foi realizada com auxílio de limas endodônticas. Em seguida, as amostras foram polidas em uma politriz, com tiras de carbetto de silício de granulação de 600, 1200 e 2400 por 30 s cada a uma velocidade de 120 rpm. Entre as trocas dos discos de lixa de polimento, os espécimes foram lavados em ultrassom contendo água deionizada (Digital Ultrasonic Cleaner CD-4820, Kondortech, São Carlos, Brazil) por 5 minutos, para remoção de detritos que pudessem interferir nas etapas seguintes de preparo das amostras e em seguida, foram armazenadas em solução de água destilada sob refrigeração a 4°C, sendo realizadas trocas semanais até o início da fase experimental.

4.2 Divisão dos fragmentos e distribuição nos grupos experimentais

As amostras foram distribuídas aleatoriamente, nos grupos deste estudo como apresentado na tabela 4.1:

Tabela 4.1 - Distribuição dos grupos de estudo

Grupos	Descrição
1	Controle negativo (nenhum tratamento adicional)
2	Laser de Nd:YAG
3	Laser de CO ₂
4	Pasta de biovidro (biovidro + ácido fosfórico)
5	Pasta de biovidro + laser de Nd:YAG
6	Pasta de biovidro + laser de CO ₂

Ao iniciar a fase experimental, as amostras foram lavadas em cuba ultrassônica com água deionizada por 5 min e foram condicionadas com EDTA a 17% (pH 7,4) (Fórmula e Ação, São Paulo, SP, Brazil) por 2 min e em seguida, lavados com água destilada por 30 s para a obtenção de túbulos dentinários abertos, que simulem um substrato dentinário similar àquele de dentes com HD e para a remoção da camada de *smear layer* sobre as superfícies dos espécimes. Já o ácido fosfórico a 30% foi manipulado a partir da solução de ácido fosfórico a 85% (LabSynth, Diadema/SP Brasil) através de sua diluição com água destilada.

4.3 Obtenção do biovidro

Para a síntese do biovidro através do método Sol-Gel, foram utilizados os precursores apresentados na tabela 4. 2.

Tabela 4.2 - Precursores utilizados nas amostras

Precursor	Substância de formação do Vidro
TEOS – Tetraetil Ortossilicato	SiO ₂
TEP Trietilfosfato	P ₂ O ₅
Ca(NO ₃) ₂ . 4H ₂ O – Nitrato de Cálcio Tetrahidratado	CaO

Durante a síntese, a hidrólise e alcoólise do TEOS foi realizada em solução contendo HNO₃ 2M e pH 2,0 para catálise das reações, com agitação constante durante 30min, sendo então, adicionado o TEP à solução e agitado por 20min. Posteriormente, adicionou-se o nitrato de cálcio tetrahidratado seguido de agitação constante por mais 20min. Após a mistura e dissolução de todos os precursores da formulação do vidro bioativo, foi realizado o ajuste de pH da solução para 8,0 com NH₄OH 2M até a condensação e gelificação da mistura. A secagem de todas as amostras foi realizada em liofilizador Operon Freeze Dryer–55°C, e a calcinação das amostras foi realizada à 650°C em forno tipo mufla.

4.4 Dispersão do pó de biovidro em ácido fosfórico

A quantidade de pó utilizada foi pesada com o auxílio de uma balança analítica. Nos grupos G4, G5 e G6, foi utilizada uma pasta obtida a partir da mistura de pó de biovidro e ácido fosfórico 30% na relação pó/líquido de 0,05g/0,1ml para formar a pasta de biovidro/ácido (14, 107). Essa pasta foi aplicada de forma ativa através de uma escova de Robson em baixa rotação durante 15 s e a mesma foi mantida sobre a superfície de dentina por 5 min, sendo lavada posteriormente, com água destilada por 30 s (com exceção dos grupos G5 e G6, que receberam irradiação com laser de Nd:YAG e laser de CO₂, respectivamente, antes de serem

lavados com água destilada).

As amostras dos grupos G2 e G5 foram irradiadas com o laser de Nd:YAG ($\lambda=1064\text{nm}$) (Power LaserTM ST6, Lares Research®, San Clemente, CA- FAPESP 07/55487-0) com sua fibra em contato e perpendicular à superfície dentinária. Os parâmetros que utilizados foram os mesmos de um protocolo já utilizado para o tratamento de Hipersensibilidade Dentinária (114, 115): 1,0 W, 10Hz, 100mJ e $\approx 85 \text{ J/cm}^2$ tempo de irradiação de 15 segundos. Foram realizadas 4 irradiações, em movimento de varredura, no sentido longitudinal e transversal, totalizando assim, 60 segundos de irradiação por amostra. Foram mantidos intervalos de 10 segundos entre as irradiações a fim de obter o relaxamento térmico do tecido. O grupo G5 foi irradiado com Nd: YAG logo após a aplicação da pasta de biovidro. Já os grupos G3 e G6 receberam irradiação com laser de CO₂ ($\lambda = 10600\text{nm}$) (Union Medical Engineering Co., CO₂ laser system, UM L- 30) que emite uma luz guia através de um laser de diodo a 5 mW (emissão na faixa da luz vermelha). As amostras receberam 6 irradiações perpendiculares, durante 5 segundos cada, com intervalos de 10 segundos entre as mesmas, a uma distância de 30 mm, com potência de 1 W e densidade de potência de $125,38 \text{ W/cm}^2$ no modo contínuo.

Dos 156 espécimes adquiridos, 96 foram distribuídos da seguinte forma: 24 espécimes foram utilizados para a análise morfológica por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), 24 para Espectrometria por Dispersão de Energia de Raios X (EDS), 24 amostras foram utilizadas para a análise de Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), 24 amostras, para análise de Difração de Raios X (DRX). As demais amostras foram utilizadas para os testes pilotos desse trabalho.

4.3 Caracterização microestrutural do biovidro e da superfície dentinária

4.3.1 Preparo das amostras para FTIR e DRX

Os padrões de difração de raios X (DRX) foram coletados utilizando um difratômetro D8 Focus (Bruker AXS, WI, USA) e as amostras foram posicionadas em suportes do próprio fabricante. Os parâmetros utilizados foram raios X de energia oriunda de Cu k alpha, corrente de 40kV e corrente de 40 mA, respectivamente. Foram realizadas análises entre $5^\circ < 2\theta < 70^\circ$, com cada passo em um intervalo de 10 s e tamanho de intervalo de $0,02^\circ$. Após a obtenção dos espectros, os padrões de difração foram identificados utilizando o software Match! e a biblioteca de banco de dados PDF-2 da ICDD (International Center for Diffraction Data).

Já para a espectroscopia de infravermelho na transformada de Fourier (FTIR) os espectros de infravermelho foram obtidos utilizando um espectrômetro 610-IR (Varian, Agilent, USA). Foi utilizado o modo de reflexão total atenuada e as amostras foram posicionadas sobre o detector PIKE MIRacle ATR, acoplado ao espectrômetro. A aquisição do espectro de absorbância ocorreu no intervalo de $500 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ utilizando cristal de diamante. Após a obtenção dos espectros, realizou-se a deconvolução das curvas obtidas. Dessa forma, foi calculada a segunda derivada dos espectros, utilizando o software Origin 6.0, para verificação dos pontos de flexão que estão associados a picos. A deconvolução das curvas foi realizada no software Fityk, onde limitou-se as posições dos picos, mantendo a altura e largura dos picos livre. Para otimização final da deconvolução, todos os parâmetros foram estabelecidos de forma livre para melhor correlação do espectro deconvoluído e do espectro experimental.

4.3.2 Preparo das amostras para análise em MEV e EDS

Foram separadas 4 amostras por grupo para cada análise (MEV e EDS) e as mesmas foram imersas individualmente em solução de glutaraldeído 2,5% diluído em solução cacodilato a 0,1 M por 24h. Ao final desse tempo, elas foram lavadas com solução tampão cacodilato 0,05 M e pH 7,4 em três banhos consecutivos de 10 min cada em agitador de Kline (TS 2000A VDRL SHAKER). Em seguida, as amostras passaram pelo processo de desidratação através de uma sequência de soluções de etanol em concentrações crescentes: álcool 30%, 50%, 70%, 80%, 90% e 95% por 5 min e álcool absoluto por 20min (duas imersões de 10min). Para secagem dos espécimes foi utilizado hexadimetil disilazona (HMDS – Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) por 10min em capela com exaustor.

Após o preparo, os espécimes a serem analisado em MEV (FEI QUANTA 250) receberam recobrimento com pó de ouro enquanto que as amostras a receberem análise EDS (JSM 6010 LA Jeol) foram recobertas com pó de carbono.

5 RESULTADOS

Difração de raios X (DRX), espectroscopia de infravermelho na transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e energia dispersiva de raios X (EDS)

5.1 Caracterização do Biovidro

A figura 5.1 apresenta o difratograma de raios X do biovidro. Nota-se um padrão de difração predominantemente amorfo, caracterizado principalmente, pela ausência de picos relacionados aos planos de difração cristalinos. Observou-se um padrão de difração majoritariamente amorfo, caracterizado, principalmente, por largas bandas em vez de picos bem definidos. Apesar do caráter amorfo, foi observado alguns picos, que foram identificados como a fase pirofosfato de cálcio ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$).

Figura 5.1 – Difratograma do biovidro

Os espectros de FTIR estão apresentados na figura 5.2, onde é possível observar a curva obtida experimentalmente e a sua deconvolução a fim de identificar todas as vibrações dos grupos funcionais do biovidro. Foram identificadas vibrações nos números de onda de 800 (Si_2O estrutural), 874 (Q^0), 925 (Q^1), 960 (Q^2), 990 (SiO_4), 1030 (P-O-P vítreo), 1060 (Si-O-Ca), 1135 (Q^3) e 1210 cm^{-1} (Q^4). Os picos em 800, 990 e 1030 são vibrações que estão relacionadas ao tipo de ligações dos formadores de rede vítrea e são ligações que pertencem à estrutura tridimensional da rede vítrea. Observou-se que a rede vítrea não tem apenas tetraedros de silício como formadores de rede vítrea, mas também tetraedros de fósforo devido à presença de ligações P-O-P observadas, que também são observadas em vidros fosfatos.

Por outro lado, os picos em 874, 925, 960, 1135 e 1210 cm^{-1} refletem o grau de conectividade da rede vítrea, pois estão associados a átomos de silício ligados a oxigênio ponte e indicam quantos oxigênios pontes estão ligados aos tetraedros de silício (0, 1, 2, 3 e 4, respectivamente). O pico de maior intensidade em 1060 cm^{-1} é usualmente associado às ligações de silicatos de metais. Contudo, levando-se em consideração que o único modificador de rede nestes vidros é o cálcio, associamos esta ligação ao Si-O-Ca, isto é, um oxigênio não ponte ligado a um átomo de cálcio. Desta forma, é razoável que este pico seja o de maior intensidade, pois a maior parte dos oxigênios não ponte estão ligados a átomos de cálcio (116).

Figura 5.2 – Espectro de infravermelho e espectro deconvoluído do biovidro

Na figura 5.3 estão apresentadas as micrografias dos biovidros obtidas por microscopia eletrônica de varredura. De forma geral, observa-se que os pós dos vidros são aglomerados e que são compostos por partículas de vidros menores próximas à escala nanométrica. A aglomeração dos vidros é um efeito esperado, uma vez que os mesmos apresentam dimensões de escala nanométrica. Nesta escala, há maior densidade de elétrons na superfície das partículas, logo a aglomeração das partículas diminui as cargas superficiais destes materiais, minimizando a sua energia de superfície (111).

Figura 5.3 – Micrografias eletrônicas de varredura do pó de biovidro obtido após síntese: (A) aumento 741x; (B) aumento 1503x; (C) aumento 3005x

5.2 Caracterização do biovidro disperso em ácido fosfórico 30% (pasta BG)

A caracterização dos vidros dispersados em ácido fosfórico foi realizada por DRX e FTIR. Os resultados de difração de raios X (Figura 5.4) indicam que quando os vidros são solubilizados em ácido fosfórico, há a formação de uma fase cristalina de $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. A formação desta fase cristalina deve-se à reação entre fosfatos provenientes do ácido fosfórico e do próprio vidro e íons de cálcio lixiviados da rede vítrea. Isso será melhor discutido posteriormente na seção Discussão.

Figura 5.4 – Difratoograma de biovidro disperso em ácido fosfórico

A figura 5.5 apresenta o espectrograma de infravermelho dos biovidros dispersos em ácido fosfórico. Também foi realizado uma deconvolução do espectro a fim de identificar as contribuições associadas ao vidro e as contribuições associadas à fase cristalina de hidrogenofosfato de cálcio hidratado. Em relação às contribuições das vibrações dos grupos funcionais do biovidro no espectro obtido,

observou-se as seguintes ligações: anéis de Si (736 cm^{-1}), SiO_2 estrutural (800 cm^{-1}), Q^0 (865 cm^{-1}), Q^1 (912 cm^{-1}), Q^2 (966 cm^{-1}), Si-O-Ca (1077 cm^{-1}), Q^3 (1158 cm^{-1}), Q^4 (1227 cm^{-1}). As mesmas considerações sobre o significado de cada grupo funcional na estrutura vítrea já comentado para o biovidro (no subitem 5.1) se estende para estes grupos funcionais já observados. Ressalta-se que não foi detectada a ligação P-O-P associada ao fósforo estrutural da rede vítrea e que pode estar associada a uma possível solubilização destas ligações na presença do ácido fosfórico. Em relação às ligações associadas à fase cristalina de hidrogenofosfato de cálcio hidratado, foram observados os seguintes grupos funcionais: PO_4^{3-} (565 , 578 e 955 cm^{-1}) e HPO_4^{2-} (889 cm^{-1}) (116, 117).

Figura 5.5 – Espectro de infravermelho de biovidro disperso em ácido fosfórico

5.3 Caracterização da dentina (grupo 1)

Após o preparo das amostras de dentina, com os túbulos dentinários já expostos, as mesmas foram caracterizadas por DRX, FTIR e MEV. Os resultados de DRX (Figura 5.6) indicam que a dentina tem um caráter majoritariamente amorfo, apresentando uma pequena cristalização associada a cristais de hidroxiapatita. Uma vez que a dentina é composta por cristais de hidroxiapatita dispersos em uma matriz de colágeno, os resultados apresentam-se coerentes e consonantes com a literatura.

Figura 5.6 – Difratoograma da superfície de dentina com túbulos dentinários expostos

O espectro de infravermelho obtido da dentina complementa os resultados de difração de raios X. Na figura 5.7 é possível observar as contribuições de grupos funcionais inorgânicos e grupos funcionais orgânicos. Os grupos funcionais inorgânicos são resultados da interação da radiação no comprimento de onda do infravermelho com os cristais de hidroxiapatita da dentina, enquanto que os grupos

funcionais orgânicos são interações da radiação no comprimento de onda do infravermelho com os componentes orgânicos (colágeno e proteínas) da dentina. Os grupos funcionais orgânicos observados foram ligações de colágeno (1190 cm^{-1}), N-H e C-H associados a ligações amida (1407 e 1441 cm^{-1}), amida II (1548 cm^{-1}) e amida I (1638 e 1658 cm^{-1}). Uma ligação de PO_2^- em 1241 cm^{-1} também foi observados na região que, didaticamente, denominamos como região de grupos funcionais orgânicos, porém este grupo provavelmente está associado a grupos funcionais da dentina (118). A região orgânica não será explorada neste trabalho, pois, quando os biovidros interagem com a dentina, as bandas de água dos biovidros em 1645 cm^{-1} mascaram às bandas de grupos orgânicos, não sendo possível realizar análises mais detalhadas.

Figura 5.7 - Espectro de infravermelho da superfície da dentina após a exposição dos túbulos dentinários. Tanto os grupos funcionais inorgânicos quanto os grupos funcionais orgânicos são observados e estão associados aos cristais de hidroxiapatita e às fibras de colágeno, respectivamente

Uma vez que os grupos funcionais inorgânicos da dentina se sobrepõem aos grupos funcionais do biovidro, utilizou-se a deconvolução do espectro para identificar as contribuições de cada grupo funcional para posterior comparação com os demais grupos experimentais. O espectro de infravermelho deconvoluído pode ser observado na figura 5.8. Foram identificados os seguintes grupos funcionais: C=O (870 cm^{-1}) e PO_4^{-3} (956 , 1005 e 1095 cm^{-1}).

Figura 5.8 – Espectro de infravermelho da região de grupos funcionais inorgânicos da superfície da dentina após exposição dos túbulos dentinários

Foram realizadas eletromicrografias de varredura de amostras que não foram imersas em solução de EDTA 17% e em amostras que foram imersas por 2 min na solução a fim de fazer a validação da simulação de HD nas amostras de dentina (Figura 5.9). Notou-se que a imersão das amostras de dentina em solução de EDTA 17% foi eficaz para promover a abertura dos túbulos dentinários e total remoção de

smear layer. Esses resultados confirmam que a metodologia utilizada para a abertura dos túbulos dentinários foi adequada. Já a figura 5.10 apresenta o espectro de EDS realizado sobre a superfície da amostra de dentina sem *smear layer*. Observar os picos de Ca, P, O e C em concentrações elevadas. O pico de C está relacionado com a técnica utilizada para o preparo das amostras com cobertura de carbono. A presença de Ca, P e O evidenciam os principais elementos que formam a estrutura dentária.

Figura 5.9 - (A) amostra com presença de *smear layer* (B) amostra apresentando túbulos dentinários patentes após imersão em EDTA 17% por 2 min. Aumentos de 8000x

Figura 5.10 – Observar os picos de Ca, P, O e C

5.4 Caracterização da dentina irradiada com laser de Nd:YAG (grupo 2) e laser de CO₂ (grupo 3)

A incidência de lasers sobre a superfície da dentina pode levar a mudanças estruturais devido à mudança de fase da fase inorgânica ou degradação do colágeno da fase orgânica. Enquanto as alterações da fase inorgânica podem ser observadas por meio da difração de raios X, as alterações da fase orgânica podem ser melhor analisadas por FTIR. Os resultados de raios X para os lasers de Nd:YAG (Figura 5.11) e CO₂ (Figura 5.12) indicam que não houve alterações estruturais, uma vez que os padrões de difração obtidos para a superfície da dentina irradiada com laser de Nd:YAG ou CO₂ é similar ao da dentina sem tratamento do laser. Os resultados de FTIR confirmam que não houve degradação da fase orgânica, uma vez que todas as bandas associadas às ligações do colágeno (C-H, N-H, amida I e amida II) foram identificadas, não havendo mudanças significativas (figura 5.13).

Figura 5.11 - Difratoograma das amostras de dentina após a incidência de laser Nd:YAG

Figura 5.12 - Difratoograma das amostras de dentina após a incidência de laser CO₂

Figura 5.13 - Espectro de infravermelho da superfície da dentina após irradiação dos lasers de Nd:YAG e CO₂. Tanto os grupos funcionais inorgânicos quanto os grupos funcionais orgânicos são observados e estão associados aos cristais de hidroxiapatita e às fibras de colágeno, respectivamente

As deconvoluções dos espectros de FTIR para as amostras da dentina irradiadas com os lasers de Nd:YAG (Figura 5.14) e CO₂ (Figura 5.15) confirmam, novamente, que não houve alterações estruturais na fase inorgânica.

Figura 5.14 - Espectro de infravermelho da região de grupos funcionais inorgânicos da superfície da dentina após irradiação com laser de Nd:YAG

Figura 5.15 - Espectro de infravermelho da região de grupos funcionais inorgânicos da superfície da dentina após irradiação com laser de CO₂

Em relação às micrografias eletrônicas obtidas para os grupo 2 (laser de Nd:YAG) e grupo 3 (laser de CO₂) (Figuras 5.16 e 5.17, respectivamente), observou-se a presença de túbulos dentinários patentes e também, túbulos parcialmente e totalmente obliterados nas amostras irradiadas com laser de Nd:YAG. As amostras do grupo 3 apresentaram alterações morfológicas significativas após irradiação com laser de CO₂. Foi possível notar regiões onde houve uma superexposição à irradiação laser, provocando intensa fusão e ressolidificação da dentina além de trincas e porosidades extensas. Nas demais áreas, foi possível observar um padrão com alterações mais brandas, sendo possível observar a formação de pequenas trincas e porosidades na dentina inter e peritubular.

Uma vez que a potência do laser utilizado não foi capaz de realizar mudanças significativas na fase orgânica das amostras, acredita-se que estas alterações sejam devido à desidratação da fase cristalina de hidroxiapatita, fase hidratada de fosfato de cálcio. Uma desidratação parcial da dentina poderia levar à formação de compostos de fosfato de cálcio menos hidratados ou à uma hidroxiapatita não estequiométrica, justificando a ausência de alterações significativas na fase inorgânica.

Figura 5.16 – Grupo 2 (laser de Nd:YAG) – imagens representativa do grupo irradiado com laser de Nd:YAG. Presença de túbulos dentinários fechados, parcialmente fechados e abertos. (A) aumento de 8.000X (B) aumento de 4.000X

Figura 5.17 – Grupo 3 (laser de CO_2) – imagens representativas do grupo irradiado com laser de CO_2 . Observa-se intensa fusão, ressolidificação, áreas de carbonização, porosidades e trincas. (A,B) aumento de 4.000X – intensa fusão, ressolidificação e carbonização (C) aumento de 8.000X (D) aumento de 4.000X – presença de fusão, porosidades e trincas

5.5 Caracterização da dentina com pasta BG (grupo 4)

A fim de observar a distribuição dos biovidros (já dispersos em ácido fosfórico) sobre a superfície da dentina, foram utilizadas as técnicas de DRX, FTIR, MEV e EDS para verificar alterações físico-químicas da superfície da dentina e observar se os biovidros estavam obliterando os túbulos dentinários.

Os resultados de DRX sugerem que há uma interação dos biovidros dispersos em ácido fosfórico com a hidroxiapatita da dentina resultando na formação de novas fases cristalinas na superfície da dentina. A partir dos padrões de difração desta nova fase cristalina (Figura 5.18), a mesma foi identificada como hidroxofosfato de cálcio hidratada (monetita) ($\text{Ca}(\text{PO}_3)(\text{OH}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). A confirmação de que houve uma reação entre os biovidros dispersos em ácido fosfórico e a dentina foi baseada na comparação com os padrões de difração da dentina, do biovidro, do biovidro disperso em ácido fosfórico e na dentina.

Figura 5.18 – Difratoograma da superfície da dentina contendo biovidro disperso em ácido fosfórico e comparação com os difratogramas da dentina, do biovidro e do biovidro disperso em ácido fosfórico

O espectro de infravermelho das amostras de dentina contendo biovidros disperso em ácido fosfórico, bem como a deconvolução do mesmo, pode ser observada na figura 5.19. Foram observados picos associados ao biovidro, tais como SiO_2 estrutural (800 cm^{-1}), SiO_4 (989 cm^{-1}), Q^0 (847 cm^{-1}), Q^3 (1125 cm^{-1}), Q^4 (1200 cm^{-1}) e Si-O-Ca (1060 cm^{-1}); grupos funcionais associados à dentina: PO_4 (1005 cm^{-1}) e P-O-P (906 cm^{-1}); e grupos funcionais que podem pertencer à ambos em 875 cm^{-1} (C=O e Q_0) e 955 cm^{-1} (PO_4^{-3}).

Figura 5.19 – Espectro de infravermelho da superfície da dentina contendo biovidros dispersos em ácido fosfórico

A figura 5.20 apresenta as eletromicrografias eletrônicas de varredura do grupo 4 cujas amostras correspondem aos espécimes de dentina recobertos por pasta de biovidro, ou seja, biovidro disperso em ácido fosfórico 30%. Foi possível observar a formação de extensos precipitados com bordos bem definidos, com geometria retangular e aspecto liso (figura 5.20 A). Em regiões onde houve menor formação de precipitados, notou-se que os mesmos apresentavam tamanhos reduzidos na entrada dos túbulos, ora obliterando-os totalmente, ora parcialmente (Figura 5.20 B, C e D).

Já a figura 5.21 apresenta o espectro de EDS realizado sobre a superfície da amostra. É possível observar os picos de Ca, P, Si, O e C em concentrações elevadas. O pico de C está relacionado com a técnica utilizada para o preparo das

amostras com cobertura de carbono. Ca, P e O são elementos presentes naturalmente na estrutura dentária, contudo, a presença de Ca, P podem sugerir também, a formação de fases do fosfato de cálcio (nesse caso, a monetita), como já foi identificado nas análises de FTIR e DRX. Já a formação de picos Si evidencia a presença de biovidro na amostra analisada.

Figura 5.20 – (A) Imagem representativa de região onde ocorreu a formação de precipitados em maiores dimensões e quantidade (aumento de 2000x). (B) Precipitados de tamanho reduzido na entrada dos túbulos dentinários (aumento de 8000x). (C) e (D) Precipitação de partículas menores no interior dos túbulos dentinários; presença de túbulos total e parcialmente obliterados além de túbulos que permaneceram abertos (aumentos de 4000x e 8000x, respectivamente)

Figura 5.21 – Observar os picos de Ca, P, Si, O e C

5.6 Caracterização da dentina com pasta BG após irradiação com laser de Nd:YAG (grupo 5) e laser de CO₂ (grupo 6)

A incidência de laser sobre a dentina pode causar alterações estruturais tanto das partículas de hidroxiapatita quanto das fibras de colágeno. Em relação às partículas de hidroxiapatita, podem ocorrer mudanças de fases dependendo dos parâmetros de irradiação do laser, enquanto que em relação à fase orgânica, pode ocorrer desnaturação de proteínas e degradação das fibras colágenas. A DRX foi realizada a fim de detectar alterações estruturais da fase inorgânica, já a FTIR para detecção das alterações das fases inorgânicas e orgânicas e a MEV para confirmação de possíveis alterações morfológicas da dentina.

Os resultados de DRX (Figuras 5.22 e 5.23) sugerem que há uma ressolidificação da dentina devido a incidência tanto laser de Nd:YAG quanto do laser de CO₂ e que, provavelmente, durante esta ressolidificação, a fase de hidroxofosfato de cálcio formada sobre a superfície da dentina (devido a interação do biovidro e ácido fosfórico sobre a dentina) é solubilizada na fase inorgânica da dentina, pois não há indícios de padrões de difração na superfície da mesma, senão os mesmos picos largos observados nas amostras de dentina sem interação com o biovidro ou com o laser.

Figura 5.22 – Difrátograma das amostras de dentina contendo biovidros dispersos em ácido fosfórico e após a incidência de laser Nd:YAG

Figura 5.23 - Difrátograma das amostras de dentina contendo biovidros dispersos em ácido fosfórico e após a incidência de laser de CO_2

Em relação aos espectros de FTIR (Figuras 5.24 e 5.25), para ambos os lasers foi possível observar picos associados ao biovidro e à dentina. Grupos funcionais associados aos biovidros, tais como SiO_2 estrutural (800 cm^{-1}), SiO_4 (989 cm^{-1}), Q^0 (847 cm^{-1}), Q^3 (1125 cm^{-1}), Q^4 (1200 cm^{-1}) e Si-O-Ca (1060 cm^{-1}) foram

identificados nas amostras irradiadas por NdYAG e por CO₂. Grupos funcionais em 875 cm⁻¹ (C=O e Q₀) e 955 cm⁻¹ (PO₄³⁻) podem pertencer à dentina ou ao biovidro, pois são picos que se sobrepõem ou está presente na dentina e no biovidro, como o grupo fosfato. Picos em 900-905 cm⁻¹ (P-O-P) e 1008-1009 (PO₄³⁻) pertencem à dentina e foram também observados após a incidência de ambos os lasers, porém após a irradiação com laser de CO₂, foi possível observar um pico em 1092 cm⁻¹, podendo ser associado, da mesma forma, ao grupo fosfato (PO₄³⁻) da dentina. Em geral, não houveram mudanças significativas em comparação com o espectro da dentina contendo biovidro disperso em ácido fosfórico sem irradiação laser.

Figura 5.24 – Espectro de infravermelho da superfície da dentina contendo biovidro disperso em ácido fosfórico após incidência do laser de Nd:YAG

Figura 5.26 - Formação de extensos precipitados com predominância de geometria retangular, mas com bordos não definidos e aspecto rugoso (A) e precipitados de tamanho reduzidos formando uma camada uniforme e homogênea sobre a superfície dentinária (B). (C) aumento de 4.000X (D) aumento de 8.000X – região com menor depósito de biovidro. Presença de túbulos abertos e também, preenchidos com material amorfo

Figura 5.27 – Espectro de EDS. Observar os picos de Ca, P, Si, O e C

A partir da análise de EDS do grupo 5 (figura 5.27), podemos observar que houve a formação de picos de Ca, P, Si, O e C. Como mencionado nas seções anteriores, a presença marcante de C reflete a forma como as amostras foram preparadas para a análise de EDS. Ca, P e O são elementos presentes na estrutura dentária, contudo, a presença desses elementos sugere a formação de fases de fosfato de cálcio (nesse caso, identificado como hidroxiapatita através das análises de FTIR e DRX).

O grupo 6 apresentou a formação de precipitados afilados, lembrando o aspecto de agulhas e de menor dimensão em relação aos demais grupos que receberam o biovidro disperso em ácido fosfórico 30% (Figura 5.28 A e B). Esse grupo apresentou um padrão de recobrimento homogêneo, composto por partículas menores cobrindo toda a superfície das amostras (Figura 5.28 C e D).

A figura 5.29 apresenta os dados obtidos pela análise EDS do grupo 6. É possível observar picos de Ca, P, Si, O e C, sem alterações importantes em relação ao grupo 5.

Figura 28 – (A) Formação de precipitados sem bordas bem definidas, com formato afilado e de menor dimensão, semelhante a agulhas. (B) Região central apresenta a formação de uma aglomeração de precipitado. (C) aumento de 4.000X (D) aumento de 2.000X – (C) e (D) demonstram regiões que não apresentam aglomeração de precipitados. Precipitados em partículas nanométricas cobrindo a superfície dentinária de forma homogênea

Figura 5.29 - Espectro de EDS. Observar os picos de Ca, P, Si, O e C

6 DISCUSSÃO

Como mencionado na revisão de literatura desse trabalho, a HD é uma condição clínica cada vez mais presente na população e as lesões não cariosas estão cada vez mais presentes na cavidade oral de indivíduos de praticamente todas as faixas etárias. Dessa forma, a queixa dos pacientes com relação à HD também aumentou nas últimas décadas, que por sua vez, tem direcionado as pesquisas científicas para a elaboração de alternativas de tratamento. Desde tratamentos de uso doméstico, como dentifrícios e enxaguatórios bucais até a elaboração de protocolos de irradiação de lasers de alta e baixa intensidade no consultório odontológico têm sido estudados para promover um tratamento eficaz para essa condição clínica. Os tratamentos disponíveis visam promover efeito analgésico: 1 - alterando o bloqueio da transmissão nervosa (seja alterando a polaridade da membrana de células nervosas, tornando-as menos responsivas aos estímulos, seja bloqueando a despolarização de fibras C aferentes) ou 2 - obliterando mecanicamente a entrada dos túbulos dentinários, impedindo a movimentação do fluido dentinário contido nesses túbulos. Contudo, nenhum tratamento disponível atualmente é totalmente eficaz em longo prazo.

Alguns autores sugerem ainda que a irradiação laser em baixa intensidade, devido à sua capacidade de promover fotobiomodulação, aumentaria o metabolismo da atividade celular, mais especificamente, os odontoblastos. Essa atividade levaria ao aumento no depósito de dentina terciária pelos odontoblastos, promovendo uma obliteração dos túbulos dentinários a partir da região pulpar em direção à entrada dos mesmos, ou seja, “de dentro para fora” (8, 22, 62)

Os biovidros têm sido estudados como possibilidade para o manejo da HD devido ao seu potencial de bioatividade (14, 101, 104, 107) e são biomateriais promissores para uma Odontologia Regenerativa. Além da biocompatibilidade e capacidade de induzir a migração, proliferação e diferenciação celular, também promovem a oclusão tubular (101, 105, 107). Esse trabalho testou um biovidro desenvolvido pela UFABC, tendo sido testada primariamente por Lopez (112) que avaliou a citotoxicidade do biovidro em cultura celular. O estudo constatou que o material desenvolvido, além de ser biocompatível, não interfere na diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas da polpa dentária humana e que a associação

com a laser fototerapia promove a melhora na diferenciação das mesmas células ao passo que as substâncias liberadas pelo agente dessensibilizante Gluma® Desensitizer são citotóxicas, sendo que a citotoxicidade é atenuada a longo prazo pela laser fototerapia (112). Com os efeitos biológicos positivos do biovidro, Elmadjian (113) realizou um trabalho *in vitro* para testar diferentes veículos para o pó do biomaterial a fim de viabilizar a aplicação desse material em futuros estudos *in vivo*. Foram testados a associação pó de biovidro (BG) e ácido fosfórico 30%; pó de BG e laser de Nd:YAG; pó de BG e Gluma® através de aplicação com pincel descartável não sendo possível constatar obliteração de túbulos dentinários em nenhuma das associações anteriores (113).

Devido ao grande potencial desse biomaterial no manejo da HD, o atual trabalho foi conduzido com o propósito de investigar outras formas de aplicação do pó de biovidro desenvolvido. A partir da revisão de literatura realizada para o trabalho, decidiu-se associar o pó de biovidro ao ácido fosfórico 30%. Essa associação foi proposta por alguns autores (102, 104, 105, 107, 108) para formar uma pasta que pudesse, não somente viabilizar a aplicação do vidro bioativo sobre a dentina, mas também, promover uma maior interação entre o material e o substrato dentinário. No primeiro estudo piloto desse trabalho, constatou-se que a aplicação ativa do material com pincel descartável (ou seja, a aplicação constante com movimento de fricção) por 1 minuto não era suficiente para a manutenção do material na superfície após lavagem com água. Por esse motivo, optou-se por realizar a aplicação da pasta de biovidro com escova de Robson e realizar a lavagem com água destilada após 5 minutos. A partir dos resultados apresentados nesse trabalho, observou-se que o método de aplicação permitiu a manutenção do material sobre a superfície após a sua lavagem com água destilada.

Esse estudo analisou de forma qualitativa, a alteração de morfologia de superfície da dentina após o tratamento com a pasta de biovidro associado ou não a dois protocolos de irradiação com laser de alta potência. As imagens em microscopia eletrônica de varredura revelam que a formulação de biovidro testada nesse estudo, associada ao ácido fosfórico a 30% foi capaz de produzir precipitados que ora formavam aglomerados de grandes dimensões, ora formavam uma camada homogênea e regular sobre toda a superfície analisada. Todos os grupos que receberam o tratamento com biovidro apresentaram esse padrão de formação. Contudo, o grupo que recebeu irradiação com laser de CO₂ apresentou

aglomerações de menor tamanho, sendo possível visualizar partículas de dimensões bem menores do que as formadas no grupo que recebeu somente o tratamento com a pasta (grupo 4) e no grupo que recebeu a pasta associada à irradiação com laser de Nd:YAG em seguida (grupo 5). Além disso, as amostras se mostraram mais uniformemente recobertas pelo novo material no grupo 6 (amostras irradiadas com laser de CO₂). A análise qualitativa de energia dispersiva de raios X realizada nesse trabalho revelou que o biovidro disperso em ácido fosfórico 30% sobre a superfície de dentina promoveu a formação de um material com picos de C, O, P, Si e Ca em concentrações significativas. O pico do carbono corresponde à técnica de recobrimento e preparo das amostras para a análise, enquanto a presença de Ca, P, O sugerem a deposição de fosfato de cálcio sobre as superfícies avaliadas e a presença de Si evidencia que o material é proveniente das partículas de biovidro que foram testadas nesse trabalho.

Como observado nos resultados obtidos, uma série de mudanças estruturais são observadas durante as diferentes etapas do processamento do biovidro com ácido fosfórico, sua aplicação na dentina e após a irradiação com os dois lasers testados nesse trabalho. É necessário, no entanto, compreender a estrutura do vidro obtido a fim de compreender as reações obtidas. O silício e o fósforo atuam como formadores de rede na estrutura vítrea, isto é, são os elementos que formam a estrutura básica de um material vítreo. Para que um formado de rede vítrea seja denominado como tal, é necessário que o mesmo forme reações do tipo X-O-X, onde X é um elemento qualquer da tabela periódica que seja capaz de formar 3 ou 4 ligações químicas covalentes. Subsequentes reações do tipo X-O-X formam uma longa cadeia de elementos X intercalados por oxigênio, de acordo com a Eq. 1.:

Uma vez que esta cadeia não apresenta periodicidade de estrutura tridimensional, o material pode ser considerado como amorfo. Os átomos de silício e fósforo são capazes de formar ligações do tipo Si-O-Si e P-O-P e até mesmo Si-O-P. O oxigênio situado entre os átomos formadores de rede é denominado oxigênio ponte, indicados em negrito na Eq. 1.

O cálcio, por outro lado, atua como modificador de rede, isto é, ao invés do cálcio continuar a estrutura X-O-X, ele forma estruturas do tipo X-O-Ca. Devido ao fato do cálcio ser bivalente, ele apenas pode formar duas ligações químicas iônicas e, portanto, não é capaz de dar continuidade à rede vítrea e estruturas do tipo X-O-X, havendo uma descontinuidade destas cadeias. Didaticamente, o papel dos modificadores de rede é fragmentar a rede vítrea.

Os resultados de difração de raios X sugerem que a partícula obtida de biovidro é heterogênea, contendo uma fase majoritária amorfa e uma pequena fração cristalina, a qual foi identificada como pirofosfato de cálcio. A formação desta fase já foi previamente observada por Hong et al. (119). Os autores apenas relataram os picos de difração, mas não relataram a fase cristalina associada e apenas citaram que poderia ser uma fase cristalina de fosfato de cálcio. Contudo, os mesmos autores demonstraram que uma pequena cristalização desta fase não inibe a bioatividade dos vidros. De fato, alguns trabalhos da literatura já têm demonstrado que a formação de fases de silicatos ou de fosfatos em vidros bioativos não induz, necessariamente, a perda de bioatividade dos vidros (120).

A compreensão da formação desta fase cristalina pode ser feita a partir do mecanismo de formação do vidro via processamento sol-gel. Resumidamente, quando o TEOS (precursor de silício) e a TEP (precursor de fósforo) são hidrolisados e submetidos à uma reação de policondensação, forma-se uma partícula primária, que é formada apenas por estes elementos, enquanto que o cálcio continua na forma iônica em solução.

Ao realizar a secagem da solução por liofilização, o cálcio iônico se cristaliza em nitrato de cálcio (seu precursor) ao redor da partícula primária formada por silício e fósforo. Quando submetido à calcinação, o nitrato de cálcio é degradado termicamente liberando gases de nitrogênio enquanto o cálcio se difunde na estrutura vítrea por mecanismo de difusão (movimentação do átomo na estrutura vítrea) (121). Uma vez que o cálcio se difunde das bordas para o centro das partículas primárias, há uma variação da concentração de cálcio na partícula final de tal modo que o centro das partículas de vidro é menos rico em cálcio do que as suas extremidades. Considerando-se que fósforo e cálcio são elementos com elevada afinidade química entre si, há a formação de uma fase de fosfato de cálcio na superfície das partículas de vidro, onde há uma maior concentração de átomos de cálcio (Figura 6.1). Os dados de FTIR confirmam a possibilidade de uma partícula

heterogênea devido à presença de grupos Q^4 na estrutura vítrea. Usualmente, estes grupos são minoritários na rede vítrea, não sendo detectados pela técnica de FTIR, apenas sendo observados por técnicas que permitem uma maior resolução, como uma ressonância nuclear magnética. Logo, estes grupos Q^4 estariam localizados na região central das partículas, onde os átomos de cálcio, por razões cinéticas, não tiveram tempo para se difundir até estas regiões.

Figura 6.1 – Mecanismo de formação das partículas de vidro. Primeiramente, partículas primárias apenas de Si e P são formadas durante as reações de policondensação ao longo do processamento destes vidros via sol-gel. Durante a secagem, o cálcio em solução se cristaliza em nitrato de cálcio na superfície das partículas. Com o tratamento térmico, o nitrato de cálcio é degradado termicamente liberando gases de nitrogênio enquanto o cálcio é difundido para a estrutura das partículas primárias. Essa difusão leva à formação de uma partícula heterogênea, onde a concentração de cálcio varia em função do raio da partícula, isto é, a região central da partícula contém mais formadores de rede com alta densidade de ligações Si-O-Si (átomos de silício Q^3 e Q^4 , principalmente), enquanto que a superfície da partícula é rica em fosfato de cálcio, formando uma fase cristalina de fosfato de cálcio na superfície da partícula. Entre ambas as regiões há formação de uma região intermediária contendo átomos de silício do tipo Q^1 , Q^2 , Q^3 e Q^0 .

A partir dos resultados obtidos, constatou-se que a formação de uma partícula heterogênea foi benéfica por facilitar reações de superfície entre o biovidro e o ácido fosfórico. Na interação entre as duas substâncias, foi observada uma dissolução da fase cristalina superficial das partículas de biovidro e recristalização na fase de hidrogenofosfato de cálcio hidratado. A formação desta fase já foi relatada por Patel et al. (122) ao misturar biovidros com ácido fosfórico (30% em volume) (122). Basicamente, o ácido reage com a superfície dos vidros e a dissolve parcialmente. Os produtos de dissolução desta reação são, então, reagidos com o ácido fosfórico e induzem a formação da fase cristalina de hidrogenofosfato de cálcio hidratado. Na figura 6.2 (Etapa I) são apresentadas duas possíveis hipóteses para esta reação. Na primeira hipótese, tanto átomos de cálcio quanto moléculas de fosfatos participam da reação, enquanto que na segunda hipótese apenas o cálcio proveniente do biovidro participa desta reação. Nos espectros de FTIR, é possível observar picos provenientes da contribuição da fase amorfa do biovidro e da fase cristalina do hidrogenofosfato de cálcio hidratado, confirmando a existência desta fase. Além disso, uma banda em 889 cm^{-1} é associada a grupos HPO_4^{-2} que, por sua vez, são contribuições do ácido fosfórico no espectro total, o que significa que nem todo o ácido fosfórico é completamente reagido nas reações propostas.

Quando os biovidros são dispersos em ácido fosfórico sobre a dentina, novas alterações de fases são observadas. De acordo com o modelo proposto na figura 6.2 (Etapa II), os grupos HPO_4^{-2} solubilizam superficialmente a hidroxiapatita da superfície de dentina, havendo uma reação entre o hidrogenofosfato de cálcio hidratado e o cálcio da dentina, formando hidroxofosfato de cálcio hidratado. A formação desta fase foi observada nos trabalhos realizados por Bakry et al. (16) que reportaram que esta fase pode ser formada devido à abundante concentração de cálcio oriundo dos biovidros e da dentina e é precipitada devido ao baixo pH da mistura de biovidro com ácido fosfórico.

Figura 6.2 – Mecanismo das reações de superfície entre os biovidros, ácido fosfórico e a dentina. Na Etapa I, o ácido fosfórico solubiliza a superfície cristalina do pirofosfato de cálcio nos biovidros, havendo cálcio e fosfato solúveis e disponíveis para reação com ácido fosfórico, formando hidrogenofosfato de cálcio hidratado. Na Etapa II o ácido fosfórico remanescente interage com a superfície da dentina, quando os biovidros dispersos em ácido fosfórico são depositados sobre a mesma. O ácido solubiliza a hidroxiapatita da superfície da dentina, formando cálcio iônico que reagiu com o hidrogenofosfato de cálcio hidratado e formou hidroxofosfato de cálcio hidratado

A irradiação com laser de Nd:YAG sob a superfície da dentina, promove fusão resultante do processo de ressolidificação da mesma superfície. Esperava-se observar a ressolidificação da dentina, o *melting*, com projeções arredondadas, que vedariam mecanicamente, todos os túbulos dentinário (68). Entretanto, os resultados esperados não foram visualizados nas imagens de microscopia eletrônica do grupo 2 (laser de Nd:YAG) desse trabalho: não foi observado um *melting* uniforme sobre a superfície dentinária, de forma que algumas áreas não apresentaram alteração alguma e os túbulos dentinários permaneceram expostos. As regiões onde a fibra do laser de Nd:YAG efetivamente entrou em contato, promoveu a oclusão total ou parcial dos túbulos dentinários por meio de ressolidificação da dentina peritubular. Elmadjian também relatou os mesmos achados nas amostras irradiadas (113). Certamente, a utilização de um motor de passos teria favorecido a irradiação uniforme de toda área das amostras, contornando as variações inerentes ao operador, contudo, isso não representaria o modo real de irradiação durante um

atendimento clínico, já que a utilização do motor de passos seria inviável na prática clínica. Esses achados corroboram o trabalho clínico realizado por Lopes et al. e pode explicar o motivo de alguns pacientes do estudo terem apresentado algum grau de HD mesmo após a irradiação com o laser de Nd:YAG (67). Assim, acredita-se que associar a utilização desse laser a um produto que já possua propriedades de oclusão tubular, promova um efeito terapêutico superior, por garantir que a maior parte dos túbulos dentinários permaneçam total ou parcialmente obliterados. Foi por esse motivo que esse trabalho estudou a interação do biovidro com o laser de Nd:YAG.

Com relação às amostras do grupo 3 (laser de CO₂), observou-se a ocorrência de trincas e porosidades na dentina inter e peritubular, além de áreas de intensa fusão e carbonização. Pode-se inferir também, que um processo de desidratação da dentina ocorreu após as irradiações com o laser de CO₂. As micrografias da superfície de dentina irradiada com lasers de CO₂ demonstram a formação de microtrincas e alterações estruturais que poderiam ser resultado das forças de tensão e compressão exercidas nos cristais de hidroxiapatita quando as moléculas de água são evaporadas. Se as forças mencionadas fossem maiores do que a força de energia da ligação química dos cristais de hidroxiapatita, seria possível que houvesse um rompimento das ligações e propagação de trincas ao longo da dentina. De fato, esses resultados foram vistos por Romano et al. (71) que testou diferentes parâmetros de irradiação com o laser de CO₂ e a associação com pasta de hidróxido de cálcio. O trabalho de Romano et al. (71) constatou que todos os grupos que receberam a irradiação de CO₂ sem a associação com a pasta de hidróxido de cálcio apresentaram alterações morfológicas importantes, apesar de a irradiação ter ocorrido a 30 mm de distância da superfície, ou seja, no modo desfocado. Observou-se fusão, ressolidificação, áreas de carbonização, formação de poros e trincas, alterações essas que não permitiriam a indicação desse laser no tratamento da HD. Esses achados corroboram com os resultados obtidos no grupo 3 desse trabalho, assim como com outros trabalhos (69, 85, 88). Entretanto, Romano et al. observou que a associação desse laser com a pasta de hidróxido de cálcio apresentou efeitos positivos na obliteração de túbulos dentinários em todos os grupos testados, sendo que a irradiação com 1 W de potência associada à pasta de hidróxido de cálcio apresentou a melhor interação com a dentina. Esses resultados se assemelham aos resultados obtidos no grupo 6 desse trabalho, em que foi

possível observar a melhor interação entre a associação do biovidro disperso em ácido fosfórico sobre a dentina e o laser de CO₂.

Em relação às amostras de dentina contendo biovidros dispersos em ácido fosfórico e irradiadas com os lasers desse trabalho, acredita-se que há uma reação de desidratação da fase de hidrogenofosfato de cálcio levando à formação de hidroxiapatita. De fato, de acordo com a equação apresentada na figura 6.3, um possível excesso de átomos de cálcio na superfície da dentina devido a ação do ácido fosfórico sobre os biovidros, ou devido a própria dentina, poderia fazer com que a fase de hidrogenofosfato de cálcio hidratado se cristalizasse em uma fase de hidroxiapatita estequiométrica ou não estequiométrica desde que também houvesse uma desidratação do hidrogenofosfato de cálcio. Resultados similares foram obtidos por Bakry et al (16) ao irradiar laser de CO₂ sobre a superfície da dentina contendo partículas de NovaMin® (nome comercial da formulação do Bioglass 45S5 para aplicações odontológicas). Bakry e colaboradores observaram a formação da fase de hidrogenofosfato de cálcio hidratado quando uma mistura de NovaMin e ácido fosfórico foi depositada sobre a superfície da dentina, no entanto, após irradiação com laser de CO₂, os pesquisadores observaram a formação de uma fase de hidrogenofosfato de cálcio anidra, indicando que é possível haver reações de desidratação na fase cristalina de hidrogenofosfato de cálcio hidratado, apesar dos resultados destes autores não levarem à formação de hidroxiapatita. Além disso, a energia do laser de CO₂ é absorvida pela fase cristalina de hidrogenofosfato de cálcio hidratado.

De acordo com a equação da figura 6.3, proposta por Lin et al. (123), há uma liberação de moléculas de água para a transformação de fase de hidrogenofosfato de cálcio hidratado para hidroxiapatita, indicando que essa transformação química seria possível. Estudos realizados por Štulajterová e Medvecký (124) demonstraram que é possível converter hidrogenofosfato de cálcio hidratado em hidroxiapatita e que a reação é favorecida em pH mais ácidos e em temperaturas abaixo de 40°C. Além disso, os mesmos pesquisadores verificaram que a presença de íons de cálcio favorecem a nucleação de hidroxiapatita deficiente em cálcio (não estequiométrica), enquanto que em meio livre de íons de cálcio é favorecida a fase de hidroxiapatita estequiométrica. Desta forma, a reação proposta na figura 6.3 está em consonância com os resultados da literatura e os resultados desse trabalho evidenciam que

realmente ocorre esta reação de desidratação que leva à formação da dentina.

É razoável admitir que os lasers provocam um aumento de temperatura na superfície da dentina (que ocorre abaixo de 40°C) e que esta temperatura é capaz de ocasionar a conversão de hidrogenofosfato de cálcio hidratado em hidroxiapatita sem afetar de forma significativa as fibras de colágeno, as quais tem desnaturação em temperaturas maiores do que 60°C (125). Segundo Zach e Cohen (74), para que não ocorra danos histológicos, o tecido pulpar não deve passar por um aumento de temperatura superior a 5°C (74). Sabe-se que o aumento de temperatura no interior da câmara pulpar está diretamente relacionado à quantidade de energia aplicada e o tempo de exposição. Os parâmetros de irradiação utilizados nesse trabalho já foram utilizados em outros estudos de forma segura em estudos *in vitro* e em estudos clínicos (25, 67, 126, 127). Zapletalová et al. (128) observou que a irradiação com laser de Nd:YAG com potências acima de 1,5 W poderia causar microtrincas e até mesmo carbonização da superfície dentária e conseqüentemente, aumentaria a temperatura intrapulpar, podendo causar danos irreversíveis à polpa. Da mesma maneira, no estudo de Romano et al., também foi avaliado o aumento de temperatura após a irradiação com o laser de CO₂ e constatou-se que potências de irradiação de 0,5 W a 1,5 W apesar de promover alterações morfológicas importantes, houve um aumento de temperatura menor que 5°C, observando a segurança para utilização desse laser com relação à condução de calor à polpa (71).

Figura 6.3 – Mecanismo de formação de hidroxiapatita na superfície da dentina após irradiação de laser de Nd:YAG ou CO₂. De acordo com este mecanismo, átomos de cálcio remanescentes do processo de dissolução da dentina ou dos biovidros interagem com o hidrogenofosfato de cálcio. Sob a ação térmica dos lasers, há a formação de hidroxiapatita estequiométrica ou não-estequiométrica

Interessantemente, quando comparada a banda de PO₄ (1005 cm⁻¹) da dentina antes e após a interação da mesma com os lasers de Nd:YAG e CO₂ na presença de biovidros, observa-se que a mesma sofre um deslocamento para número de ondas maiores (1008 e 1009 cm⁻¹). Este deslocamento pode estar associado a uma possível formação de ligações do tipo Si-O-P. Ou seja, a incidência do laser provocou a ressolidificação da dentina, facilitando a reação da fase de hidroxiapatita com os grupos Si-OH da superfície dos vidros, formando estas ligações. Uma possível ligação Si-O-P garantiria uma maior adesão dos biovidros na superfície da dentina, uma vez que eles estariam ligados quimicamente um ao outro.

Esse trabalho não utilizou saliva humana ou saliva artificial para armazenar as amostras tratadas com biovidro por se tratar de um estudo preliminar cujo objetivo foi entender o comportamento primário do BG associado a ácido fosfórico a 30% e sua interação inicial sobre a dentina humana. Estudos futuros deveriam ser conduzidos de forma a mimetizar as condições clínicas, avaliando assim, qual seria o comportamento desse material no meio biológico. Curtis et al. (115) constatou que

ocorria maior formação de cristais de apatita quando o biovidro testado em seu trabalho era associado à saliva humana.

É importante ressaltar que, embora seja necessário realizar estudos futuros para avaliar a profundidade de penetração desses materiais no interior dos túbulos dentinários, é ainda essencial avaliar a resistência desse material a desafios erosivos e abrasivos, pois uma vez que esse material permaneça tempo suficiente em contato com o interior dos túbulos dentinários, espera-se que, através de sua bioatividade, o material seja capaz de induzir a formação de dentina terciária, completando a dessensibilização por meio da oclusão tubular fisiológica.

Observa-se a partir dos resultados desse trabalho que, a formulação de biovidro com ácido fosfórico 30% foi capaz de promover a obliteração parcial e total dos túbulos dentinários expostos, sendo que a interação desse material com o laser de CO₂ promove uma melhor adaptação e conformação das partículas formadas.

7 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos nesse trabalho *in vitro*, podemos concluir que:

1. A aplicação da pasta de biovidro formulada sobre a dentina promoveu a obliteração dos túbulos dentinários por meio da formação e deposição de cristais de monetita;
2. A associação da pasta formulada e a irradiação com lasers de Nd:YAG e CO₂ alterou a estrutura dos cristais de monetita promovendo uma fase mais estável desses cristais, a hidroxiapatita

REFERÊNCIAS¹

1. 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.
2. Chabanski MB, Gillam DG. Aetiology, prevalence and clinical features of cervical dentine sensitivity. *J Oral Rehabil.* 1997;24(1):15-9.
3. Addy M. Clinical aspects of dentine hypersensitivity. *Proc Finn Dent Soc.* 1992;88 Suppl 1:23-30.
4. Ling TY, Gillam DG. The effectiveness of desensitizing agents for the treatment of cervical dentine sensitivity (CDS)--a review. *J West Soc Periodontol Periodontal Abstr.* 1996;44(1):5-12.
5. Brannstrom M, Astrom A. The hydrodynamics of the dentine; its possible relationship to dentinal pain. *Int Dent J.* 1972;22(2):219-27.
6. West NX. Dentine hypersensitivity: preventive and therapeutic approaches to treatment. *Periodontol 2000.* 2008;48:31-41.
7. Orchardson R, Gillam DG. Managing dentin hypersensitivity. *J Am Dent Assoc.* 2006;137(7):990-8; quiz 1028-9.
8. Ladalardo TC, Pinheiro A, Campos RA, Brugnera Junior A, Zanin F, Albernaz PL, et al. Laser therapy in the treatment of dentine hypersensitivity. *Braz Dent J.* 2004;15(2):144-50.
9. Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity. *J Can Dent Assoc.* 2003;69(4):221-6.
10. Kerns DG, Scheidt MJ, Pashley DH, Horner JA, Strong SL, Van Dyke TE. Dentinal tubule occlusion and root hypersensitivity. *J Periodontol.* 1991;62(7):421-8.

¹De acordo com Estilo Vancouver

11. Panduric V, Knezevic A, Tarle Z, Sutalo J. The efficiency of dentine adhesives in treating non-carious cervical lesions. *J Oral Rehabil.* 2001;28(12):1168-74.
12. Aranha AC, Eduardo Cde P. Effects of Er:YAG and Er,Cr:YSGG lasers on dentine hypersensitivity. Short-term clinical evaluation. *Lasers Med Sci.* 2012;27(4):813-8.
13. Gillam DG, Tang JY, Mordan NJ, Newman HN. The effects of a novel Bioglass dentifrice on dentine sensitivity: a scanning electron microscopy investigation. *J Oral Rehabil.* 2002;29(4):305-13.
14. Lee BS, Kang SH, Wang YL, Lin FH, Lin CP. In vitro study of dentinal tubule occlusion with sol-gel DP-bioglass for treatment of dentin hypersensitivity. *Dent Mater J.* 2007;26(1):52-61.
15. Curtis AR, West NX, Su B. Synthesis of nanobioglass and formation of apatite rods to occlude exposed dentine tubules and eliminate hypersensitivity. *Acta Biomater.* 2010;6(9):3740-6.
16. Bakry AS, Takahashi H, Otsuki M, Sadr A, Yamashita K, Tagami J. CO₂ laser improves 45S5 bioglass interaction with dentin. *J Dent Res.* 2011;90(2):246-50.
17. Orchardson R, Cadden SW. An update on the physiology of the dentine-pulp complex. *Dent Update.* 2001;28(4):200-6, 8-9.
18. Harada M, Kenmotsu S, Nakasone N, Nakakura-Ohshima K, Ohshima H. Cell dynamics in the pulpal healing process following cavity preparation in rat molars. *Histochem Cell Biol.* 2008;130(4):773-83.
19. Boskey AL. The role of extracellular matrix components in dentin mineralization. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1991;2(3):369-87.
20. Garcia JM, Martins MD, Jaeger RG, Marques MM. Immunolocalization of bone extracellular matrix proteins (type I collagen, osteonectin and bone sialoprotein) in human dental pulp and cultured pulp cells. *Int Endod J.* 2003;36(6):404-10.
21. Smith AJ, Scheven BA, Takahashi Y, Ferracane JL, Shelton RM, Cooper PR. Dentine as a bioactive extracellular matrix. *Arch Oral Biol.* 2012;57(2):109-21.

22. Ferreira AN, Silveira L, Genovese WJ, de Araujo VC, Frigo L, de Mesquita RA, et al. Effect of GaAlAs laser on reactionary dentinogenesis induction in human teeth. *Photomed Laser Surg.* 2006;24(3):358-65.
23. Smith AJ, Cassidy N, Perry H, Begue-Kirn C, Ruch JV, Lesot H. Reactionary dentinogenesis. *Int J Dev Biol.* 1995;39(1):273-80.
24. Pashley DH, Kalathoor S, Burnham D. The effects of calcium hydroxide on dentin permeability. *J Dent Res.* 1986;65(3):417-20.
25. Ciaramicoli MT, Carvalho RC, Eduardo CP. Treatment of cervical dentin hypersensitivity using neodymium: Yttrium-aluminum-garnet laser. Clinical evaluation. *Lasers Surg Med.* 2003;33(5):358-62.
26. Winston AE, Charig AJ, Thong S. Mechanism of action of a desensitizing fluoride toothpaste delivering calcium and phosphate ingredients in the treatment of dental hypersensitivity. Part III: Prevention of dye penetration through dentin vs a calcium- and phosphate-free control. *Compend Contin Educ Dent.* 2010;31(1):46-8, 50-2.
27. Orchardson R, Collins WJ. Clinical features of hypersensitive teeth. *Br Dent J.* 1987;162(7):253-6.
28. Scaramucci T, de Almeida Anfe TE, da Silva Ferreira S, Frias AC, Sobral MA. Investigation of the prevalence, clinical features, and risk factors of dentin hypersensitivity in a selected Brazilian population. *Clin Oral Investig.* 2014;18(2):651-7.
29. Brannstrom M. Sensitivity of dentine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1966;21(4):517-26.
30. Braennstroem M, Astroem A. A study on the mechanism of pain elicited from the dentin. *J Dent Res.* 1964;43:619-25.
31. Prati C, Venturi L, Valdre G, Mongiorgi R. Dentin morphology and permeability after brushing with different toothpastes in the presence and absence of smear layer. *J Periodontol.* 2002;73(2):183-90.
32. Pashley DH, Livingston MJ, Greenhill JD. Regional resistances to fluid flow in human dentine in vitro. *Arch Oral Biol.* 1978;23(9):807-10.

33. Brannstrom M. The hydrodynamic theory of dentinal pain: sensation in preparations, caries, and the dentinal crack syndrome. *J Endod.* 1986;12(10):453-7.
34. Absi EG, Addy M, Adams D. Dentine hypersensitivity: uptake of toothpastes onto dentine and effects of brushing, washing and dietary acid--SEM in vitro study. *J Oral Rehabil.* 1995;22(3):175-82.
35. Levitch LC, Bader JD, Shugars DA, Heymann HO. Non-carious cervical lesions. *J Dent.* 1994;22(4):195-207.
36. Grippo JO, Simring M, Schreiner S. Attrition, abrasion, corrosion and abfraction revisited: a new perspective on tooth surface lesions. *J Am Dent Assoc.* 2004;135(8):1109-18; quiz 63-5.
37. Miglani S, Aggarwal V, Ahuja B. Dentin hypersensitivity: Recent trends in management. *J Conserv Dent.* 2010;13(4):218-24.
38. Yilmaz HG, Kurtulmus-Yilmaz S, Cengiz E. Long-term effect of diode laser irradiation compared to sodium fluoride varnish in the treatment of dentine hypersensitivity in periodontal maintenance patients: a randomized controlled clinical study. *Photomed Laser Surg.* 2011;29(11):721-5.
39. Heasman PA, Ritchie M, Asuni A, Gavillet E, Simonsen JL, Nyvad B. Gingival recession and root caries in the ageing population: a critical evaluation of treatments. *J Clin Periodontol.* 2017;44 Suppl 18:S178-s93.
40. Joshipura KJ, Kent RL, DePaola PF. Gingival recession: intra-oral distribution and associated factors. *J Periodontol.* 1994;65(9):864-71.
41. Litonjua LA, Andreana S, Cohen RE. Toothbrush abrasions and noncarious cervical lesions: evolving concepts. *Compend Contin Educ Dent.* 2005;26(11):767-8, 70-4, 76 passim.
42. Michael JA, Kaidonis JA, Townsend GC. Non-carious cervical lesions on permanent anterior teeth: a new morphological classification. *Aust Dent J.* 2010;55(2):134-7.
43. Wood I, Jawad Z, Paisley C, Brunton P. Non-carious cervical tooth surface loss: a literature review. *J Dent.* 2008;36(10):759-66.

44. Mair LH. Wear in dentistry--current terminology. *J Dent*. 1992;20(3):140-4.
45. Scaramucci T, Sobral MA, Eckert GJ, Zero DT, Hara AT. In situ evaluation of the erosive potential of orange juice modified by food additives. *Caries Res*. 2012;46(1):55-61.
46. Aranha ACC. Avaliação dos efeitos do laser de Er/Cr:YSGG sobre superfícies radiculares expostas no tratamento da hipersensibilidade dentinária cervical: estudo in vitro e in vitro [Tese de Doutorado]. Universidade de São Paulo; Faculdade de Odontologia; 2005.
47. Gillam D, Chesters R, Attrill D, Brunton P, Slater M, Strand P, et al. Dentine hypersensitivity--guidelines for the management of a common oral health problem. *Dent Update*. 2013;40(7):514-6, 8-20, 23-4.
48. Pamir T, Dalgar H, Onal B. Clinical evaluation of three desensitizing agents in relieving dentin hypersensitivity. *Oper Dent*. 2007;32(6):544-8.
49. Aranha AC, Pimenta LA, Marchi GM. Clinical evaluation of desensitizing treatments for cervical dentin hypersensitivity. *Braz Oral Res*. 2009;23(3):333-9.
50. Markowitz K, Pashley DH. Discovering new treatments for sensitive teeth: the long path from biology to therapy. *J Oral Rehabil*. 2008;35(4):300-15.
51. Grossman, LI. A Systematic Method for the Treatment of Hypersensitive Dentin. *J Am Dent Assoc*. 1935;22(4):592-602.
52. Al-Sabbagh M, Brown A, Thomas MV. In-office treatment of dentinal hypersensitivity. *Dent Clin North Am*. 2009;53(1):47-60, viii.
53. Al-Sabbagh M, Harrison E, Thomas MV. Patient-applied treatment of dentinal hypersensitivity. *Dent Clin North Am*. 2009;53(1):61-70, viii.
54. Aranha AC, Eduardo Cde P. In vitro effects of Er,Cr:YSGG laser on dentine hypersensitivity. Dentine permeability and scanning electron microscopy analysis. *Lasers Med Sci*. 2012;27(4):827-34.

55. Orsini G, Procaccini M, Manzoli L, Giuliadori F, Lorenzini A, Putignano A. A double-blind randomized-controlled trial comparing the desensitizing efficacy of a new dentifrice containing carbonate/hydroxyapatite nanocrystals and a sodium fluoride/potassium nitrate dentifrice. *J Clin Periodontol*. 2010;37(6):510-7.
56. Greenhill JD, Pashley DH. The effects of desensitizing agents on the hydraulic conductance of human dentin in vitro. *J Dent Res*. 1981;60(3):686-98.
57. Mantzourani M, Sharma D. Dentine sensitivity: past, present and future. *J Dent*. 2013;41 Suppl 4:S3-17.
58. Kimura Y, Wilder-Smith P, Yonaga K, Matsumoto K. Treatment of dentine hypersensitivity by lasers: a review. *J Clin Periodontol*. 2000;27(10):715-21.
59. Sgolastra F, Petrucci A, Gatto R, Monaco A. Effectiveness of laser in dentinal hypersensitivity treatment: a systematic review. *J Endod*. 2011;37(3):297-303.
60. Sgolastra F, Petrucci A, Severino M, Gatto R, Monaco A. Lasers for the treatment of dentin hypersensitivity: a meta-analysis. *J Dent Res*. 2013;92(6):492-9.
61. Wakabayashi H, Hamba M, Matsumoto K, Tachibana H. Effect of irradiation by semiconductor laser on responses evoked in trigeminal caudal neurons by tooth pulp stimulation. *Lasers Surg Med* 1993;13:605-19.
62. Godoy BM, Arana-Chavez VE, Nunez SC, Ribeiro MS. Effects of low-power red laser on dentine-pulp interface after cavity preparation. An ultrastructural study. *Arch Oral Biol*. 2007;52(9):899-903.
63. Birang R, Poursamimi J, Gutknecht N, Lampert F, Mir M. Comparative evaluation of the effects of Nd:YAG and Er:YAG laser in dentin hypersensitivity treatment. *Lasers Med Sci*. 2007;22(1):21-4.
64. Matsumoto K, Funai H, Shirasuka T, Wakabayashi H. Effects of Nd:YAG-laser in treatment of cervical hypersensitive dentine. *J Conserv Dent*. 1985;28:760-5.
65. Renton-Harper P, Midda M. NdYAG laser treatment of dentinal hypersensitivity. *Br Dent J*. 1992;172(1):13-6.

66. Lan WH, Liu HC. Treatment of dentin hypersensitivity by Nd:YAG laser. *J Clin Laser Med Surg.* 1996;14(2):89-92.
67. Lopes AO, Aranha AC. Comparative evaluation of the effects of Nd:YAG laser and a desensitizer agent on the treatment of dentin hypersensitivity: a clinical study. *Photomed Laser Surg.* 2013;31(3):132-8.
68. Al-Saud LM, Al-Nahedh HN. Occluding effect of Nd:YAG laser and different dentin desensitizing agents on human dentinal tubules in vitro: a scanning electron microscopy investigation. *Oper Dent.* 2012;37(4):340-55.
69. Tanji E, Matsumoto K. The comparative study of the morphological changes of dentin surface after Nd:YAG, CO₂ Jpn Endod Assoc 1994;15:14-20.
70. Schwarz F, Arweiler N, Georg T, Reich E. Desensitizing effects of an Er:YAG laser on hypersensitive dentine. *J Clin Periodontol.* 2002;29(3):211-5.
71. Romano AC, Aranha AC, da Silveira BL, Baldochi SL, Eduardo Cde P. Evaluation of carbon dioxide laser irradiation associated with calcium hydroxide in the treatment of dentinal hypersensitivity. A preliminary study. *Lasers Med Sci.* 2011;26(1):35-42.
72. Gerschman JA, Ruben J, Gebart-Eaglemont J. Low level laser therapy for dentinal tooth hypersensitivity. *Aust Dent J.* 1994;39(6):353-7.
73. Hibst R, Stock K, Gall R, Keller U. Controlled tooth surface heating and sterilization by Er:YAG laser irradiation. *Proc SPIE*1996. p. 119–27
74. Zach L, Cohen G. Pulp response to externally applied heat. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1965;19:515-30.
75. Attrill DC, Davies RM, King TA, Dickinson MR, Blinkhorn AS. Thermal effects of the Er:YAG laser on a simulated dental pulp: a quantitative evaluation of the effects of a water spray. *J Dent.* 2004;32(1):35-40.
76. Yilmaz HG, Cengiz E, Kurtulmus-Yilmaz S, Leblebicioglu B. Effectiveness of Er,Cr:YSGG laser on dentine hypersensitivity: a controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2011;38(4):341-6.

77. Yilmaz HG, Kurtulmus-Yilmaz S, Cengiz E, Bayindir H, Aykac Y. Clinical evaluation of Er,Cr:YSGG and GaAlAs laser therapy for treating dentine hypersensitivity: A randomized controlled clinical trial. *J Dent*. 2011;39(3):249-54.
78. Kopp WK, St-Hilaire H. Mucosal preservation in the treatment of mucocoele with CO2 laser. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004;62(12):1559-61.
79. Niccoli-Filho W, Morosolli AR. Surgical treatment of ranula with carbon dioxide laser radiation. *Lasers Med Sci*. 2004;19(1):12-4.
80. Pick RM, Pecaro BC. Use of the CO2 laser in soft tissue dental surgery. *Lasers Surg Med*. 1987;7(2):207-13.
81. Stern RH, Sognnaes RF. Laser inhibition of dental caries suggested by first tests in vivo. *J Am Dent Assoc*. 1972;85(5):1087-90.
82. Stern RH, Vahl J, Sognnaes RF. Lased enamel: ultrastructural observations of pulsed carbon dioxide laser effects. *J Dent Res*. 1972;51(2):455-60.
83. Hsu J, Fox JL, Wang Z, Powell GL, Otsuka M, Higuchi WI. Combined effects of laser irradiation/solution fluoride ion on enamel demineralization. *J Clin Laser Med Surg*. 1998;16(2):93-105.
84. Hossain M, Nakamura Y, Kimura Y, Ito M, Yamada Y, Matsumoto K. Acquired acid resistance of dental hard tissues by CO2 laser irradiation. *J Clin Laser Med Surg*. 1999;17(5):223-6.
85. Steiner-Oliveira C, Rodrigues LK, Soares LE, Martin AA, Zezell DM, Nobre-dos-Santos M. Chemical, morphological and thermal effects of 10.6-microm CO2 laser on the inhibition of enamel demineralization. *Dent Mater J*. 2006;25(3):455-62.
86. Steiner-Oliveira C, Rodrigues LK, Lima EB, Nobre-dos-Santos M. Effect of the CO2 laser combined with fluoridated products on the inhibition of enamel demineralization. *J Contemp Dent Pract*. 2008;9(2):113-21.
87. Steiner-Oliveira C, Nobre-dos-Santos M, Zero DT, Eckert G, Hara AT. Effect of a pulsed CO2 laser and fluoride on the prevention of enamel and dentine erosion. *Arch Oral Biol*. 2010;55(2):127-33.

88. Moritz A, Schoop U, Goharkhay K, Aoid M, Reichenbach P, Lothaller MA, et al. Long-term effects of CO₂ laser irradiation on treatment of hypersensitive dental necks: results of an in Vivo study. *J Clin Laser Med Surg.* 1998;16(4):211-5.
89. Gholami GA, Fekrazad R, Esmail-Nejad A, Kalhori KA. An evaluation of the occluding effects of Er;Cr:YSGG, Nd:YAG, CO₂ and diode lasers on dentinal tubules: a scanning electron microscope in vitro study. *Photomed Laser Surg.* 2011;29(2):115-21.
90. Liu HC, Lin CP, Lan WH. Sealing depth of Nd:YAG laser on human dentinal tubules. *J Endod.* 1997;23(11):691-3.
91. Abed AM, Mahdian M, Seifi M, Ziaei SA, Shamsaei M. Comparative assessment of the sealing ability of Nd:YAG laser versus a new desensitizing agent in human dentinal tubules: a pilot study. *Odontology.* 2011;99(1):45-8.
92. Hench L, Splinter R, Allen W, Greenlee T. Bonding Mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *J Biomed Mater Res.* 1972;2:117-4.
93. Hench L. Bioceramics: from concept to clinic. *J Am Ceram Soc.* 1991; 74(7):1487- 510.
94. Margonar R, Queiroz TP, Luvizuto ER, Marcantonio E, Lia RC, Holzhausen M, et al. Bioactive glass for alveolar ridge augmentation. *J Craniofac Surg.* 2012;23(3):e220-2.
95. Huan Z, Leeftang S, Zhou J, Zhai W, Chang J, Duszczyk J. In vitro degradation behavior and bioactivity of magnesium-Bioglass((R)) composites for orthopedic applications. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2012;100(2):437-46.
96. Cormack AN, Tilocca A. Structure and biological activity of glasses and ceramics. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci.* 2012;370(1963):1271-80.
97. Peitl Filho O, LaTorre GP, Hench LL. Effect of crystallization on apatite-layer formation of bioactive glass 45S5. *J Biomed Mater Res.* 1996;30(4):509-14.
98. Siqueira R, Zanotto E. Biosilicate ® : historical of a highly bioactive brazilian glass- ceramic. *Quím Nova.* 2011;34 (7):1231-41.

99. Brink M, Turunen T, Happonen RP, Yli-Urpo A. Compositional dependence of bioactivity of glasses in the system Na₂O-K₂O-MgO-CaO-B₂O₃-P₂O₅-SiO₂. *J Biomed Mater Res*. 1997;37(1):114-21.
100. Brink M. The influence of alkali and alkaline earths on the working range for bioactive glasses. *J Biomed Mater Res*. 1997;36(1):109-17.
101. Forsback AP, Areva S, Salonen JI. Mineralization of dentin induced by treatment with bioactive glass S53P4 in vitro. *Acta Odontol Scand*. 2004;62(1):14-20.
102. Bakry AS, Takahashi H, Otsuki M, Tagami J. The durability of phosphoric acid promoted bioglass-dentin interaction layer. *Dent Mater*. 2013;29(4):357-64.
103. Poinern GE, Brundavanam RK, Mondinos N, Jiang ZT. Synthesis and characterisation of nanohydroxyapatite using an ultrasound assisted method. *Ultrason Sonochem*. 2009;16(4):469-74.
104. Kuo TC, Lee BS, Kang SH, Lin FH, Lin CP. Cytotoxicity of DP-bioglass paste used for treatment of dentin hypersensitivity. *J Endod*. 2007;33(4):451-4.
105. Bakry AS, Tamura Y, Otsuki M, Kasugai S, Ohya K, Tagami J. Cytotoxicity of 45S5 bioglass paste used for dentine hypersensitivity treatment. *J Dent*. 2011;39(9):599-603.
106. Tirapelli C, Panzeri H, Soares RG, Peitl O, Zanotto ED. A novel bioactive glass-ceramic for treating dentin hypersensitivity. *Braz Oral Res*. 2010;24(4):381-7.
107. Lee BS, Tsai HY, Tsai YL, Lan WH, Lin CP. In vitro study of DP-bioglass paste for treatment of dentin hypersensitivity. *Dent Mater J*. 2005;24(4):562-9.
108. Chiang YC, Chen HJ, Liu HC, Kang SH, Lee BS, Lin FH, et al. A novel mesoporous biomaterial for treating dentin hypersensitivity. *J Dent Res*. 2010;89(3):236-40.
109. Lee BS, Chang CW, Chen WP, Lan WH, Lin CP. In vitro study of dentin hypersensitivity treated by Nd:YAP laser and bioglass. *Dent Mater*. 2005;21(6):511-9.

110. Farmakis ET, Beer F, Kozyrakos K, Pantazis N, Moritz A. The influence of different power settings of Nd:YAG laser irradiation, bioglass and combination to the occlusion of dentinal tubules. *Photomed Laser Surg*. 2013;31(2):54-8.
111. Lopez TC, Diniz IM, Ferreira LS, Marchi J, Borges R, de Cara SP, et al. Bioactive glass plus laser phototherapy as promise candidates for dentine hypersensitivity treatment. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2017;105(1):107-16.
112. Lopez TCC. Investigação dos efeitos de substâncias liberadas por materiais utilizados no tratamento da Hipersensibilidade Dentinária (Gluma e Biovidro), associados ou não à laser fototerapia, na proliferação e diferenciação de células mesenquimais de polpa dentária humana [Dissertação]. Universidade de São Paulo; Faculdade de Odontologia; 2013.
113. Elmadjian T. Proposta de tratamento para hipersensibilidade dentinária à base de biovidro em diferentes veículos. Estudo morfológico in vitro [Dissertação]. Universidade de São Paulo; Faculdade de Odontologia; 2014.
114. Lopes AO, de Paula Eduardo C, Aranha AC. Evaluation of different treatment protocols for dentin hypersensitivity: an 18-month randomized clinical trial. *Lasers Med Sci*. 2017.
115. Lopes AO. Avaliação in vivo e in vitro de diferentes protocolos no tratamento da hipersensibilidade dentinária cervical [Tese]. Universidade de São Paulo; Faculdade de Odontologia; 2016.
116. Macdonald S, Schardt C, Masiello D, Simmons J. Dispersion analysis of FTIR reflection measurements in silicate glasses. *J Non-crystalline solids*. 2000;275 (1-2):72-82.
117. Berzina-Cimdina L, Borodajenko N. Research of Calcium Phosphates Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy, Infrared Spectroscopy. *Infrared Spectrosc – Mater Sci Eng Technol*. 2012:123-48.
118. Movasaghi Z, Rehman S, Rehman I. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Appl Spectrosc Rev [Internet]*. 2008; 43:134-79
119. Hong Z, Liu A, Chen L, Chen X, Jing X. Preparation of bioactive glass ceramic nanoparticles by combination of sol–gel and coprecipitation method. *J Non Cryst Solids* 2009;355(6):368-72.

120. Siqueira R, Peitl O, Zanutto E. Gel-derived $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ bioactive powders: Synthesis and in vitro bioactivity. *Mater Sci Eng C*. 2011;31:983–91.

121. Lin S, Ionescu C, Pike KJ, Smith ME, Jones JR. Nanostructure evolution and calcium distribution in sol–gel derived bioactive glass. *J Mater Chem*. 2009;19:1276–82.

122. Patel K, El-Fiqi A, Lee H, Singh R, Kim D, Lee H, et al. Chitosan–nanobioactive glass electrophoretic coatings with bone regenerative and drug delivering potential. *J Mater Chemistry*. 2012;22(47):24945-56

123. Lin CP, Lee BS, Lin FH, Kok SH, Lan WH. Phase, compositional, and morphological changes of human dentin after Nd:YAG laser treatment. *J Endod*. 2001;27(6):389-93.

124. Štulajterová R, Medvecký L. Effect of calcium ions on transformation brushite to hydroxyapatite in aqueous solutions. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp*. 2008;316:104-9.

125. Armstrong SR, Jessop JL, Winn E, Tay FR, Pashley DH. Denaturation temperatures of dentin matrices. I. Effect of demineralization and dehydration. *J Endod*. 2006;32(7):638-41.

126. Gutknecht N, Moritz A, Dercks HW, Lampert F. Treatment of hypersensitive teeth using neodymium:yttrium-aluminum-garnet lasers: a comparison of the use of various settings in an in vivo study. *J Clin Laser Med Surg*. 1997;15(4):171-4.

127. Naylor F, Aranha AC, Eduardo Cde P, Arana-Chavez VE, Sobral MA. Micromorphological analysis of dentinal structure after irradiation with Nd:YAG laser and immersion in acidic beverages. *Photomed Laser Surg*. 2006;24(6):745-52.

128. Zapletalova Z, Perina J, Jr., Novotny R, Chmelickova H. Suitable conditions for sealing of open dentinal tubules using a pulsed Nd:YAG laser. *Photomed Laser Surg*. 2007;25(6):495-9.

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: ANÁLISE IN VITRO DA MORFOLOGIA E PERMEABILIDADE DENTINÁRIA DE SUPERFÍCIE DE DENTINA TRATADA COM BIOVIDRO ASSOCIADO AO LASER DE ND:YAG E CO2

Pesquisador: ESTER MI RYOUNG LEE

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 60108016.6.0000.0075

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.774.932

Apresentação do Projeto:

Pesquisa Laboratorial in vitro. Serão selecionados para este 78 molares humanos íntegros, extraídos por motivos não relacionados à pesquisa, cedidos pelo Banco de

Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo após aprovação do projeto pelo Comitê de Ética. Dos 78 espécimes, 60 espécimes serão utilizados para o teste de permeabilidade dentinária (n= 10) e os outros 18 (n= 3)

serão utilizados para a análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A distribuição das amostras nos grupos experimentais ocorrerá de maneira aleatória como a seguir: G1: controle negativo (nenhum tratamento adicional); G2: controle positivo 1 (laser de Nd:YAG); G3: controle positivo 2 (laser de CO2); G4: pasta de biovidro (biovidro + ácido fosfórico 30%); G5: pasta de biovidro + laser de Nd:YAG; G6: pasta de biovidro + laser de CO2.

Objetivo da Pesquisa:

Comparar in vitro, o efeito do pó de biovidro associado ao laser de Nd:YAG e ao laser de CO2 na obliteração de túbulos dentinários expostos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os indivíduos que doarem seus dentes apresentarão riscos mínimos inerentes apenas ao

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7814 **E-mail:** cepfo@usp.br

Continuação do Parecer: 1.774.932

procedimento de extração. Entretanto o atual projeto não representará riscos adicionais, uma vez que os dentes serão extraídos por motivos não relacionados à pesquisa, sendo originários do Biobanco da FOU SP - Divisão de dentes humanos.

Deverá haver benefício indireto para a área de conhecimento. Os indivíduos que doarem seus dentes apresentarão riscos mínimos inerentes apenas ao procedimento de extração. Entretanto o atual projeto não representará riscos adicionais, uma vez que os dentes serão extraídos por motivos não relacionados à pesquisa.

O pó de biovidro pode representar uma possibilidade de tratamento duradouro para hipersensibilidade dentinária quando associado ao laser de alta intensidade (Nd:YAG e CO₂).

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresenta metodologia detalhada, bem embasada e sofisticada, devendo atingir os objetivos propostos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresenta autorização para doação de 78 dentes humanos do BIOBANCO da FOU SP.

Folha de rosto devidamente assinada pelo Sr. Diretor da FOU SP.

Projeto Detalhado.

Recomendações:

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP-FOUSP relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final, utilizando-se da opção "Enviar Notificação" (descrita no Manual "Submeter Notificação", disponível na Central de Suporte - canto superior direito do site www.saude.gov.br/plataformabrasil).

Qualquer alteração no projeto original deve ser apresentada "emenda" a este CEP, de forma objetiva e com justificativas para nova apreciação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 05.508-900
 UF: SP Município: SÃO PAULO
 Telefone: (11)3091-7960 Fax: (11)3091-7814 E-mail: cepfo@usp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

Continuação do Parecer: 1.774.832

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_788742.pdf	14/09/2016 17:16:06		Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rostoassinado.pdf	14/09/2016 17:13:54	ESTER MI RYOUNG LEE	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	BIOBANCO_FOUSP.pdf	08/09/2016 15:40:12	ESTER MI RYOUNG LEE	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	08/09/2016 15:37:24	ESTER MI RYOUNG LEE	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_DETALHADO.pdf	08/09/2016 15:37:13	ESTER MI RYOUNG LEE	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 14 de Outubro de 2016

Assinado por:
Maria Gabriela Haye Blazevic
(Coordenador)

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
Bairro: Cidade Universitária CEP: 05.508-900
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7860 Fax: (11)3091-7814 E-mail: cepfo@usp.br