**Estudo *in vitro* do efeito de agentes
anti-hiperestésicos na permeabilidade dentinária
por meio de testes de condutividade hidráulica e de
espectroscopia de impedância eletroquímica**

GIOVANA CALICCHIO CANOVA

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Bauru, da Universidade
de São Paulo, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Doutor em
Odontologia, área de Endodontia.

**Bauru
2007**

**Estudo *in vitro* do efeito de agentes
anti-hiperestésicos na permeabilidade dentinária
por meio de testes de condutividade hidráulica e de
espectroscopia de impedância eletroquímica**

GIOVANA CALICCHIO CANOVA

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Odontologia, área de Endodontia.

Orientador: **Prof. Dr. José Carlos Pereira**

**Bauru
2007**

C165e Canova, Giovana Calicchio
Estudo *in vitro* do efeito de agentes anti-hiperestésicos na permeabilidade dentinária por meio de testes de condutividade hidráulica e de espectroscopia de impedância eletroquímica / Giovana Calicchio Canova - Bauru, 2007.
132 p.: il.; 30 cm.

Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Pereira.

Autorizo exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial dessa tese, por processos fotocopiadores e/ou meios eletrônicos.

Assinatura da autora:

Data: 20 de setembro de 2007.

Comitê de Ética da FOB-USP

Processo n.º: 61/2004

Data: 26 de maio de 2004.

GIOVANA CALICCHIO CANOVA

15 de Maio de 1975

Nascimento

Guaxupé - MG

Valdemar Canova

Filiação

Ligia Maria Calicchio Canova

1994 - 1997

Curso de Graduação em Odontologia, na Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas.

1998 - 2000

Curso de Especialização em Endodontia, pelo Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais - Universidade de São Paulo.

2001 - 2003

Curso de Pós-Graduação em Endodontia, em nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Bauru - Universidade de São Paulo.

2003 - 2007

Curso de Pós-Graduação em Endodontia, em nível de Doutorado, na Faculdade de Odontologia de Bauru - Universidade de São Paulo.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS...

Agradeço a *Deus* pela vida e pela saúde.

Agradeço carinhosamente aos meus pais, *Valdemar e Ligia*
pelo amor incondicional, pela dedicação, pelos ensinamentos e
pelo apoio em toda minha vida.

Obrigada por estarem sempre ao meu lado, dando-me incentivo nos momentos difíceis e
compartilhando as alegrias e vitórias, sempre confiantes no meu potencial.

Amo vocês.

Às minhas irmãs *Marcela e Marina* pelo grande amor, afeto e amizade. Vocês são muito
especiais, agradeço a Deus por ter vocês na minha vida.

A toda a *minha família*, que eu admiro muito, agradeço pelo apoio e pelo exemplo de união

*"A família é abençoada escola de educação moral e espiritual.
É oficina santificante onde se burilam caracteres.
É laboratório superior em que se refinam ideais."
(Autor desconhecido)*

MEUS SINCEROS AGRADECIMENTOS...

Ao meu orientador *Prof. Dr. José Carlos Pereira* pelos ensinamentos, pelo apoio e pelo incentivo nas horas de dificuldade. Pelas idéias, orientações e sugestões que tornaram possível a concretização desse trabalho.

Ser mestre não é apenas lecionar. Ensinar não é apenas transmitir conhecimento. Ser mestre é ser humano e amigo, guia e companheiro, é caminhar junto. Ser mestre é ser exemplo de dedicação, de doação, de dignidade pessoal, de respeito. O senhor me proporcionou tudo isso. Muito obrigada.

À *Dona Eloisa Maria Pagani Pereira* pelo carinho e atenção com que me recebeu.

Ao *Prof. Dr. Ernesto Chaves Pereira*, meu co-orientador, agradeço pela atenção, pela paciência, pelos conhecimentos transmitidos e por ter gentilmente cedido o Laboratório Interdisciplinar de Eletroquímica e Cerâmica (LIEC) do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos, onde foram realizadas as medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica.

*"A mente que se abre a uma nova idéia
jamais volta ao seu tamanho original."
(Albert Einstein)*

AGRADEÇO...

À minha sempre amiga *Maria Cecília de Mattos*, pela amizade sincera,
pela dedicação, pelo seu constante apoio e otimismo.

Os meus queridos amigos *Leonardo Costa, Angélica Hannas e Marcela Calabria*
pela disponibilidade, pela amizade e
pelos agradáveis momentos que compartilhamos juntos.

À minha amiga *Adriana Lustosa Pereira* pela companhia, amizade e pela importante
ajuda na realização desse trabalho.

Aos amigos do LIEC, em especial ao *Leandro Pocrifka e ao Roberto de Matos* pela grande
contribuição no desenvolvimento desse trabalho; ao *Fábio Bento, Luciana Zidoi e Janaina*
Santos pela amizade e pelo carinho com que sempre me receberam.

Aos meus amigos do Departamento de Bioquímica *Prof. Dr. Rodrigo Cardoso*
de Oliveira, Ovídio, Thelma e Flávia pela constante ajuda.

Às amigas da Pós-Graduação *Glane, Leticia e Margareth* pelo
carinho, pela atenção e por toda ajuda.

A *todos os amigos* da Pós-graduação ou não, pela agradável convivência.

"A gente não faz amigos, reconhece-os."
(Vinicius de Moraes)

AGRADEÇO TAMBÉM...

Aos colegas de turma do Doutorado *Everdan, Renato, Fernanda, Rogério, Fábio, Viviane, Ulisses, Graziela e Silvana*.

Aos Professores do Departamento de Endodontia da FOB-USP *Prof. Dr. Clóvis Monteiro Bramante, Prof. Dr. Ivaldo Gomes de Moraes, Prof. Dr. Norberti Bernandineli e Prof. Dr. Roberto Brandão Garcia*.

Aos funcionários do Departamento de Endodontia *Edimauro, Dona Neide, Suely e Patrícia*.

Aos funcionários do Departamento de Dentística *Ângela, Rita, Maria, Mauro, Karen, Zuleica, Nelson e Sr. Dito*.

Aos funcionários da clínica de Pós-graduação *Cleuza, Hebe e Eduardo*.

À *Adriana* da assistência financeira pelo carinho e atenção.

Aos professores *Dr. Ricardo Marins de Carvalho e Dr. Vinícius Carvalho Porto* pela disponibilização do Centro Integrado de Pesquisa I (CIP) e aos funcionários *Dona Neuza e Marcelo*.

Aos funcionários do LIEC, principalmente ao *Ademir* da oficina de vidraria, que confeccionou a célula eletroquímica utilizada nos teste de impedância.

Às secretárias da Diretoria da FOB-USP *Eloísa e Valéria*.

A *todos os funcionários* da FOB-USP, pelo auxílio e dedicação.

Ao *Prof. Dr. José Roberto Pereira Lauris*, do Departamento de Saúde Coletiva, pela atenção e ajuda na realização da análise estatística desse trabalho.

À Comissão de Pós-Graduação da FOB-USP, na pessoa da Presidente *Prof.^a Dra. Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado*.

À Faculdade de Odontologia de Bauru, na pessoa do diretor *Prof. Dr. Luiz Fernando Pegoraro* e do vice-diretor *Prof. Dr. José Carlos Pereira*.

À *Capes* pela concessão da bolsa de Doutorado em Odontologia.

A *todos* que de uma maneira ou outra contribuíram para este trabalho.

MUITO OBRIGADA!!!

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	9
2.1 MORFOLOGIA, PERMEABILIDADE E HIPERESTESIA DENTINÁRIA.....	11
2.2 MECANISMO DA HIPERESTESIA DENTINÁRIA.....	15
2.3 AGENTES ANTI-HIPERESTÉSICOS.....	16
2.3.1 Fosfato de cálcio.....	16
2.3.2 Oxalato.....	18
2.4 SMEAR LAYER.....	19
2.5 MÉTODOS QUANTITATIVOS DE PERMEABILIDADE DENTINÁRIA.....	20
2.5.1 Condutividade hidráulica.....	22
2.5.2 Espectroscopia de impedância eletroquímica.....	25
2.6 ESTUDOS <i>IN VITRO</i> DE CONDUTIVIDADE HIDRÁULICA.....	36
2.7 ESTUDOS <i>IN VITRO</i> DE ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA.....	41
3 PROPOSIÇÃO.....	45
3.1 OBJETIVOS GERAIS.....	47
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	49
4.1 CONDUTIVIDADE HIDRÁULICA.....	51
4.1.1 Seleção dos dentes.....	51
4.1.2 Obtenção dos espécimes.....	51
4.1.3 Sistema de medição da condutividade hidráulica.....	52
4.1.3.1 Cilindro de nitrogênio.....	55
4.1.3.2 Câmara de pressão.....	56
4.1.3.3 Sistema de capilares de polietileno.....	56
4.1.3.4 Câmara de filtração.....	57
4.1.4 Padronização dos espécimes.....	58
4.1.5 Materiais.....	58
4.1.6 Testes de condutividade hidráulica.....	59
4.1.7 Obtenção dos resultados de condutividade hidráulica.....	60
4.1.8. Análise estatística.....	61
4.2 ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA.....	61
4.2.1 Seleção dos dentes e obtenção dos espécimes.....	61
4.2.2 Materiais.....	61
4.2.3 Sistema de medição da espectroscopia de impedância eletroquímica.....	62
4.2.3.1 Célula eletroquímica.....	62
4.2.3.2 Potenciostato e analisador de resposta em frequência.....	65
4.2.4 Testes de espectroscopia de impedância eletroquímica.....	65
4.2.5 Obtenção dos resultados de espectroscopia de impedância eletroquímica.....	67
4.2.6 Análise estatística.....	68

5 RESULTADOS.....	69
5.1 CONDUTIVIDADE HIDRÁULICA.....	71
5.2 ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA.....	73
6 DISCUSSÃO.....	77
6.1 DISCUSSÃO DA METODOLOGIA.....	79
6.1.1 Seleção dos dentes, armazenamento e tempo pós-extração.....	79
6.1.2 Obtenção dos discos de dentina.....	80
6.1.3 Permeabilidade mínima (<i>smear layer</i>) e máxima (condicionamento ácido).....	81
6.1.4 Métodos <i>in vitro</i>	83
6.1.4.1 Condutividade hidráulica.....	83
6.1.4.2 Espectroscopia de impedância eletroquímica.....	85
6.1.5 Materiais.....	88
6.2 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	90
7 CONCLUSÕES.....	97
ANEXOS.....	101
REFERÊNCIAS.....	107
ABSTRACT.....	121
APÊNDICES.....	125

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Duas ondas senoidais com diferença de fase.....	27
Figura 2 - Relação entre uma onda senoidal e o correspondente vetor girando no sentido anti-horário a uma velocidade angular de $2\pi f$ radianos/segundo.....	28
Figura 3 - Vetores representativos da diferença de fase entre potencial e corrente.....	29
Figura 4 - Relação entre potencial e corrente em um resistor, adaptado de Holliday; Resnick, 1991.....	31
Figura 5 - Relação entre potencial e corrente em um capacitor, adaptado de Holliday; Resnick, 1991.....	31
Figura 6 - Relação entre potencial e corrente em um indutor, adaptado de Holliday; Resnick, 1991.....	32
Figura 7 - Parte real Z' no eixo das abcissas e parte imaginária Z'' no eixo das ordenadas.....	33
Figura 8 - Diagrama de Nyquist.....	34
Figura 9 - Diagrama de Bode.....	35
Figura 10 - Representação gráfica dos componentes de um circuito elétrico.....	35
Figura 11 - Modelo de um circuito elétrico em série.....	36
Figura 12 - Desenho esquemático da célula eletroquímica utilizada por Pradelle-Plasse; Wenger; Colon, em 2002; Pradelle-Plasse <i>et al.</i> , em 2004a e 2004b: 1 - Disco de dentina; 2 - Anéis de borracha para vedamento; 3 - Eletrodo de platina.....	43
Figura 13 - Desenho esquemático do porta-amostra utilizado por Eldarrat; High; Kale, em 2004; Eldarrat <i>et al.</i> , em 2007.....	43
Figura 14 - A - Dente extraído fixado na base de resina com cera pegajosa; B - Realização do primeiro corte para a remoção da raiz; C - Segundo corte, paralelo ao primeiro, para a obtenção dos espécimes; D - Discos de dentina obtidos após o acabamento das superfícies; E - Componentes do sistema de medição da condutividade hidráulica: micro-seringa, régua milimetrada, câmara de filtração e câmara de pressão.....	53
Figura 15 - Desenho esquemático adaptado do sistema para medição da condutividade hidráulica da dentina utilizado por Pashley; Galloway, em 1985.....	55

Figura 16 - Desenho esquemático adaptado do sistema para medição de impedância utilizado por Pradelle-Plasse <i>et al.</i> , em 2002; Pradelle-Plasse <i>et al.</i> , em 2004a e 2004b.....	62
Figura 17 - A e B - Célula eletroquímica; B - Sistema eletroquímico; D - Célula montada para medição conectada ao potenciostato.....	63
Figura 18 - Circuito elétrico equivalente ao modelo eletroquímico estudado.....	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Materiais utilizados com suas respectivas composições e aparências.....	58
Tabela 2 - Valores médios em $\mu\text{L}/\text{min}$ e percentual médio e desvio padrão da L_p , para cada grupo nas condições testadas (Tukey, $p < 0,05$).....	72
Tabela 3 - Valores médios em Ohm e percentual médio e desvio padrão de $1/R$, para cada grupo nas condições testadas (Tukey, $p < 0,05$).....	75

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Valores médios de filtração (L_p), em percentagem, após condicionamento com ácido fosfórico, na presença da smear layer e após o tratamento com os agentes anti-hiperestésicos.....	73
Gráfico 2 - Valores médios de impedância ($1/R$), em percentagem, após condicionamento com ácido fosfórico, na presença da smear layer e após o tratamento com os agentes anti-hiperestésicos.....	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

%	- por cento
μm	- micrometro
pH	- potencial hidrogeniônico
μL	- microlitro
Lp	- condutividade hidráulica da dentina em $\mu\text{L cm}^{-2} \text{min}^{-1} \text{cm H}_2\text{O}$
μL/min	- microlitro por minuto
cm H₂O	- centímetro de água
cm²	- centímetro quadrado
EIE	- espectroscopia de impedância eletroquímica
CC	- corrente contínua
CA	- corrente alternada
θ	- ângulo de fase
Ω	- Ohm
Hz	- Hertz
Z	- impedância elétrica
 Z 	- módulo de Z
Z'	- resistência
Z''	- reatância
R	- resistor
C	- capacitor
EDTA	- ácido etileno diamino tetracético
°C	- grau Célcus
rpm	- rotação por minuto
mm	- milímetro
psi	- pound per square inch
FRA	- analisador de resposta em frequência
mV	- milivolt
KHz	- quilohertz

RESUMO

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi quantificar, *in vitro*, a permeabilidade da dentina tratada com dois agentes anti-hiperestésicos à base de oxalato e um à base de fosfato de cálcio, por meio de testes de condutividade hidráulica e de espectroscopia de impedância eletroquímica e, ainda, determinar se espectroscopia de impedância eletroquímica pode ser considerada um método alternativo para avaliar a capacidade obstrutiva de agentes anti-hiperestésicos. Para o teste de condutividade hidráulica foram utilizados vinte quatro discos de dentina, obtidos de terceiros molares humanos extraídos, que foram divididos em três grupos de oito espécimes, correspondentes aos três materiais testados: gel Experimental, Sensi Kill e BisBlock. Outros dezoito discos foram selecionados para o teste de espectroscopia de impedância eletroquímica, sendo divididos em três grupos de seis espécimes, correspondentes aos três agentes anti-hiperestésicos citados anteriormente. Para ambos os testes as medidas foram realizadas nas seguintes condições: na presença de *smear layer*, após condicionamento com ácido fosfórico a 37% e após a aplicação dos materiais na superfície oclusal dos discos de dentina. Com base na análise estatística dos resultados, verificou-se, por meio dos dois métodos utilizados, que o gel Experimental e o BisBlock apresentaram efeitos estatisticamente semelhantes na redução da permeabilidade e foram significativamente mais eficientes que o Sensi Kill. Pode-se concluir que os agentes anti-hiperestésicos Experimental e BisBlock mostraram-se efetivos na redução da permeabilidade dentinária, pelos dois métodos de avaliação, e que o método de espectroscopia de impedância eletroquímica pode ser considerado um método alternativo para a avaliação da capacidade obstrutiva de agentes anti-hiperestésicos.

Palavras-chave: Condutividade hidráulica. Fosfato de Cálcio. Hiperestesia dentinária. Impedância eletroquímica. Oxalato de potássio. Permeabilidade dentinária.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Dentina e a polpa, estruturas que formam o complexo dentinopulpar, atuam como uma entidade funcional única. Apesar das diferenças de estrutura e composição dessas duas entidades, são tecidos intimamente ligados de forma que reações fisiológicas e patológicas em um tecido também afetarão o outro (MJÖR, 2002).

A polpa dentária é um tecido altamente especializado, innervado e vascularizado, contido na cavidade pulpar, diretamente ligado ao sistema circulatório através do feixe vâsculo-nervoso que penetra pelo forame apical (NICHOLSON, 2001). Ele é responsável pela percepção de estímulos externos, sejam eles térmicos, táteis, químicos ou osmóticos e pela transmissão dessas sensações, na forma de dor (TROWBRIDGE; KIM, 1994), ao sistema nervoso central. Graças à função protetora manifesta através da dor, o indivíduo, mediante estímulos externos, é capaz de perceber alterações na superfície dentária (BYERS; NÄHRI, 1999).

A principal função da polpa é a produção de dentina. Durante a deposição da matriz responsável pela formação da dentina, os odontoblastos deixam nela aprisionados seus prolongamentos citoplasmáticos, formando verdadeiras vias de comunicação direta da dentina com a polpa através dos túbulos dentinários. Esta comunicação entre dentina e polpa é responsável pela formação, nutrição e defesa da dentina (PEREIRA *et al.*, 2004). A característica estrutural mais importante da dentina é a presença dos túbulos dentinários, responsáveis por sua permeabilidade. Assim, a permeabilidade dentinária é uma consequência direta da presença da densidade tubular, isto é, de sua quantidade e diâmetro por área específica (THOMAS, 1985).

Em condições normais, a dentina encontra-se recoberta pelo esmalte na região correspondente à coroa dentária e pelo cemento na porção radicular dos dentes. Esses

elementos naturais de proteção, diferentemente da dentina, não apresentam sensibilidade aos estímulos da cavidade bucal (PEREIRA, 1995). Quando, de alguma forma, esmalte e cemento são desgastados, a estrutura tubular e sensível da dentina passa a ser uma via de fácil transporte de substâncias da cavidade bucal para a polpa e vice versa (PASHLEY, 1990a). Dessa forma, em resposta aos estímulos externos, a dentina exposta ao meio bucal pode manifestar por meio de dor aguda, bem localizada e transitória, o que se convencionou chamar de hipersensibilidade dentinária (PASHLEY, 1993) ou, mais apropriadamente, hiperestesia dentinária (PEREIRA, 1995).

A hiperestesia dentinária pode ser definida como uma resposta exagerada ou uma dor transitória a partir da dentina exposta, tipicamente em resposta aos estímulos químicos, térmicos, táteis ou osmóticos, os quais não podem ser explicados por qualquer outro defeito ou patologia dental (ROSENTHAL, 1990). A teoria mais aceita atualmente para explicar o mecanismo da hiperestesia dentinária é a Teoria Hidrodinâmica. Ela defende o envolvimento das terminações nervosas neurosensitivas próximas da polpa na condução impulso doloroso, estimuladas pelo mecanismo hidrodinâmico (PASHLEY *et al.*, 1989). De acordo com esta teoria, os movimentos de deslocamento dos fluidos dentinários ou do conteúdo dos túbulos ocorrem em resposta ao estímulo tátil, térmico, químico ou osmótico. O rápido deslocamento de fluido no sentido da polpa ou em sentido contrário promove alterações na pressão intrapulpar e a conseqüente estimulação das terminações nervosas causando dor (BRÄNNSTRÖM; ASTRÖM, 1972). Com base no princípio da hidrodinâmica, qualquer situação que estabilize o movimento do fluido pulpodentinário fatalmente levará a uma correspondente redução da hiperestesia dentinária (PASHLEY, 1986). Assim, o tratamento da hiperestesia dentinária pode representar, via de regra, qualquer recurso que promova a obliteração ou selamento dos túbulos dentinários por meio de agentes que interagem com a dentina alterando sua permeabilidade (DOWELL; ADDY, 1983).

A ação anti-hiperestésica pela oclusão tubular engloba uma variedade de agentes que atuam fisiológica ou patologicamente mais do que terapeuticamente (PASHLEY, 1986). Segundo Holland, em 1994, o trânsito intratubular pode ser bloqueado de três maneiras: na superfície, pela *smear layer*, pela placa bacteriana, pela mineralização ou pela ação de agentes oclusivos, como sais de oxalato, fosfato de cálcio, etc.; na periferia, pela deposição da dentina peritubular e mais pulparmente, pela deposição de dentina terciária reacional ou reparadora.

Pashley *et al.*, em 1978, mostraram claramente que o grau de oclusão tubular está relacionado com a permeabilidade. Portanto, a utilização de métodos laboratoriais para a medição da permeabilidade dentinária é de grande valia. Um dos métodos já estabelecido para quantificar a permeabilidade dentinária é a condutividade hidráulica empregando discos de dentina montados em sistemas físicos de deslocamento hidráulico. Segundo Pashley, em 1990b, a condutividade hidráulica é o método mais conveniente para a medição da permeabilidade dentinária. A condutividade hidráulica de um tecido expressa a facilidade com que o fluido pode mover-se através dele, sob determinada pressão, num espaço de tempo (PASHLEY, 1994). Na dentina, a condutividade hidráulica é dependente de uma série de variáveis, tais como o comprimento dos túbulos, o número de túbulos por unidade superficial de área, a pressão aplicada, a viscosidade do fluido e o raio do túbulo elevado a quarta potência, que podem ser modificadas pela presença de *smear layer* e *smear plugs*, ou de qualquer outro agente de obstrução tubular, os quais terão reflexo na condutividade hidráulica e, conseqüentemente, na resposta sensorial da dentina (PASHLEY, 1990b; GILLAN; MORDAN; NEWMAN, 1997; MORDAN; BARBER; GILLAM, 1997).

Porém, Levinkind, Vandernoot e Elliott, em 1992, alegam que problemas podem ocorrer com a utilização do método de condutividade hidráulica para medir a permeabilidade dentinária e sugerem que, ao invés de medir o movimento do fluido, é preferível medir o movimento dos íons contidos em uma solução eletrolítica através da dentina por meio de

outros métodos como, por exemplo, a espectroscopia de impedância eletroquímica. A impedância indica a oposição total que um circuito oferece ao fluxo de uma corrente elétrica variável no tempo, numa dada gama de frequência (MCDONALD, 1987). Quanto maior a resistência à passagem de corrente, menor a permeabilidade.

A utilização da espectroscopia de impedância eletroquímica na medição da permeabilidade dentinária se deve ao fato de ser um método não invasivo (COSTER; CHILCOTT; COSTER, 1996; ELDARRAT; HIGH; KALE, 2004), não destrutivo e possibilitar a obtenção de valores quantitativos (LEVINKIND; VANDERNOOT; ELLIOTT, 1992; PRADELLE-PLASSE; WENGER; COLON, 2002; PRADELLE-PLASSE *et al.*, 2004a e 2004b; WADGAONKAR *et al.*, 2006; ELDARRAT *et al.*, 2007). A espectroscopia de impedância eletroquímica é um método de caracterização de propriedades elétricas, estrutural e funcional de vários sistemas, especialmente naqueles em que importantes processos ocorrem em nível molecular, como as membranas biológicas ou sintéticas e interfaces que se formam entre soluções e vários sólidos (COSTER; CHILCOTT; COSTER, 1996). É considerada a ferramenta mais potente descoberta nos últimos anos para avaliar interfaces de material (WADGAONKAR *et al.*, 2006).

No que diz respeito à dentina, alguns autores têm sugerido a espectroscopia de impedância eletroquímica para avaliar o efeito e a interação de diferentes materiais sobre esse substrato dentário (LEVINKIND; VANDERNOOT; ELLIOTT, 1992; PRADELLE-PLASSE; WENGER; COLON, 2002; PRADELLE-PLASSE *et al.*, 2004a; ELDARRAT; HIGH; KALE, 2004). Entretanto, não há referência na literatura sobre a viabilidade do emprego desse método na aferição do potencial obstrutivo de agentes anti-hiperestésicos.

Tendo em vista a freqüente disponibilização no mercado odontológico de novos materiais destinados ao tratamento da hiperestesia baseados na obliteração dos túbulos dentinários e, também, da necessidade de se conhecer a aplicabilidade de novos métodos de avaliação desse efeito *in vitro*, o presente estudo tem como propósito avaliar o efeito de

três agentes anti-hiperestésicos, dois à base de oxalato e um à base de fosfato de cálcio, na obstrução dos túbulos dentinários por meio de dois métodos quantitativos da permeabilidade dentinária: condutividade hidráulica e espectroscopia de impedância eletroquímica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MORFOLOGIA, PERMEABILIDADE E HIPERESTESIA DENTINÁRIA

A polpa dentária, constituída de 75% de água e 25% de matéria orgânica, é um tecido conjuntivo frouxo, ricamente vascularizado e celularizado, estando circunscrita e protegida pela dentina. Na região periférica existem os odontoblastos, seguidos de uma zona praticamente acelular (basal ou acelular de Weil) e da zona rica em células (fibroblastos, células mesenquimais indiferenciadas, histiócitos e linfócitos). A região central é rica em vasos sanguíneos e fibras nervosas de função sensorial (fibras mielínicas) e mecânica (fibras amielínicas) (SELTZER; BENDER, 1975). A transmissão de estímulos ocorre através das fibras sensoriais que adentram o tecido pulpar pelo forame apical ou canais acessórios e seguem, principalmente, o trajeto dos vasos sanguíneos (MJÖR, 2002).

Em condições normais, a polpa apresenta uma elevada capacidade de defesa, cicatrização e reparo e, em virtude de suas terminações nervosas sensoriais, todos os estímulos aplicados sobre o complexo dentinopulpar, independente de sua natureza ou intensidade, são traduzidos como dor (PEREIRA; SEGALA, 2002). Entretanto, a função principal da polpa é a produção de dentina.

A dentina completamente maturada é constituída de aproximadamente 65%, em peso, de matéria inorgânica, praticamente toda na forma de hidroxiapatita (TROWBRIDGE; KIM, 1994). A matéria orgânica da dentina é basicamente composta de 20% de colágeno, 2% de proteoglicanas, glicosaminoglicanas, glicoproteínas e lipídeos e 13% de água (MJÖR, 2002). Em volume, esta relação é de 45% de matéria inorgânica, 33% de conteúdo orgânico e 22% de água (NICHOLSON, 2001).

A principal característica morfológica da dentina é sua estrutura tubular preenchida por fluido, conectando a polpa à junção amelodentinária (PASHLEY *et al.*, 1989), sendo a

permeabilidade dentinária, uma consequência direta da presença dos túbulos dentinários. Eles ocupam 20% a 30% do substrato em volume e são os canais responsáveis pela difusão de fluidos através da dentina (TROWBRIDGE; KIM, 1994). Encontram-se dispostos radialmente, tendo seu maior diâmetro voltado para a câmara pulpar (GARBEROGLIO; BRÄNNSTRÖM, 1976). Portanto, à medida que se aumenta a proximidade da dentina com a polpa, maior a densidade de túbulos dentinários por área delimitada, maior o diâmetro dos túbulos e maior a permeabilidade dentinária (TROWBRIDGE; KIM, 1994).

As paredes dos túbulos e suas ramificações são revestidas pela dentina peritubular, que é mais mineralizada do que a dentina intertubular e possui menos matriz orgânica. Quando a dentina está exposta ao meio bucal, seu metabolismo é caracterizado pela deposição gradativa de componentes minerais e orgânicos do fluido pulpodentinário ao longo das paredes internas dos túbulos, aumentando a espessura da dentina peritubular e reduzindo a permeabilidade dentinária (MJÖR, 1967). O fluido intersticial da câmara pulpar está sob uma pequena, porém significativa, pressão positiva que provoca uma lenta filtração do fluido a partir da polpa, através dos túbulos para a superfície da dentina exposta. O fluido dentinário apresenta uma composição típica de fluido extracelular, com alta concentração de íons sódio, baixa quantidade de íons potássio, proteínas plasmáticas e, ainda, é saturado em íons cálcio e fosfato. Quando há uma exposição de túbulos dentinários, espera-se que reações físico-químicas espontâneas ocorram após alguns dias ou semanas, de tal maneira que sais de fosfato de cálcio se depositem dentro dos túbulos dentinários, formando dentina peritubular e diminuindo o diâmetro do túbulo ou, então, precipitando cristais fosfato de cálcio intratubularmente, dificultando o movimento do fluido e tornando a dentina menos permeável e menos sensível (COFFEY; INGRAM; BJORNDALL, 1970). Essa mineralização intratubular, distinta da dentina peritubular, é um fator significativo na obstrução dos túbulos dentinários, ocorrendo predominantemente em resposta a estímulos externos e,

incontestavelmente, tem efeito na redução da permeabilidade dentinária (STANLEY; PEREIRA; SPIEGEL, 1983).

A hiperestesia dentinária é freqüentemente definida como sendo uma resposta exagerada a estímulos sensoriais relacionada à exposição da dentina ao meio bucal (BISSADA, 1994). Essa exposição pode ser resultante da perda de esmalte e/ou cemento formando geralmente lesões não cariosas originadas por abrasão, erosão, atrição, abfração ou pela associação desses fatores, e, também, por desnudamento da superfície radicular por recessão gengival ou tratamento periodontal (PEREIRA, 1995). Considera-se abrasão a perda de substância dentária por ação mecânica como, por exemplo, a escovação dos dentes. Erosão corresponde à perda de estrutura dentária decorrente de um processo químico ou idiopático, sem a presença de bactérias (ECCLES, JENKINS, 1974). Já a atrição pode ser definida como o desgaste fisiológico das superfícies dentárias pela ação funcional e parafuncional da mastigação, como consequência do contato dente a dente (LEE; EAKLE, 1996). E, ainda, é considerada abfração, a perda patológica de tecido duro de uma região do dente distante da atingida por forças biomecânicas (GRIPPO, 1991). Portanto, a hiperestesia dentinária é considerada uma ocorrência clínica de origem multifatorial (PEREIRA, 1995).

A hiperestesia dentinária afeta entre 10 % e 20 % da população, sendo a prevalência similar em várias partes do mundo. É mais comum em caninos e pré-molares, mas pode acometer qualquer dente, ocorrendo quase que exclusivamente na face vestibular (ORCHARDSON *et al.*, 1994). Convém ressaltar que qualquer local da dentina exposta pode exibir hiperestesia, mas nem toda dentina exposta é hiperestésica (CHABANSKI *et al.*, 1996), a exemplo do que ocorre em aproximadamente 10% dos indivíduos, nos quais o esmalte e o cemento não se encontram, deixando uma região de dentina cervical exposta, mas não necessariamente hiperestésica (WICHGERS; EMERT, 1996).

O diagnóstico da hiperestesia dentinária deve coincidir com as seguintes características: dor localizada e aguda de origem não patogênica; perda de esmalte e/ou cimento; resposta variável aos estímulos térmicos, químicos e táteis; controle com agentes anti-hiperestésicos e sem evidências radiográficas de patologia apical. Além disso, a dor é recorrente e pode desaparecer temporariamente sem qualquer tratamento, possui intensidade variável nos diferentes dentes e indivíduos, estando, ainda, relacionada ao grau de tolerância e aos fatores emocionais de cada paciente (PEREIRA, 1995).

A redução da hiperestesia dentinária pode se dar naturalmente pela formação de cálculos sobre túbulos, cristais intratubulares provenientes do fluido dentinário ou de minerais salivares, dentina peritubular (dentina esclerosada), cárie, invasão dos túbulos por bactéria, *plugs* de colágeno, infiltração de proteínas plasmáticas volumosas para o interior dos túbulos e formação de dentina terciária ou reparadora (PASHLEY, 1986). Terapeuticamente, a hiperestesia pode ser reduzida pela produção de *smear layer*, por escovação, etc. ou através de agentes anti-hiperestésicos (PASHLEY, 1986). Estes podem ser classificados, de acordo com seu suposto mecanismo de ação, em agentes de ação antiinflamatória (BISSADA, 1994), agentes que despolarizam as terminações nervosas e agentes de efeito oclusivo sobre os canalículos dentinários (PASHLEY, 1986). Estes últimos podem atuar através da precipitação de proteínas, deposição de partículas, aplicação de uma película impermeabilizadora, procedimentos restauradores e por intermédio da luz laser (PEREIRA, 1995).

A formação e deposição de partículas podem ser obtidas pela brunidura (PASHLEY; LEIBACH; HORNERT, 1987), pelo hidróxido de cálcio (PASHLEY; KALATHOOR; BURNHAM, 1986), pelo cloreto de estrôncio (KANAPKA, 1990) pelos compostos fluoretados (GREENHILL; PASHLEY, 1981; PASHLEY, 1986), além do fosfato de cálcio (TUNG *et al.*, 1993; ISHIKAWA *et al.*, 1994; KAWASAKI *et al.*, 1996; TUNG *et al.*, 1997; SUGE *et al.*, 1995; SUGE *et al.*, 1999; CHERNG; CHOW; TAKAGI, 2004) e do oxalato, que se comporta

tipicamente, obstruindo ou reduzindo o lúmen dos túbulos dentinários (PASHLEY *et al.*, 1984; PASHLEY; GALLOWAY, 1985; MONGIORGI *et al.*, 1992; SIMPSON *et al.*, 1992; MONGIORGI; PRATI, 1994; MONGIORGI; PRATI; FERRIERI, 1994; SUGE *et al.*, 1995; ZHANG *et al.*, 1998; GILLAN, 2001; PASHLEY *et al.*, 2001; PEREIRA; MARTINELI; TUNG, 2002; TAY *et al.*, 2003; PEREIRA; SEGALA; GILLAM, 2005; SANTIAGO; PEREIRA; MARTINELI, 2006; YIU *et al.*, 2005; YIU *et al.*, 2006; SADEK *et al.*, 2007).

2.2 MECANISMO DA HIPERESTESIA DENTINÁRIA

Apesar da hiperestesia dentinária não ser um fenômeno recente e nem raro, seu mecanismo é pobremente compreendido (PEREIRA; SEGALA; GILLAM, 2005). A Teoria Hidrodinâmica é a mais aceita para explicar esse mecanismo (BRÄNNSTRÖM; LINDEN; ASTRÖM, 1967; BRÄNNSTRÖM; ASTRÖM, 1972). De acordo com essa teoria, alguns estímulos provocam o rápido deslocamento dos fluidos, em qualquer direção através dos túbulos, ativando os mecanorreceptores das fibras nervosas pulpares, gerando a transmissão ao sistema nervoso central de um impulso que é instantaneamente percebido como dor. Em função dessa teoria foi possível entender o porquê de estímulos de natureza tão diferentes, principalmente mecânicos, térmicos, osmóticos e hidrostáticos, aparentemente não relacionados, causarem dor (PASHLEY *et al.*, 1989).

Esmalte e cemento são estruturas importantes que estão relacionadas ao mecanismo da hiperestesia dentinária, pois protegem a dentina da exposição ao meio bucal e impedem a movimentação do fluido no interior dos túbulos dentinários, seja em direção a polpa ou em sentido contrário. Segundo Brännström e Aström, em 1972, o movimento do fluido dentinário para o exterior dos túbulos é mais responsável pelo aparecimento da dor do que o deslocamento em direção à polpa.

Com base no princípio da hidrodinâmica, qualquer diminuição no movimento do fluido dentinário, fatalmente levará a uma correspondente redução da hiperestesia. Deste

modo, o objetivo do tratamento da hiperestesia dentinária deve ser a restauração da impermeabilidade original dos túbulos (PASHLEY, 1986).

2.3 AGENTES ANTI-HIPERESTÉSICOS

São inúmeros os agentes e as terapias preconizados para o tratamento da hiperestesia dentinária, o que denota, em princípio, que nenhum deles é completamente eficaz para tal finalidade (PEREIRA, 1995). Segundo Grossman, em 1935, algumas características devem ser consideradas no momento de se escolher um agente anti-hiperestésico dentinário, como: ser de fácil aplicação; promover efeito imediato e duradouro; não ser irritante à polpa; ser bem tolerado pelo paciente; não manchar o dente e ser de baixo custo.

Dentre os agentes de efeito oclusivo sobre os canalículos dentinários que atuam por deposição de partículas, encontram-se o fosfato de cálcio e os oxalatos.

2.3.1 Fosfato de cálcio

Levando em consideração que o fosfato de cálcio é o principal componente da dentina, Suge *et al.*, em 1995, e Kawasaki *et al.*, em 1996, consideraram natural que os túbulos fossem ocluídos com este mineral. Então, sugeriram o método de precipitação da solução de fosfato de cálcio, acidificada com ácido fosfórico, seguida pela neutralização com uma solução básica, à base de fluoreto e hidróxido de sódio, para o tratamento da hiperestesia dentinária, e verificaram que o método tem potencialidade. Ishikawa *et al.*, em 1994, verificaram a precipitação imediata do fosfato di-cálcio di-hidratado, atingindo uma profundidade de 10 a 15 µm no interior dos túbulos, reduzindo imediata e significativamente a permeabilidade dentinária através da oclusão dos túbulos dentinários, comprovando assim o potencial do método de precipitação do fosfato de cálcio.

O papel do fluoreto de sódio, segundo Kawasaki *et al.*, em 1996, é alterar o precipitado de fosfato di-cálcio di-hidratado para um mineral apatítico. No ambiente *in vivo*, devido ao fluxo de fluido dentinário e a pressão pulpar, há a possibilidade do fosfato di-cálcio di-hidratado ser dissolvido e se perder. Sendo assim é desejável que o precipitado se transforme em fluorhidroxiapatita por ser mais resistente à dissolução ácida. De acordo com Suge *et al.*, em 1999, a concentração de cálcio e fosfato no precipitado é maior quando o fluoreto de sódio está presente na solução pós-tratamento. Em 1996, Kawasaki *et al.* chegaram à mesma conclusão após adicionarem hexafluorsilicato na solução de fosfato de cálcio com a intenção de evitar que o mineral apatítico fosse formado não apenas na superfície dentinária, mas também no interior dos túbulos dentinários.

Suge *et al.*, em 1995, verificaram que, após o tratamento da dentina com o método de precipitação de fosfato de cálcio, a permeabilidade permanecia baixa, mesmo após um período de imersão em saliva sintética. A questão foi compreendida após a imersão de um precipitado de apatita num volume fixo de saliva sintética, demonstrando que a concentração de íons cálcio e fosfato na saliva havia diminuído, indicando a mineralização do fosfato de cálcio no precipitado apatita. Assim, o método de precipitação do fosfato de cálcio teria um efeito contínuo de redução da permeabilidade dentinária no ambiente oral.

Em 1993, Tung *et al.* constataram que soluções com alta concentração de fosfato de cálcio e alto pH reduzem a permeabilidade dentinária. Ainda Tung *et al.*, em 1997, demonstraram que a rápida mineralização do fosfato de cálcio amorfo pode ser alcançada após a aplicação das soluções de cloreto de cálcio e fosfato de potássio. *In vivo*, observaram a redução da hiperestesia dentinária, e *in vitro*, a formação de fosfato de cálcio na superfície da dentina e a diminuição da permeabilidade.

2.3.2 Oxalato

A utilização de oxalatos para proteger o esmalte do ataque ácido teve início em 1945. Os depósitos de oxalato de cálcio foram percebidos, posteriormente, quando os oxalatos eram adicionados à água de beber ou à comida. Pode-se concluir que os ácidos oxálicos foram mais efetivos do que os fluoretos na prevenção *in vivo* da dissolução do esmalte por ácidos. Entretanto, apesar do oxalato ser efetivo na redução da solubilidade do esmalte tanto *in vivo* quanto *in vitro*, seu efeito na dentina ainda não tinha sido examinado (PASHLEY; GALLOWAY, 1985).

O oxalato de potássio pode ser apresentado como uma droga de efeito oclusivo sobre a dentina, embora tenha sido sugerida a possibilidade da sobreposição de um efeito neural, caracterizando dois efeitos distintos na redução da hiperestesia dentinária, um mediato e outro imediato. O bloqueio dos túbulos por cristais caracteriza o efeito mediato e a despolarização neural, o efeito anti-hiperestésico imediato do oxalato de potássio (MUZZIN; JOHNSON, 1989).

O mecanismo de ação do oxalato através da obstrução ou redução do lúmen dos túbulos dentinários se faz por meio da formação e deposição de cristais de oxalato de cálcio em presença de meio ácido. O oxalato reage com o cálcio ionizado da dentina e do fluido dentinário e promove a deposição de cristais de oxalato de cálcio na superfície dentinária e/ou no interior dos canalículos, bloqueando as embocaduras dos túbulos tão eficientemente quanto a *smear layer* original, reduzindo de forma significativa a permeabilidade própria dessa estrutura (PASHLEY; GALLOWAY, 1985; PASHLEY *et al.*, 1989; PEREIRA, 1995).

O efeito neural é devido à difusão do potássio através dos túbulos, aumentando a concentração deste íon extracelularmente, ao redor das terminações nervosas próximas ao limite pulpodentinário, alterando as trocas normais de sódio e potássio que são essenciais para a transmissão do impulso nervoso, tornando-as menos excitáveis (KIM, 1986; STEAD; ORCHARDSON; WARREN, 1996). Os materiais à base de oxalato, independentemente da

sua forma de ação, têm se destacado em razão dos ótimos resultados obtidos através de estudos tanto *in vitro* quanto *in vivo* (MUZZIN; JOHNSON, 1989).

Em 1995, Suge *et al.* observaram que após o tratamento da dentina com oxalato de potássio, a permeabilidade aumentou gradualmente com o tempo de imersão em saliva sintética, diferente do que ocorreu com o fosfato de cálcio. O aumento da permeabilidade dentinária foi explicado após a imersão do oxalato de cálcio num volume fixo de saliva sintética, onde verificaram uma grande concentração de íons oxalato, indicando dissolução do oxalato de cálcio na saliva, aumentando assim, a permeabilidade dentinária.

Quando o oxalato de cálcio é imerso em saliva sintética, sua dissolução parcial deixa a solução em equilíbrio, não havendo dissoluções futuras. No entanto, no ambiente oral, o oxalato de cálcio entra em contato continuamente com nova saliva, que não contém íons oxalato. Portanto, a dissolução permanece lenta e constante (SUGE *et al.*, 1995). Essas observações são comprovadas por KERNS *et al.*, em 1991, que confirmam que o oxalato de potássio reduz a hiperestesia dentinária significativamente, porém, seu efeito tem duração relativamente curta.

2.4 SMEAR LAYER

A *smear layer*, camada formada por pequenas partículas amorfas de dentina, minerais e matriz orgânica, que se deposita sobre a embocadura dos túbulos dentinários após o corte da superfície da dentina (PASHLEY; LIVINGSTON, 1978), é considerada um mecanismo de oclusão tubular.

Clinicamente, a *smear layer* é proveniente de desgaste, escovação, aglomerações de proteínas, placa, etc. Durante a glicólise, os microorganismos da placa dental podem produzir ácidos orgânicos suficientes para causar a dissolução da *smear layer*, assim como os ácidos da dieta também são capazes de removê-la (PASHLEY *et al.*, 1987). Portanto, a

longevidade da *smear layer* depende, provavelmente, das condições de sua criação e de seu ambiente (ABSI; ADDY; ADAMS, 1987).

Vários estudos têm indicado que a permeabilidade dentinária é reduzida pela *smear layer* (PASHLEY; LIVINGSTON, 1978; REEDER *et al.*, 1978; PASHLEY *et al.*, 1981; PASHLEY; THOMPSON; STEWART, 1983; LEVINKIND; VANDERNOOT; ELLIOTT, 1992; PRADELLE-PLASSE; WENGER; COLON, 2002; ELDARRAT; HIGH; KALE, 2004). Em 1978, Pashley, Livingston e Greenhill quantificaram em 86,44 % a resistência total que a *smear layer* oferece ao movimento do fluido através da dentina. Por outro lado, quando a *smear layer* é perdida ou removida, a dentina exposta se torna mais permeável e sensível (JOHNSON; BRÄNNSTRÖM, 1974; PASHLEY; MICHELIN; KEHL, 1981).

Garberoglio e Brännström, em 1976, investigando a caracterização da composição química da *smear layer*, verificaram que os resíduos formados durante a sua criação são forçados para o interior dos túbulos dentinários a várias distâncias, constituindo o que se chama de *smear plug*. Segundo Brännström e colaboradores, em 1979, o ideal seria a remoção da *smear layer* sem, no entanto, remover os *smear plugs*, porém, essa condição é difícil de ser alcançada clinicamente. Sabe-se ainda que a remoção da *smear layer* pelo condicionamento ácido não provoca injúria à polpa (BRÄNNSTRÖM, 1982), principalmente se forem ácidos fracos por curtos períodos de tempo.

2.5 MÉTODOS QUANTITATIVOS DE PERMEABILIDADE DENTINÁRIA

A grande maioria das evidências sobre os mecanismos da hiperestesia dentinária e do modo de ação de vários agentes na dentina provém de estudos *in vitro*. Estes estudos envolvem a preparação de espécimes, principalmente em dentina coronária, que são subsequentemente avaliados quantitativa e/ou qualitativamente. A importância dos testes laboratoriais em relação aos clínicos foi enfatizada por Sena, em 1990, sobretudo pela dificuldade de manejo e seleção dos pacientes, diagnóstico diferencial e efeito placebo.

Gillam, Mordan e Newman, em 1997, ressaltaram que todas as técnicas têm benefícios e limitações, portanto, os resultados devem ser sempre tratados com cautela, especialmente quando se refere à extrapolação clínica.

Com base na fisiologia das membranas, Pashley, Livingston e Whitford, em 1979, relataram que existem três coeficientes independentes para mensurar quantitativamente a permeabilidade de uma membrana ou barreira: condutividade hidráulica, coeficiente de permeabilidade dos solutos e coeficiente de reflexão dos solutos. A condutividade hidráulica quantifica a facilidade com que o fluido se desloca sob pressão hidrostática ou osmótica. O coeficiente de permeabilidade mensura a facilidade com que os solutos se difundem, sob gradientes de concentração química, na ausência do deslocamento de corpo do fluido. E o coeficiente de reflexão define a relação entre a permeabilidade do soluto e solvente, isto é, proporciona uma medição quantitativa da habilidade de uma membrana discriminar entre a difusão da água e a difusão de solutos.

Segundo Pashley, em 1990b, as medições da permeabilidade dentinária por difusão, utilizando traçadores radioativos ou não, apesar de eficientes, consomem muito tempo, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Portanto, considera a condutividade hidráulica o método mais conveniente para a medição da permeabilidade dentinária. Entretanto, em 1992, Levinkind, Vandernoot e Elliott relataram que problemas podem ocorrer com a utilização do método de condutividade hidráulica para medir a permeabilidade da dentina: o conteúdo tubular inserido frouxamente ou desinserido pode se deslocar, se compactar e impedir o fluido laminar da água dentro dos túbulos devido à rugosidade das paredes. Além disso, quando usado para avaliar o efeito da *smear layer* na permeabilidade, os resultados podem ser inválidos se a *smear* sobre os túbulos, em um dos lados do espécime, for forçada para dentro deles. Em vez de medir a permeabilidade por condutividade hidráulica, que envolve volume do movimento do fluido, os autores sugerem medir o movimento de íons contidos em uma solução eletrolítica por meio de condutividade eletrolítica utilizando o método de

espectroscopia de impedância eletroquímica. Quando um disco de dentina é hidratado com solução eletrolítica, sua condutividade será devida principalmente ao movimento de íons que percorrem a solução dentro dos túbulos dentinários. A solução é necessária pois o material que a dentina é formada não é eficaz como condutor. Assim, medidas de impedância na dentina totalmente hidratada irão fornecer informações quantitativas sobre a permeabilidade. Como não há movimento do fluido quando essas medidas são realizadas, conseqüentemente não há ruptura do conteúdo tubular e nem a *smear layer* poderá falsear os resultados (LEVINKIND; VANDERNOOT; ELLIOTT, 1992).

Vários autores relatam que a vantagem de se utilizar a espectroscopia de impedância eletroquímica na medição da permeabilidade dentinária se deve principalmente ao fato de ser um método não invasivo (COSTER; CHILCOTT; COSTER, 1996; ELDARRAT; HIGH; KALE, 2004; WADGAONKAR *et al.*, 2006), não destrutivo e possibilitar a obtenção de valores quantitativos (PRADELLE-PLASSE; WENGER; COLON, 2002; PRADELLE-PLASSE *et al.*, 2004a e 2004b; ELDARRAT *et al.*, 2007). Além disso, as medidas de impedância não são afetadas nem pela pressão, como a condutividade hidráulica, nem pela concentração de gradientes e nem pelo tamanho das moléculas, como o método de difusão de isótopos radioativos. E, ainda, são precisas, rápidas e fáceis de serem realizadas quando comparadas as medidas de condutividade hidráulica e difusão, que são menos reproduzíveis e requerem períodos de tempo mais longos (FAYAD; CARTER; LIEBOW, 1996). E, como as medidas de eletrocondutividade não são destrutivas, cada amostra pode ser usada como seu próprio controle (FAYAD; CARTER; LIEBOW, 1996; PRADELLE-PLASSE *et al.*, 2004b).

2.5.1 Condutividade hidráulica

Uma ilimitada linha de pesquisa utilizando a condutividade hidráulica iniciou-se quando Outhwaite, McKenzie e Pashley, em 1974, planejaram uma câmara de medição para estudar a permeabilidade dentinária de dentes extraídos.

A câmara mede o índice do movimento do fluido através da dentina, por meio do progresso de uma pequena bolha de ar no interior de um capilar de vidro, sobre uma régua milimetrada, geralmente do lado pulpar em direção a superfície. Dependendo do tamanho do capilar, 1 μm de deslocamento da bolha equivale a um volume 0,38 μL , num capilar de 25 μL . Para a realização das medições, também é necessário um tubo de polietileno e uma micro-seringa para ajustar a posição da bolha de ar no capilar, um cronômetro e um reservatório pressurizado. A câmara de medição permite a padronização de variáveis importantes como área de superfície para a filtração ou difusão (PASHLEY, 1990a).

A condutividade hidráulica refere-se à facilidade com que o fluido se movimenta através dos túbulos dentinários. Por definição, condutividade hidráulica traduz a facilidade com que o fluido, sob determinada pressão hidrostática ou osmótica, pode passar pela dentina (PASHLEY, 1994).

A condutividade hidráulica (L_p) expressa em $\mu\text{L cm}^{-2} \text{min}^{-1} \text{cm H}_2\text{O}$, é o resultado do quociente entre a filtração dentinária (Q) e a pressão hidrostática (P) multiplicada pela área de superfície dentinária exposta (SA), e pode ser representada por:

$$L_p = \frac{Q}{P(SA)} \quad (1)$$

onde:

- L_p = condutividade hidráulica da dentina em $\mu\text{L cm}^{-2} \text{min}^{-1} \text{cm H}_2\text{O}$
- Q = índice de filtração em $\mu\text{L min}^{-1}$
- SA = área da superfície dentinária em cm^2
- P = diferença da pressão hidrostática através da dentina em $\text{cm H}_2\text{O}$

Tendo o capilar utilizado para medir o índice de filtração (Q) diâmetro constante, dividindo o volume do capilar (25 µL) pelo seu comprimento (65 mm), obtém-se uma proporcionalidade constante, que relacionada com a distância percorrida pela bolha (X mm) e o tempo gasto para tal (Y minutos), converte o deslocamento linear em volume deslocado. Este cálculo pode ser obtido através da equação (REEDER *et al.*, 1978):

$$Q = \frac{25 \mu L \cdot (x) \text{ mm}}{65 \text{ mm} \cdot (y) \text{ min}} \quad (2)$$

A pressão hidrostática (P) deve ser convertida em cm H₂O antes de se calcularem os valores de condutividade hidráulica e mantida constante durante todo o experimento. A área de superfície (SA), determinada pelo diâmetro do espaçador da câmara e selecionada dependentemente das dimensões dos discos de dentina disponíveis, pode ser padronizada em 0,178 ou 0,282 cm².

Com a intenção de simplificar os cálculos de condutividade hidráulica e percebendo que parâmetros como a pressão, o calibre e o volume do capilar são constantes durante toda a experimentação, os cálculos preliminares incluindo esses valores podem ser pré-definidos em duas equações específicas de acordo com a área de superfície. Sendo assim, quando a área de superfície dentinária exposta pelo espaçador for de 0,282 cm², deve ser utilizada a equação 3 para o cálculo da L_p, e para o espaçador menor, de 0,178 cm², a equação 4 (SEGALA, 2000):

$$L_p = \frac{0,0019398155 \cdot (x) \text{ mm}}{(y) \text{ min}} \quad (3)$$

$$L_p = \frac{0,0030731909 \cdot (x) \text{ mm}}{(y) \text{ min}} \quad (4)$$

2.5.2 Espectroscopia de impedância eletroquímica

A espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) tem sido apontada como um método de grande eficácia no estudo de processos interfaciais.

É um método de caracterização de processos eletroquímicos que permite estudar o comportamento de um sistema quando um número grande de processos correlacionados ocorre em diferentes velocidades. Atualmente, é utilizado em vários estudos, abrangendo desde o transporte eletrônico em dispositivos semicondutores até o estudo de processos cinéticos eletroquímicos das mais diferentes naturezas (CARVALHO; ANDRADE; BUENO, 2006) como, por exemplo, a difusão.

Frequentemente, sua escolha depende dos objetivos experimentais, seja para estabelecer um mecanismo de reação como testar um modelo ou determinar os parâmetros cinéticos de um mecanismo previamente estabelecido ou conhecido. Contudo, devido a não linearidade das respostas obtidas, para a grande maioria dos sistemas experimentais, lidar com as respostas da interface para um sinal de grande amplitude é frequentemente inviável. Portanto, em geral, sinais de pequena amplitude devem ser utilizados, uma vez que estes levam as respostas lineares. Mesmo limitando a variação da frequência, a resposta do sistema em função do tempo, ainda é bastante complexa, uma vez que a sobreposição destas ocorre de forma bem comum. As expressões matemáticas das respostas em função de frequência são geralmente mais simples e isto permite tratar mais facilmente os resultados experimentais para a obtenção dos parâmetros cinéticos desejados (CARVALHO; ANDRADE; BUENO, 2006).

A Lei de Ohm descreve a relação entre potencial, resistência e corrente em um circuito resistivo em série, onde a resistência independe da diferença de potencial aplicada. (HOLLIDAY; RESNICK, 1991; MCDONALD, 1987). É expressa por:

$$E = R \cdot I \quad (5)$$

onde:

- E = Diferença de potencial ou tensão elétrica (Volt)
- R = Resistência (Ohm)
- I = Intensidade da corrente ou corrente elétrica (Ampère)

Tensão elétrica é a diferença de potencial elétrico entre dois pontos. Sua unidade de medida é o Volt.

Para facilitar o entendimento do que seja a tensão elétrica pode-se fazer uma comparação desta com a pressão hidráulica. Quanto maior a diferença de pressão hidráulica entre dois pontos, maior será o fluxo, caso haja comunicação entre estes dois pontos. O fluxo (que em eletrodinâmica seria a corrente elétrica) será assim uma função da pressão hidráulica (tensão elétrica) e da oposição à passagem do fluido (resistência elétrica).

A Lei de Ohm é aplicada em circuitos de corrente contínua (CC). Em circuitos de corrente alternada (CA), onde a frequência não é zero, substitui-se o uso da resistência pela impedância (HOLLIDAY; RESNICK, 1991; MCDONALD, 1987):

$$E = Z \cdot I \quad (6)$$

onde:

- Z = Impedância elétrica (Ohm)

A impedância elétrica indica a oposição total que um circuito oferece ao fluxo de uma corrente elétrica variável no tempo numa dada frequência. O princípio da técnica consiste

em aplicar uma perturbação de pequena amplitude, sob a forma de um potencial senoidal, a uma célula eletroquímica, e medir a corrente alternada (CA) que atravessa essa célula. (POCRIFKA, 2005). É claro, que o contrário também pode ser utilizado, isto é, perturbar o sistema com corrente alternada e medir o potencial de saída

Em um sistema linear, a resposta da corrente para um potencial senoidal será uma onda senoidal naquela frequência, mas geralmente fora de fase, isto é, em atraso ou adiantamento com respeito à função de perturbação. A diferença de fase é chamada de ângulo de fase (θ) (HOLLIDAY; RESNICK, 1991) (**Figura 1**).

Fonte: Fernandes, J.C. Disponível em <[http://www.cetec.br/eventos/Capitulo1A\(2002\).pdf](http://www.cetec.br/eventos/Capitulo1A(2002).pdf)>

Figura 1- Duas ondas senoidais com diferença de fase.

Frequência é uma grandeza física associada a movimentos de característica ondulatória que indica o número ciclos por unidade de tempo. Alternativamente, podemos medir o tempo decorrido por um ciclo. Este tempo em particular recebe o nome de período (t). Desse modo, a frequência é o inverso do período. A unidade de frequência é o Hertz (Hz), que é definido como um ciclo por segundo (HOLLIDAY; RESNICK, 1991):

$$F = 1 / t \quad (7)$$

O comprimento ou pico de uma onda senoidal é chamado de amplitude (E_0). Um potencial puramente senoidal pode ser expresso como uma função do tempo da seguinte forma (HOLLIDAY; RESNICK, 1991):

$$E = E_0 \text{ sen } (\omega t) \quad (8)$$

onde:

- E = potencial (Volt)
- E_0 = amplitude do sinal do potencial (Volt)
- ω = velocidade ou freqüência angular (radianos por segundo)
- t = tempo (segundo)

É convenientemente representado por um vetor que gira em sentido anti-horário com velocidade angular (ω) constante. O vetor gira a uma velocidade de 2π radianos por período (t) (**Figura 2**). Desta forma, a freqüência angular é dada por (HOLLIDAY; RESNICK, 1991):

$$\omega = 2\pi / t = 2\pi f \quad (9)$$

Fonte: Fernandes, J.C. Disponível em <[http://www.cetec.br/eventos/Capitulo1A\(2002\).pdf](http://www.cetec.br/eventos/Capitulo1A(2002).pdf)>

Figura 2 - Relação entre uma onda senoidal e o correspondente vetor girando no sentido anti-horário a uma velocidade angular de $2\pi f$ radianos/segundo.

A resposta da corrente para um potencial senoidal, como está modificada na fase e tem uma amplitude diferente (**Figura 3**), será expressa por (HOLLIDAY; RESNICK, 1991):

$$I = I_0 \text{ sen } (\omega t + \varphi) = I_0 \text{ sen } (2\pi f t + \varphi) \quad (10)$$

onde:

- I = corrente (Ampère)
- I_0 = amplitude do sinal da corrente (Volt)
- ω = frequência angular (radianos por segundo)
- t = tempo (segundo)
- θ = diferença de fase entre os dois sinais (potencial e corrente)

Fonte: Fernandes, J.C. Disponível em <[http://www.cetec.br/eventos/Capitulo1A\(2002\).pdf](http://www.cetec.br/eventos/Capitulo1A(2002).pdf)>

Figura 3 - Vetores representativos da diferença de fase entre potencial e corrente.

Uma expressão análoga à Lei de Ohm permite realizar o cálculo da impedância do sistema como sendo (MCDONALD, 1987):

$$Z = E / I = E_0 \text{ sen } (\omega t) / I_0 \text{ sen } (\omega t + \varphi) = Z_0 [\text{sen } (\omega t) / \text{sen } (\omega t + \varphi)] \quad (11)$$

O mundo real contém elementos de circuito que exibem comportamento complexo. Esses elementos eliminam o simples conceito de resistência. No seu lugar usa-se a impedância, que é um parâmetro de circuito geral, descrevendo processos dissipativos (resistências) ou de armazenamento de carga (capacitivos) (POCRIFKA, 2005).

A impedância elétrica pode ser definida como a relação entre o valor eficaz da diferença de potencial entre dois pontos do circuito em consideração e o valor eficaz da corrente resultante no circuito. É a combinação da resistência R e da reatância X , sendo expressa em Ohm (unidade de medida padronizada pelo Sistema Internacional, simbolizado pela letra grega ômega maiúsculo (Ω)) e designada pelo símbolo Z (MCDONALD, 1987):

$$Z = R + jX \quad (12)$$

onde:

- Z = Impedância (Ohm)
- R = Resistência (Ohm)
- X = Reatância (Ohm)
- $j = \sqrt{-1}$ (número imaginário)

Resistência é a capacidade de um corpo qualquer se opor à passagem de corrente elétrica quando existe uma diferença de potencial aplicada. Reatância é a oposição oferecida à passagem de corrente alternada por capacitância ou indutância num circuito (BARD; FAULKNER, 1980).

A reatância é indicada pelo símbolo X , sendo:

$X = 0$, a impedância é igual à resistência e o circuito é dito como puramente resistivo, então:

$$Z = R \quad (13)$$

Quando se tem um sistema puramente resistivo, a diferença de fase entre o potencial e a CA é zero (HOLLIDAY; RESNICK, 1991) (**Figura 4**).

Figura 4 - Relação entre potencial e corrente em um resistor, adaptado de Holliday; Resnick, 1991.

Quando $X < 0$, a reatância é capacitiva (X_C) e o valor da impedância em Ohm é dado por:

$$Z = 1 / j\omega C \quad (14)$$

onde:

- $j = \sqrt{-1}$
- ω = velocidade angular
- C = capacitância (Faraday)

Diferentemente do resistor, o valor da impedância capacitiva depende de ω . Além disso, existe uma diferença de fase entre o potencial e a CA de 90° ou $\pi/2$. Nesse caso, a corrente adianta-se com relação ao potencial (HOLLIDAY; RESNICK, 1991) (**Figura 5**).

Figura 5 - Relação entre potencial e corrente em um capacitor, adaptado de Holliday; Resnick, 1991.

Quando $X > 0$, a reatância é indutiva (X_L) e o valor da impedância em Ohm é dado por:

$$Z = j\omega L \quad (15)$$

onde:

- L = indutância (Henry)

Como na impedância capacitiva, o valor da impedância indutiva também depende de ω . Existe uma diferença de fase entre o potencial e a CA de 90° ou $\pi/2$, porém, a corrente atrase-se com relação ao potencial (HOLLIDAY; RESNICK, 1991) (**Figura 6**).

Figura 6 - Relação entre potencial e corrente em um indutor, adaptado de Holliday; Resnick, 1991.

A impedância pode ser representada por um vetor, que, portanto, apresenta um módulo $|Z|$ e um ângulo de fase θ . Este vetor pode ainda ser tratado como um número complexo que possui uma parte real Z' no eixo das abscissas, equivalente a resistência R , e uma parte imaginária Z'' no eixo das ordenadas, dada pela reatância X (BARD; FAULKNER, 1980) (**Figura 7**).

Fonte: Adaptação do Plano de Argand-Gauss.

Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/N%C3%BAmero_complexo>

Figura 7 - Parte real Z' no eixo das abscissas e parte imaginária Z'' no eixo das ordenadas.

Segundo o Teorema de Pitágoras, em um triângulo retângulo, o quadrado do comprimento da hipotenusa é igual a soma do quadrado dos comprimentos dos catetos, sendo:

Tangente ($\tan$) θ = cateto oposto / cateto adjacente

Seno ($\sin$) θ = cateto oposto / hipotenusa

Cosseno ($\cos$) θ = cateto adjacente / hipotenusa

Por analogia ao Teorema de Pitágoras, teremos (BARD; FAULKNER, 1980):

$$|Z|^2 = Z'^2 + j Z''^2 = R^2 + jX^2 \quad (16)$$

sendo

$$|Z| = \sqrt{Z'^2 + jZ''^2} = \sqrt{R^2 + jX^2} \quad (17)$$

$$\tan\theta = X / R \quad (18)$$

$$\sin\theta = X / |Z| \text{ então } X = |Z| \sin\theta \quad (19)$$

$$\cos\theta = R / |Z| \text{ então } R = |Z| \cos\theta \quad (20)$$

Portanto, o número complexo Z pode ser representado através da:

- Forma retangular (cartesiana): $Z = Z' + jZ''$ (21)
- Forma polar (exponencial): $Z = |Z| \cos \theta + j |Z| \sin \theta = |Z| (\cos \theta + j \sin \theta)$ (22)

Num teste de EIE efetua-se a determinação da impedância do sistema ao longo de uma ampla gama de frequências. Os resultados obtidos para os vários valores de frequência da perturbação imposta podem ser representados num diagrama de coordenadas retangulares Z' e Z'' , designado por diagrama de Nyquist (BARD; FAULKNER, 1980) (**Figura 8**).

Figura 8 - Diagrama de Nyquist.

Outra representação comum é a normalmente designada por diagramas de Bode, que usa as coordenadas polares $\log |Z|$ e ângulo de fase θ , no eixo das ordenadas, em função de $\log (f)$, no eixo das abcissas. A frequência aparece já como variável independente. O diagrama de Bode (**Figura 9**) mostra explicitamente a informação da frequência, ao contrário da representação de Nyquist (BARD; FAULKNER, 1980).

Figura 9 - Diagrama de Bode.

Outra forma de obter os dados experimentais é atribuir componentes de um circuito elétrico (resistores, capacitores e indutores) **(Figura 10)** aos processos eletroquímicos, construindo assim, um circuito que simule uma resposta de corrente semelhante àquela produzida pelo sistema eletroquímico estudado (BOUKAMP, 1989). Em princípio, qualquer célula eletroquímica pode ser representada por um modelo elétrico. É nesta analogia que reside uma das principais vantagens da EIE, já que torna possível a caracterização de um sistema eletroquímico através do seu "circuito elétrico equivalente" (BARD; FAULKNER, 1980) **(Figura 11)**.

Resistor (R)
Capacitor (C)
Indutor (L)

Fonte: Adaptado de Princeton Applied Research - application note AC-1.

Disponível em: <<http://new.ametek.com/content-manager/files/PAR/078.pdf>>

Figura 10 - Representação gráfica dos componentes de um circuito elétrico.

Fonte: Eco Chemie - application notes.

Disponível em: <<http://www.ecochemie.nl/download/content/appl015.pdf>>

Figura 11- Modelo de um circuito elétrico em série.

O objetivo da técnica é medir os valores de Z' e Z'' para perturbações com várias frequências e tentar encontrar o circuito equivalente mais próximo da realidade física que apresente a mesma resposta. Uma vez escolhido o circuito elétrico que melhor descreve o processo, podem-se relacionar as propriedades físicas ou químicas com componentes do circuito e extrair valores numéricos de todos estes componentes, através de simulações dos dados experimentais, geralmente utilizando-se o método de regressão não linear dos mínimos quadrados com o auxílio de um programa de computador adequado, como, por exemplo, aquele proposto por Boukamp (BOUKAMP, 1989).

2.6 ESTUDOS *IN VITRO* DE CONDUTIVIDADE HIDRÁULICA

Os estudos de condutividade hidráulica são utilizados para a determinação de vários propósitos, podendo estar relacionados a aspectos da dentina (REEDER *et al.*, 1978; PASHLEY *et al.*, 1987; PASHLEY *et al.*, 1991), das células (STEVENSON, 1965; JOHNSON; OLGART; BRÄNNSTRÖM, 1973; PASHLEY; NELSON; WILLIAMS, 1981; HAHN; OVERTON, 1997), da *smear layer* (PASHLEY; LIVINGSTON; GREENHILL, 1978; PASHLEY; MICHELIN; KEHL, 1981; PRATI *et al.*, 1991; SIMPSON *et al.*, 1992), do potencial obstrutivo de agentes como o fosfato de cálcio (TUNG *et al.*, 1993; ISHIKAWA *et al.*, 1994; KAWASAKI *et al.*, 1996; TUNG *et al.*, 1997; SUGE *et al.*, 1995; SUGE *et al.*, 1999; Cherg; Chow; TAKAGI, 2004) e o oxalato no tratamento da hiperestesia dentinária (PASHLEY *et al.*,

1984; PASHLEY; GALLOWAY, 1985; MONGIORGI *et al.*, 1992; MONGIORGI; PRATI, 1994; MONGIORGI; PRATI; FERRIERI, 1994; SUGE *et al.*, 1995; ZHANG *et al.*, 1998; PASHLEY *et al.*, 2001; PEREIRA; SEGALA; GILLAM, 2005; SANTIAGO; PEREIRA; MARTINELLI, 2006; YIU *et al.*, 2006), através da redução do movimento do fluido no interior dos túbulos dentinários.

A primeira tentativa de observar microscopicamente a movimentação do fluido na dentina exposta, *in vitro*, como resultado da aplicação de uma pressão reduzida, e correlacionar o volume e a rapidez desta movimentação com a aspiração de odontoblastos para o interior dos túbulos dentinários, foi realizada por Stevenson, em 1965. Desde então, vários estudos de medição da movimentação do fluido têm sido realizados.

A proporção de filtração de fluido é um método conveniente de se quantificar e avaliar a presença de *smear layer*. Pashley, Michelin e Kehl, em 1981, examinaram, em microscópio eletrônico de varredura, a remoção da *smear layer* dentinária com ácido cítrico a 6% e relacionaram estes efeitos à permeabilidade dentinária. Observaram que a permeabilidade aumenta rapidamente com o condicionamento ácido expondo as embocaduras dos túbulos dentinários em apenas cinco segundos, alcançando o valor máximo após 15 segundos de condicionamento. Microscopicamente, ressaltaram que o condicionamento durante apenas um minuto remove quase toda a *smear layer* assim como a superfície dentinária peritubular dos túbulos até 10 µm de profundidade, produzindo embocaduras três a quatro vezes mais largas.

A habilidade de agentes no tratamento da dentina hiperestésica, em diminuir o índice de filtração do fluido, *in vitro*, foi avaliada por Greenhill e Pashley, em 1981, por meio de condutividade hidráulica. Dentre os agentes anti-hiperestésicos utilizados, estavam o oxalato. Este método quantitativo demonstrou a efetividade de vários agentes, tendo o oxalato se mostrado como o mais efetivo.

Em 1985, Pashley e Galloway investigaram os efeitos do tratamento com oxalato de potássio na *smear layer* dentinária. Discos de dentina foram obtidos a partir de terceiros molares, através de discos diamantados. O lado pulpar foi condicionado com ácido cítrico a 6% por dois minutos e o lado oclusal ficou intacto. A *smear layer* foi avaliada através de condutividade hidráulica antes e após a aplicação das soluções de oxalato e após o desafio com ácido cítrico a 6%. Os autores observaram que as superfícies dentinárias tratadas com as soluções de oxalato tiveram uma redução significativa da permeabilidade e foram resistentes ao desafio ácido.

Mongiorgi e Prati, em 1994, avaliaram a condutividade hidráulica da dentina após a aplicação de diferentes soluções de oxalato. Os espécimes, obtidos de terceiros molares, foram tratados previamente com ácido fosfórico a 37% por dois minutos para remoção da *smear layer*. Todas as soluções de oxalato reduziram semelhantemente a permeabilidade a valores tão baixos quanto aos da *smear layer*.

Em 1995, Suge *et al.* estudaram a efetividade da oclusão dos túbulos dentinários por agentes anti-hiperestésicos em saliva sintética sob condições similares ao do ambiente bucal. Os discos de dentina foram tratados pelo método de precipitação de fosfato de cálcio e com oxalato de potássio a 25%. As medições de condutividade hidráulica foram avaliadas em intervalos de 0, 24, 72, 120 e 168 horas após a imersão dos discos em saliva sintética. O tratamento dos discos dentinários pelo método de precipitação de fosfato de cálcio imediatamente reduziu a permeabilidade dentinária para 6% que permaneceu baixa mesmo após sete dias de imersão em saliva. O oxalato de potássio provocou redução da permeabilidade dentinária para 8%, entretanto, aumentou gradualmente para 39% ao final de sete dias de imersão em saliva. Para elucidar o mecanismo das mudanças na permeabilidade dentinária na saliva sintética, os precipitados, isto é, a apatita e o oxalato de cálcio, foram imersos num volume fixo de saliva sintética. Observaram uma grande concentração de íons oxalato, indicando dissolução do oxalato de cálcio e, desta forma, o

aumento a permeabilidade dentinária. Portanto, o tratamento com oxalato de potássio significativamente reduz a hiperestesia dentinária, mas seu efeito tem curta duração. Por outro lado, os íons cálcio e fosfato diminuem quando o produto formado pelo método de precipitação é imerso em saliva, indicando uma precipitação de fosfato de cálcio no precipitado de apatita. Os autores concluíram que o método de precipitação de fosfato de cálcio teria um efeito contínuo de redução da permeabilidade dentinária no ambiente bucal.

Em 1998, Zhang *et al.* estudaram a capacidade do material Pain-Free Desensitizer, composto de uma solução aquosa de ácido oxálico a 2,1% misturada a uma emulsão resinosa, em diminuir a permeabilidade dentinária. Os segmentos coronários foram condicionados com ácido fosfórico a 35% ou com uma pasta de hidroxiapatita e ultra-som. A condutividade hidráulica de cada espécime foi medida com o auxílio do dispositivo Flodec utilizando uma pressão de 20 cm H₂O. Após uma aplicação do agente anti-hiperestésico, a condutividade hidráulica foi determinada aos cinco minutos, um dia, uma semana e um mês. Entre os intervalos de tempo, os espécimes foram armazenados numa solução tamponada para simular os efeitos solubilizantes da saliva. Os resultados mostraram que uma única aplicação do material promoveu reduções grandes e imediatas na permeabilidade dentinária. Nos espécimes condicionados com ácido a permeabilidade dentinária retornou aos valores controles no período de sete dias, enquanto que nos espécimes não condicionados a permeabilidade permaneceu baixa após trinta dias. O tratamento apresentou uma redução da permeabilidade e permitiu o desenvolvimento de uma dessensibilização natural.

Em 2005, Pereira, Segala e Gillam avaliaram a variação da filtração do fluido através de discos de dentina humana tratada com três diferentes formulações à base de oxalato de potássio e um gel fluoretado, aplicados sob cinco diferentes pré-tratamentos superficiais: seca com ar, seca com papel absorvente, mantida molhada, acidificada e seca com ar, acidificada e seca com papel. Os ensaios foram realizados na presença de *smear layer*,

após condicionamento com EDTA 0,5 molar por um minuto, após a aplicação dos materiais teste e após o desafio com ácido cítrico a 6%, por um minuto. Independentemente do pré-tratamento de superfície, o material Experimental oxalato a 3% gel - pH 2,5 produziu valores de filtração significativamente menores que o gel fluoretado. Em geral, a dentina seca com ar foi o pré-tratamento de melhor desempenho e significativamente diferente dos demais. A interação entre material e pré-tratamento de superfície mostrou valores similares de condutividade hidráulica para a maioria das combinações. Concluiu-se que todas as formulações sob os diferentes pré-tratamentos de superfície estudados, com exceção do gel fluoretado, reduziram o índice de filtração através da dentina para níveis similares àqueles obtidos na presença da *smear layer*.

Santiago, Pereira e Martineli, em 2006, verificaram a influência do tempo pós-aplicação de agentes anti-hiperestésicos à base de oxalato de potássio na permeabilidade de discos de dentina. As medições foram realizadas após a criação da *smear layer* com lixas, após o condicionamento da dentina com EDTA durante dois minutos, após os tempos 0, 5, 15 e 30 minutos da aplicação dos agentes e após o desafio com ácido cítrico durante um minuto. Os resultados indicaram que o tempo decorrido após a aplicação dos agentes provocou a redução da permeabilidade dentinária para todos os grupos estudados. O sistema de filtração interfere nos resultados em função do tempo, pois houve uma tendência de redução dos valores quando o sistema fluía livremente pelos intervalos de tempo testados. Pode-se concluir que todos os agentes estudados à base de oxalato de potássio, foram efetivos na redução da permeabilidade dentinária, independentemente do tempo após a aplicação.

Yiu e colaboradores, em 2006, examinaram as mudanças na condutividade hidráulica da dentina na presença de *smear layer*, após a aplicação do dessensibilizante BisBlock, após a utilização do BisBlock previamente a aplicação de adesivos e após a aplicação dos adesivos isoladamente. A *smear layer* e o BisBlock isoladamente

apresentaram redução na permeabilidade estatisticamente semelhantes. O adesivo One Step e o Single Bond associados com o BisBlock tiveram suas propriedades obstrutivas dos túbulos aumentadas, ou seja, reduziu a permeabilidade em comparação com os adesivos isoladamente e melhorou quando comparada com a permeabilidade do BisBlock sozinho. Os autores concluíram que a condutividade hidráulica pode ser reduzida após a aplicação de dessensibilizantes a base de oxalato, previamente a utilização dos adesivos One Step e o Single Bond.

2.7 ESTUDOS *IN VITRO* DE ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA

Medidas de impedância elétricas forneceram as primeiras evidências de que as células eram envolvidas por uma membrana de baixa permeabilidade a íons. Em 1925, medidas de impedância também forneceram as primeiras estimativas da espessura da membrana celular, dando um valor muito próximo àqueles determinados nas últimas três décadas por microscopia eletrônica (COSTER; CHILCOTT; COSTER, 1996).

O método de EIE encontrou aplicações generalizadas em diversas áreas da Odontologia. Vários estudos *in vitro* utilizando medidas de resistência elétrica foram realizados para avaliar permeabilidade (SCHOLBERG; BORGGREVEN; DRIESSENS, 1982 e 1987) e propriedades eletrofísicas do esmalte (SCHOLBERG; BORGGREVEN; DRIESSENS, 1984; LEVINKIND; VANDERNOOT; ELLIOTT, 1990) e da dentina (VANDERNOTT; LEVINKIND 1991; ELDARRAT *et al.*, 2007).

Investigações foram feitas na área de diagnostico de cárie e demonstraram uma ótima correlação entre medidas de impedância e profundidade de cárie (LONGBOTTOM *et al.*, 1996; HUYSMANS *et al.*, 1996) além de um bom desempenho desse método para caracterizar a desmineralização na superfície do esmalte (LIAO; FENG; CHEN, 2007).

A EIE está sendo utilizada também para a identificação de microinfiltração entre estruturas dentárias e materiais restauradores. Muitos estudos estão sendo desenvolvidos

com esse propósito (JACQUOT *et al.*, 1996a e 1996b; PRADELLE-PLASSE *et al.*, 2004b; WADGAONKAR *et al.*, 2006).

A presença ou ausência da *smear layer* são condições comumente avaliadas pelo método de condutividade hidráulica. Todavia, estudos de EIE estão sendo realizados não só para analisar a *smear* (LEVINKIND; VANDERNOOT; ELLIOTT, 1992; ELDARRAT; HIGH; KALE, 2004), mas também o efeito de agentes condicionadores (PRADELLE-PLASSE; WENGER; COLON, 2002; PRADELLE-PLASSE *et al.*, 2004a).

PRADELLE-PLASSE, WENGER E COLON, em 2002, avaliaram a permeabilidade da dentina e o efeito de diferentes condicionadores ácidos, por meio de EIE. O sistema utilizado era composto por uma célula eletroquímica (**Figura 12**), na qual era inserido o disco de dentina, por dois eletrodos imersos em solução e conectados a um potenciostato, usado para a aplicação de um potencial alternado sob uma gama de frequência, e um analisador de resposta em frequência, todos controlados por um microcomputador. A passagem de corrente através da dentina foi medida para permitir o cálculo de impedância expresso em números complexos. Para determinar a avaliação da variação da permeabilidade, verificou-se a resistência para todos os espécimes antes e depois da aplicação dos condicionadores. Observou-se que a aplicação de condicionadores diminui a resistência da dentina. Quanto menor o valor da resistência, maior a permeabilidade dentinária. Pela medição da resistência elétrica através da dentina pelo método de EIE, pôde-se verificar a condução iônica através da amostra, obter valores quantitativos sobre permeabilidade e avaliar a ação dos condicionadores ácidos.

Figura 12 - Desenho esquemático da célula eletroquímica utilizada por Pradelle-Plasse, Wenger e Colon, em 2002; Pradelle-Plasse *et al.*, em 2004a e 2004b: **1** - Disco de dentina; **2** - Anéis de borracha para vedamento; **3** - Eletrodo de platina.

Em 2004, Eldarrat, High e kale realizaram um estudo para determinar se a EIE poderia ser usada para avaliar a remoção de *smear layer in vitro*. Amostras de dentina foram preparadas após a extração de terceiros molares humanos hígidos e inseridas em um porta-amostra preenchido com solução (**Figura 13**). Medidas de impedância foram efetuadas nas amostras de dentina hidratadas antes e após a realização do condicionamento da dentina com ácido fosfórico a 35% por 15 segundos. Em seguida, as amostras foram examinadas por microscopia eletrônica de varredura para correlacionar as alterações na superfície da dentina com as medidas elétricas. As medidas de impedância demonstraram diferenças marcantes antes e após a realização do condicionamento ácido, por meio de diagramas de Nyquist e Bode. Com a microscopia eletrônica de varredura observou-se que antes do condicionamento ácido, a *smear layer* cobria a superfície dentinária, mas desapareceu completamente após a realização do mesmo, deixando os túbulos dentinários abertos.

Figura 13 - Desenho esquemático do porta-amostra utilizado por Eldarrat, High e kale, em 2004; Eldarrat *et al.*, em 2007.

Com o objetivo de avaliar quantitativamente a microinfiltração na dentina após restaurações de resinas compostas utilizando diferentes sistemas adesivos dentinários, pelo método de EIE, Pradelle-Plasse e colaboradores, em 2004b, realizaram cavidades cilíndricas padronizadas no lado oclusal de discos de dentina humana. Medidas de impedância foram efetuadas primeiramente com a cavidade vazia para determinar a resistência inicial de cada amostra. Estas foram divididas em nove grupos (n=5) referentes aos sistemas adesivos utilizados. Após as cavidades serem preenchidas com resina, uma segunda medida foi realizada para verificar a resistência imediata (t=0) do complexo dentina, restauração e interfaces. Em seguida, foi realizada a termociclagem das amostras para acelerar seu envelhecimento. Após 48h, a terceira e última medida de impedância foi efetuada para verificar a influência da termociclagem na degradação da união adesiva. Os autores concluíram que a microinfiltração na dentina pode ser quantificada pelo método de EIE e, além disso, apresenta algumas vantagens sobre a técnica de infiltração de corante como, por exemplo: os resultados são obtidos imediatamente após a realização das medidas, a capacidade de selamento é avaliada em toda superfície (tridimensionalmente) e não somente na margem e, também, permite medir e correlacionar três parâmetros em uma mesma amostra: inicial, que caracteriza a permeabilidade dentinária, logo após a restauração e após a termociclagem.

Eldarrat *et al.*, em 2007, realizaram medidas de impedância em dentina normal de pacientes entre 20 e 50 anos de idade e observaram que há diferença de impedância em relação à idade. Quanto mais jovem a dentina, menor a resistência e consequentemente, maior a permeabilidade. Eles atribuíram à formação de dentina peritubular no interior das paredes dos túbulos dentinários a responsabilidade pelas diferenças encontradas.

3 PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

3.1 OBJETIVOS GERAIS

O objetivo desse estudo *in vitro* é quantificar a permeabilidade dentinária após tratamento com três diferentes agentes anti-hiperestésicos, por meio de testes de condutividade hidráulica e de espectroscopia de impedância eletroquímica. Tem, ainda, o objetivo de determinar se a espectroscopia de impedância eletroquímica pode ser considerada um método alternativo para avaliar a capacidade obstrutiva de agentes anti-hiperestésicos.

As hipóteses nulas a serem testadas são:

- I - Os agentes anti-hiperestésicos utilizados têm efeitos semelhantes na condutividade hidráulica da dentina;
- II - O método de espectroscopia de impedância eletroquímica não é adequado para testar a capacidade obstrutiva de agentes anti-hiperestésicos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CONDUTIVIDADE HIDRÁULICA

4.1.1 Seleção dos dentes

Para os testes de condutividade hidráulica foram utilizados 24 dentes terceiros molares humanos hígidos, não irrompidos, sob aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru (FOB), processo número 61/2004, em 26 de Maio de 2004 (**ANEXOS A e B**).

Após a extração os dentes passaram por um processo de limpeza e remoção de remanescentes do ligamento periodontal e tecidos moles circunjacentes, sendo em seguida armazenados em solução de timol a 0,1% em água deionizada, a aproximadamente 4°C, até o momento da obtenção dos espécimes.

4.1.2 Obtenção dos espécimes

Os dentes foram fixados em uma base de resina acrílica com cera pegajosa, aplicada na superfície oclusal da coroa (**Figura 14A**), adaptados a uma máquina de corte ISOMET¹ e seccionados com disco diamantado de 102,0 mm de diâmetro e 0,3 mm de espessura, sob abundante refrigeração, a uma velocidade de 300 rpm. Os espécimes foram obtidos através de um primeiro corte realizado acima da junção amelocementária e paralelamente à face oclusal, a uma altura correspondente ao teto da câmara pulpar (**Figura 14B**) e um segundo, paralelo ao primeiro (**Figura 14C**), que removeu o esmalte oclusal, permitindo a obtenção de discos, com a porção central composta exclusivamente de dentina.

¹ Extec Corporation, Labcut 1010, USA.

Após o corte, os discos eram submetidos à regularização das suas superfícies com lixas de carvão de silício de granulação 400 girando sobre uma politriz², sob água corrente e pressão digital, a uma velocidade de 125 rpm. As superfícies dentinárias foram lixadas até que estivessem livres de remanescentes do esmalte oclusal e sem qualquer evidência de cornos pulpare. Assim, obtinham-se discos de dentina com uma espessura média de $1,00 \pm 0,08$ mm (**Figura 14D**) confirmada com um paquímetro digital.

Os espécimes foram mantidos em água deionizada até o momento da realização dos testes.

4.1.3 Sistema de medição da condutividade hidráulica

Para a realização das medidas de condutividade hidráulica, foi utilizado um sistema desenvolvido especialmente para a medição da permeabilidade dentinária (PASHLEY; GALLOWAY, 1985), cujo desenho esquemático está representado na **Figura 15**. Esse sistema é composto por um cilindro de nitrogênio, uma câmara de pressão e outra de filtração, sendo todos interligados por capilares de polietileno.

² Fortel Indústria e Comércio Ltda., Brasil.

Figura 14 - A - Dente extraído fixado na base de resina acrílica com cera pegajosa; **B -** Realização do primeiro corte para a remoção da raiz; **C -** Segundo corte, paralelo ao primeiro, para a obtenção dos espécimes; **D -** Discos de dentina obtidos após o acabamento das superfícies; **E -** Componentes do sistema de medição da condutividade hidráulica: micro-seringa, régua milimetrada, câmara de filtração e câmara de pressão.

Figura 15 - Desenho esquemático adaptado do sistema para medição da condutividade hidráulica da dentina utilizado por Pashley e Galloway, em 1985.

4.1.3.1 Cilindro de nitrogênio

O cilindro³ serve para acondicionar o nitrogênio utilizado para pressurização do sistema. Ele possui uma válvula para a liberação do nitrogênio e um regulador de pressão com dois manômetros, um para monitorar a pressão interna do cilindro e outro para determinar a pressão de trabalho, utilizada para forçar o deslocamento do líquido através de todo o circuito.

³ White Martins, São Paulo, Brasil.

Para o sistema começar a funcionar, abre-se a válvula para liberar o nitrogênio do cilindro e, partir daí, o manômetro é regulado para determinar a pressão de trabalho, que é mantida constante durante todo o experimento em 703,1 cm H₂O ou 10 psi.

4.1.3.2 Câmara de pressão

A câmara de pressão é uma panela de pressão adaptada, ligada ao cilindro de nitrogênio por meio de um tubo de polietileno (**Figura 14E**). No seu interior há um reservatório com capacidade para armazenar 600 mL de água deionizada, que recebe um capilar de polietileno através de um dispositivo de acoplagem localizado na tampa da câmara de pressão, que se comunica com o sistema capilar externo, destinado a conduzir a água deionizada sob a pressão do nitrogênio. O volume de água deionizada deve ser frequentemente repostado durante todo o procedimento de filtração. A câmara de pressão, por ser hermeticamente fechada, possibilitava a indução de uma pressão constante por todo o sistema capilar abastecido com água deionizada. É importante mencionar que a tampa da câmara de pressão possui uma válvula de segurança que permite a despressurização quando necessária.

4.1.3.3 Sistema de capilares de polietileno

O sistema de capilares funciona como elo entre a câmara de pressão e a câmara de filtração. Entre estes dispositivos encontram-se dois componentes responsáveis pela leitura da filtração da água deionizada através da dentina: o capilar de vidro e a micro-seringa⁴. O capilar de vidro possui 65 mm de comprimento e capacidade de 25 µL e está justaposto a uma régua milimetrada, que serve para medir o deslocamento do líquido numa fração de tempo, de acordo com a velocidade de filtração dos discos de dentina.

⁴ Gilmont Instruments Inc., Great Neck, New York, USA.

O movimento da água deionizada é monitorado pelo deslocamento de uma bolha de ar, produzida pela micro-seringa, sobre a régua milimetrada (**Figura 14E**). A micro-seringa, composta por um reservatório com água deionizada e um cursor, se encaixa a um capilar de polietileno situado entre o capilar de vidro e a câmara de filtração. Sua função é formar a bolha de ar e posicioná-la adequadamente no capilar, ajustando-a na régua milimetrada através da injeção ou retirada de água.

4.1.3.4 Câmara de filtração

A câmara de filtração⁵ (**Figuras 14E**), parte final do sistema de medição, abriga os espécimes de dentina e conecta-se à câmara de pressão através de capilares de polietileno. É formada por dois compartimentos de fibra de vidro que se encaixam por rosqueamento. O compartimento inferior apresenta dois orifícios que são conectados, por meio de tubos metálicos, aos capilares de polietileno para a circulação do líquido pressurizado. Um dos tubos metálicos funciona como entrada do líquido sob pressão na câmara. O outro, no extremo oposto, é mantido vedado, destinando-se à drenagem do líquido para remoção de eventuais bolhas de ar. O compartimento superior apresenta uma abertura central através da qual se tem acesso à superfície oclusal dos discos de dentina, onde se aplicam os materiais estudados.

Os compartimentos da câmara são interligados por dois espaçadores, também de fibra de vidro, com abertura central de diâmetro padronizado, determinando a área de filtração na superfície dentinária de 0,178 cm². Os discos de dentina são adaptados entre os espaçadores, justapostos pelos anéis de borracha para vedação. Após o rosqueamento da parte superior à parte inferior, a câmara de filtração determina dois ambientes: um interno, interligado ao sistema de circulação de líquido, e outro externo, voltado para a superfície onde são realizados os testes.

⁵ Norway Tool and Engineering Co., Los Angeles, USA.

4.1.4 Padronização dos espécimes

Para a padronização dos espécimes cada disco de dentina foi imerso em solução de ácido fosfórico a 37% por 30 segundos, lavados abundantemente com água deionizada e submetidos à medição de filtração. Os espécimes foram agrupados de acordo com os índices de filtração, o que possibilitou a utilização de 24 discos com índice de filtração variando entre 25 a 45 $\mu\text{L}/\text{min}$. Os espécimes com filtrações diferentes destas foram descartados, tornando a amostra a mais homogênea possível.

4.1.5 Materiais

Foram utilizados nesse estudo três agentes anti-hiperestésicos, sendo dois à base de oxalato e um à base de fosfato de cálcio, os quais estão descritos na **Tabela 1**.

Tabela 1 - Materiais utilizados com suas respectivas composições e aparências.

MATERIAL	COMPOSIÇÃO	APARÊNCIA
Experimental	Oxalato de potássio	Gel
Sensi Kill ⁶	Solução 1: dipotássio fosfato, fluoreto de sódio e metilparabeno Solução 2: cloreto e cálcio e benzoato de sódio	Líquida
BisBlock ⁷	Ácido oxálico	Líquida

⁶ DFL Indústria e Comércio Ltda., Brasil.

⁷ Bisco Inc., Schaumburg, IL, USA.

4.1.6 Testes de condutividade hidráulica

Os 24 discos de dentina selecionados foram divididos em 3 grupos de 8 espécimes. Cada grupo correspondia a um dos três materiais citados na **Tabela 1**.

Os testes de condutividade hidráulica foram realizados de acordo com a seguinte seqüência:

- I. Na presença de *smear layer* no lado oclusal dos discos, após o lixamento desta superfície com lixa de carbetto de silício de granulação 320 sob pressão digital e água corrente, durante 20 segundos;
- II. Após a remoção da *smear layer* com ácido fosfórico a 37%, por 1 minuto;
- III. Após a aplicação dos materiais nas superfícies oclusais dos discos de dentina.

Para a realização das medidas de permeabilidade, os espécimes foram posicionados na câmara de filtração com o lado pulpar voltado para o interior da câmara e o lado oclusal voltado para o meio externo, estando o fluxo de líquido bloqueado por uma pinça hemostática no capilar de polietileno. Em seguida, a pinça era removida e o fluxo de líquido liberado para que se pudesse medir a filtração de água através da dentina. Foram realizadas quatro medidas consecutivas do movimento da bolha através do capilar sobre a régua milimetrada, a fim de computar os valores médios de cada disco de dentina em cada condição testada. Essas medidas representavam a distância que a bolha percorria, em milímetros, num determinado intervalo de tempo, em minutos, determinados para cada espécime, conforme a velocidade de deslocamento da bolha.

A presença da *smear layer* é considerada como a condição mais efetiva para obstruir os túbulos dentinários e reduzir o fluxo de líquido através da dentina, obtendo-se assim, os valores de permeabilidade mínima. A sua remoção com ácido é a condição que permite a maior permeabilidade da dentina, estabelecendo-se, desta forma, os valores de permeabilidade máxima e a simulação laboratorial mais próxima à condição clínica da

hiperestesia dentinária. Os índices assim obtidos foram considerados como sendo 100 % da filtração de cada espécime. Os demais índices, representados pela *smear layer* e pelo efeito dos materiais, foram calculados como uma proporção dessa permeabilidade máxima de 100 %.

Os agentes anti-hiperestésicos foram aplicados com pincel microbrush sobre a superfície dentinária exposta através do orifício do compartimento superior da câmara de filtração. O gel Experimental foi mantido por 4 minutos e removido com jatos de água deionizada por 30 segundos. Os demais foram utilizados conforme as recomendações dos seus fabricantes. A Solução 1 do Sensi Kill foi friccionada por 5 segundos, mantida por 30 segundos e seca com jatos de ar aplicados suavemente; a Solução 2 foi friccionada por 2 segundos e mantida por 10 segundos. O BisBlock foi aplicado por 30 segundos e lavado com água deionizada. As medidas de filtração foram realizadas imediatamente após a aplicação dos materiais.

4.1.7 Obtenção dos resultados de condutividade hidráulica

Com os valores de deslocamento da bolha e do tempo, procedeu-se o cálculo da permeabilidade dentinária, expressa em termos de condutividade hidráulica da dentina (L_p). Para isso, aplicou-se uma equação em que a velocidade e o tempo de deslocamento da bolha são as variáveis, e o calibre e o volume do capilar, a pressão hidrostática e a área de superfície ($0,178 \text{ cm}^2$) são as constantes. Assim, a equação utilizada para os cálculos de L_p , com o auxílio do programa Microsoft Excel 2003⁸, foi:

$$L_p = \frac{0,0030731909. (x) \text{ mm}}{(y) \text{ min}}$$

⁸ Microsoft Corporation, Redmond, USA.

Como os espécimes são diferentes entre si, devido à variabilidade biológica da dentina, da profundidade do esmalte e da altura dos cornos pulpares, os valores de Lp obtidos na presença da *smear layer* e após o tratamento com os materiais, foram convertidos em percentagem em relação ao valor máximo de 100% do ácido fosfórico. Dessa forma, cada disco foi utilizado como seu próprio controle.

4.1.8 Análise estatística

Após a obtenção das médias dos valores percentuais da Lp e dos desvios padrão, os dados foram submetidos à análise de variância a dois critérios para a verificação da existência de diferenças estatisticamente significantes. Quando houve diferença, aplicou-se o teste de Tukey para identificá-las. Para todos os testes, utilizou-se o programa Statistica 5.1⁹ e convencionou-se o nível de significância de 5 % ($p < 0,05$).

4.2 ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA

4.2.1 Seleção dos dentes e obtenção dos espécimes

Para o estudo de EIE, outros 18 dentes terceiros molares humanos hígidos, não irrompidos, extraídos, foram utilizados sob aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da FOB (Processo 61/2004). Os espécimes foram preparados como discos de dentina e padronizados, exatamente como foi descrito para os experimentos de condutividade hidráulica.

4.2.2 Materiais

Os agentes anti-hiperestésicos utilizados para a execução dos testes de EIE foram os mesmos descritos para os testes de condutividade hidráulica (**Tabela 1**).

4.2.3 Sistema de medição da espectroscopia de impedância eletroquímica

Para a realização dos testes quantitativos de EIE, utilizou-se um sistema eletroquímico composto por uma célula eletroquímica, um potenciostato (Autolab) e um analisador de resposta em frequência (FRA2), sendo todos controlados por um computador (**Figura 16**). As medidas foram realizadas no Laboratório Interdisciplinar de Eletroquímica e Cerâmica (LIEC) do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos.

Figura 16- Desenho esquemático adaptado do sistema para medição de impedância utilizado por Pradelle-Plasse *et al.*, em 2002; Pradelle-Plasse *et al.*, em 2004a e 2004b.

4.2.3.1 Célula eletroquímica

A célula eletroquímica, representada na (**Figuras 17A**), é a parte do sistema eletroquímico que abriga os espécimes de dentina. Ela foi desenvolvida na oficina de vidraria do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos, baseando-se no modelo utilizado por Eldarrat; High e kale, em 2004 e Eldarrat *et al.*, em 2007.

É formada por um compartimento central de vidro, que é preenchido solução eletrolítica, e por duas partes de teflon, que se encaixam por rosqueamento ao compartimento central (**Figuras 17B**). Ambas as partes de teflon possuem, em toda sua

⁹ Statsoft, Tulsa, Oklahoma, USA.

extensão, um pino de aço inox para que se obtenha contato elétrico. A conexão entre célula e potenciostato (**Figura 17C**) se faz através desse pino (**Figura 17D**). Na outra extremidade do teflon, na parte interna da célula, há dois anéis de borrachas para vedação. O disco de dentina é adaptado entre as duas partes de teflon, justaposto pelos os anéis de borrachas de menor diâmetro. A solução eletrolítica utilizada para as medidas de transporte iônico foi o perclorato de sódio a 0,05 molar.

Figura 17 - A e B - Célula eletroquímica; B - Sistema eletroquímico; D - Célula montada para medição conectada ao potenciostato.

4.2.3.2 Potenciostato e analisador de resposta em frequência

A EIE indica a oposição total que um circuito oferece ao fluxo de uma corrente elétrica variável no tempo numa dada gama de frequência. O princípio da técnica consiste em aplicar uma perturbação de pequena amplitude, sob a forma de um potencial senoidal, a uma célula eletroquímica e medir a corrente que atravessa essa célula. Para aplicar uma perturbação alternada de 20mV foi utilizado-se potenciostato Autolab PGSTAT 30¹⁰ numa gama de frequência entre 0.01Hz a 10KHz.

Para medir o fluxo de corrente que atravessou a célula e obter as medidas de impedância, utilizou-se um analisador de resposta em frequência FRA 2¹¹, controlado por um computador¹². Para cada frequência, o FRA 2 forneceu os valores das coordenadas polares $\log |Z|$ e ângulo de fase θ . Esses dados foram convertidos em valores complexos de impedância definidos por uma parte real Z' , equivalente a resistência R , e uma parte imaginária Z'' dada pela reatância X .

Obtidos os valores de Z' e Z'' , utilizou-se o método de regressão não linear dos mínimos quadrados com o auxílio do programa de Boukamp¹³ para encontrar o circuito equivalente que simulasse uma resposta de corrente semelhante àquela produzida pelo sistema eletroquímico estudado, e atribuir valores numéricos aos componentes desse circuito.

4.2.4 Testes de espectroscopia de impedância eletroquímica

Para os testes de EIE, os 18 discos de dentina selecionados após a padronização foram divididos em 3 grupos de 6 espécimes, correspondentes aos três agentes anti-hiperestésicos estudados (**Tabela 1**).

¹⁰ Scribner Associates, Inc., Southern Pines, NC, USA.

¹¹ Autolab, Scribner Associates, Inc., Southern Pines, NC, USA.

¹² Software Z-Plot and Z-View, Scribner Associates, Inc., Southern Pines, NC, USA.

¹³ EQUIVRT. PAS, Version 4.55, Enschede, the Netherlands.

Previamente às medidas de impedância, os discos de dentina foram imersos em solução de perclorato de sódio a 0,05 molar, por 48h, para que houvesse um equilíbrio iônico entre espécime e solução.

As medidas de impedância seguiram a mesma seqüência usada nos testes de condutividade hidráulica:

- I. Na presença de *smear layer* no lado oclusal dos discos, após o lixamento desta superfície com lixa de carbetto de silício de granulação 320 sob pressão digital e água corrente, durante 20 segundos;
- II. Após a remoção da *smear layer* com ácido fosfórico a 37%, por 1 minuto;
- III. Após a aplicação dos materiais nas superfícies oclusais dos discos de dentina.

Para a realização das medidas os discos de dentina foram posicionados entre os anéis de borracha e a célula eletroquímica preenchida com solução de perclorato de sódio a 0,05 molar. Durante a realização de cada passo, os discos eram lavados com solução de perclorato de sódio para garantir um rápido reequilíbrio iônico entre espécime e solução. Para cada espécime foi realizada uma medida para cada situação testada.

As medidas realizadas na presença de *smear layer* representavam a maior resistência à passagem de corrente elétrica. O tratamento com ácido fosfórico permitia a maximização da permeabilidade dentinária, ou seja, a menor resistência a passagem de corrente. Os índices assim obtidos foram considerados como sendo 100 % da passagem de corrente de cada espécime. Os demais índices, representados pela *smear layer* e pelo efeito dos materiais, foram calculados como uma proporção dessa permeabilidade máxima de 100 %. Dessa forma, cada disco foi utilizado como seu próprio controle.

Os agentes anti-hiperestésicos foram aplicados sobre as superfícies oclusais dos discos de dentina com um pincel microbrush. O gel Experimental foi mantido por 4 minutos e removido com jatos de solução de perclorato de sódio a 0,05 molar por 30 segundos. Os

demais foram utilizados conforme as recomendações dos seus fabricantes. A Solução 1 do Sensi Kill foi friccionada por 5 segundos, mantida por 30 segundos e seca com jatos de ar aplicados suavemente; a Solução 2 foi friccionada por 2 segundos e mantida por 10 segundos. O BisBlock foi aplicado por 30 segundos e lavado com solução de perclorato de sódio a 0,05 molar. As medidas de impedância foram realizadas imediatamente após a aplicação dos materiais.

4.2.5 Obtenção dos resultados de espectroscopia de impedância eletroquímica

Uma vez escolhido o circuito elétrico que melhor descreveu o processo, que nesse estudo, foi o $R(RC)(RC)$ (**Figura 18**), pôde-se extrair os valores numéricos de todos os componentes desse circuito. Porém, os resultados foram obtidos somente em função dos valores do componente R , que representa a resistência ao transporte de íons através dos túbulos dentinários. Os demais componentes não foram utilizados, pois não estão relacionados ao transporte de íons, e sim às propriedades da própria dentina.

Fonte: Eco Chemie - application notes.

Disponível em: <<http://www.ecochemie.nl/download/content/appl015.pdf>>

Figura 18 - Circuito elétrico equivalente ao modelo eletroquímico estudado.

Sendo a condutividade hidráulica inversamente proporcional a resistência, para maior facilidade de compreensão dos resultados entre os dois métodos de avaliação, os valores de R , obtidos na presença da *smear layer* e após o tratamento com os materiais, foram convertidos para $1/R$ e transformados em porcentagem em relação ao valor máximo de 100 % do ácido fosfórico.

4.2.6 Análise estatística

Após a obtenção das médias dos valores percentuais de 1/R e dos desvios padrão, os dados foram submetidos á análise de variância a dois critérios para a verificação da existência de diferenças estatisticamente significantes. Quando houve diferença, aplicou-se o teste de Tukey para identificá-las. Para todos os testes, utilizou-se o programa Statistica 5.1⁹ e convencionou-se o nível de significância de 5 % ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

Os resultados dos testes de condutividade hidráulica e de EIE foram analisados estatisticamente através da análise de variância a dois critérios, com nível de significância de 5 %, aplicada aos valores relativos médios, identificando as diferenças intra e intergrupos. As diferenças individuais estatisticamente significantes, detectadas pelo teste de Tukey, também foram calculadas a um nível de significância de 5 %.

As mensurações originais podem ser vistas nos **APÊNDICES (A a F)**.

5.1 CONDUTIVIDADE HIDRÁULICA

Convém lembrar que os valores de L_p foram obtidos em $\mu\text{L}/\text{min}$ e transformados em percentagem para facilitar a visualização das diferenças comparativas. As L_p s obtidas na presença de *smear layer* traduzem a permeabilidade mínima da dentina, enquanto o condicionamento com o ácido fosfórico representa a L_p máxima, isto é, 100 %, da capacidade de deslocamento transdentinário do fluido, em cada espécime.

As comparações da condutividade hidráulica dos espécimes intra e intergrupos podem ser vistas na **Tabela 2**. É importante salientar que, nessa tabela, estão os valores médios de L_p e os valores proporcionais aos 100% obtidos com o condicionamento ácido acompanhados das significâncias estatísticas. Entretanto, os valores de L_p para o ácido não foram empregados nos os cálculos estatísticos, mas apenas para o cálculo das proporções relativas à *smear* e aos materiais testados.

Ao se compararem as condutividades obtidas intergrupos na presença de *smear layer* observa-se que não houve diferença estatisticamente significativa. Isto é, com a padronização eliminou-se a *smear layer* como variável de interferência nos resultados pós-tratamento. Assim, as comparações feitas intragrupos indicam, com clareza, que os agentes anti-hiperestésicos modificaram significativamente o padrão de permeabilidade de dentina relativamente às suas respectivas *smear layers*. Entretanto, enquanto os grupos

Experimental e o BisBlock reduziram a condutividade hidráulica da dentina (respectivamente 25,51% e 22,31%) a valores significativamente mais baixos que aqueles produzidos pelas *smear layers*, o Sensi Kill aumentou a condutividade de 46,90% para 89,71%.

As comparações intergrupos pós-tratamento, ainda na **Tabela 2** (letras minúsculas) indicam que o gel Experimental e o BisBlock apresentaram efeitos estatisticamente semelhantes na redução da condutividade hidráulica, ao mesmo tempo em que ambos foram significativamente mais eficientes que o Sensi Kill.

Tabela 2 - Valores médios em $\mu\text{L}/\text{min}$ e percentual médio e desvio padrão da Lp, para cada grupo nas condições testadas (Tukey, $p < 0,05$).

Condutividade (Lp) em %	Ácido Fosfórico	<i>Smear Layer</i>	Material
Experimental	0,3102	0,1408	0,0764
	100,00	46,34 ^{aA} $\pm$ 23,93	25,51 ^{bB} $\pm$ 5,60
Sensi Kill	0,3075	0,1471	0,2737
	100,00	46,90 ^{aA} $\pm$ 25,07	89,71 ^{cB} $\pm$ 10,69
BisBlock	0,2470	0,1373	0,0539
	100,00	57,08 ^{aA} $\pm$ 10,33	22,31 ^{bB} $\pm$ 2,61

Valores com a mesma letra não possuem diferença estatisticamente significativa.

Letras minúsculas = comparação entre linhas.

Letras maiúsculas = comparação entre colunas.

O **Gráfico 1** complementa a compreensão dos resultados obtidos nos testes de condutividade hidráulica frente às condições testadas e confirma a maior permeabilidade da dentina após a utilização do Sensi Kill em relação aos outros agentes anti-hiperestésicos estudados.

Gráfico 1 - Valores médios de filtração (L_p), em porcentagem, após condicionamento com ácido fosfórico, na presença da smear layer e após o tratamento com os agentes anti-hiperestésicos.

5.2 ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA

Os resultados obtidos nos testes de EIE foram analisados em relação aos valores do componente R do circuito elétrico equivalente. Na **Tabela 3** encontram-se os valores médios em Ohm e os valores percentuais de $1/R$ e seus respectivos desvios padrão, acompanhados das significâncias estatísticas logo após o condicionamento com ácido fosfórico, na presença da *smear layer* e imediatamente após a aplicação dos agentes anti-hiperestésicos.

Note-se que, nos testes de condutividade hidráulica, o condicionamento com o ácido fosfórico representa o valor máximo de filtração (100%), isto é, a maior permeabilidade da dentina. Quando se considera a impedância, o condicionamento ácido também representa a maior permeabilidade, porém está relacionado à menor resistência à passagem de corrente elétrica, enquanto na presença de *smear layer* e após a aplicação dos materiais a tendência é aumentar a resistência. Consequentemente, os valores de R também aumentam. Então, quanto maior a resistência, menor a permeabilidade, ao contrário do que ocorre para os testes de condutividade hidráulica, pois, quanto menor a filtração, menor a permeabilidade, ou seja, são inversamente proporcionais. Sendo assim, para maior facilidade de compreensão dos resultados entre os dois métodos de avaliação, a análise estatística da

impedância foi realizada em relação os valores percentuais de $1/R$, considerando a resistência após condicionamento ácido como 100%.

Assim, observar-se na **Tabela 3** que, na análise intragrupos o gel Experimental e o BisBlock não apresentaram diferença estatisticamente significativa em comparação com os valores obtidos na presença da *smear layer*. Isso quer dizer que esses materiais demonstraram a mesma efetividade de resistência elétrica que aquela demonstrada pela *smear layer*, esta é, teoricamente, a melhor condição.

Na análise intergrupos, os valores percentuais médios de $1/R$ após a aplicação dos materiais Experimental e BisBlock foram estatisticamente semelhantes entre si (86,20% e 84,92%, respectivamente), e ambos significativamente menores que 150,02%, valor obtido após a aplicação do Sensi Kill. Pode-se observar, complementarmente, que o Sensi Kill, foi o único material que apresentou uma média percentual superior a 100%, isto é, uma resistência à passagem de corrente ainda menor do que aquela obtida após o condicionamento com ácido fosfórico. Porém, como nos resultados de condutividade hidráulica, não houve diferença significativa entre os grupos para a *smear layer*.

Tabela 3 - Valores médios em Ohm e percentual médio e desvio padrão de 1/R, para cada grupo nas condições testadas (Tukey, $p < 0,05$).

Impedância em Ω e %	Ácido Fosfórico	Smear Layer	Material
Experimental	1097,92	1528,50	1283,11
	100,00	73,57 ^{aA} $\pm$ 12,29	86,20 ^{bA} $\pm$ 9,53
Sensi Kill	1106,02	1381,56	738,24
	100,00	79,01 ^{aA} $\pm$ 10,18	150,02 ^{cB} $\pm$ 14,92
BisBlock	1516,81	1914,51	1780,98
	100,00	79,49 ^{aA} $\pm$ 6,17	84,92 ^{bA} $\pm$ 13,62

Valores com a mesma letra não possuem diferença estatisticamente significativa.

Letras minúsculas = comparação entre linhas.

Letras maiúsculas = comparação entre colunas.

O **Gráfico 2** representa os dados da **Tabela 3** e complementa a compreensão dos resultados obtidos nos testes de EIE em relação os valores de 1/R, frente às condições testadas.

Gráfico 2 - Valores médios de impedância (1/R), em percentagem, após condicionamento com ácido fosfórico, na presença da smear layer e após o tratamento com os agentes anti-hiperestésicos.

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

A Teoria Hidrodinâmica da hiperestesia dentária baseia-se no princípio de que a movimentação do fluido dentinário no interior dos túbulos, induzida por estímulos na superfície da dentina, seja responsável pela ativação indireta de nervos mecanorreceptores próximos a polpa e, conseqüentemente, pelo surgimento da dor (PASHLEY *et al.*, 1989). Uma comprovação desta teoria é que o bloqueio mecânico dos túbulos diminui a movimentação do fluido, a permeabilidade da dentina e, conseqüentemente, a hiperestesia dentinária (PASHLEY, 1986). Essa obliteração pode ser conseguida por meio de agentes que interagem com a dentina alterando sua permeabilidade (DOWELL; ADDY, 1983).

A cada dia, novos materiais e novos métodos estão surgindo, buscando um tratamento mais eficiente e um melhor entendimento da hiperestesia dentinária. Sendo assim, o presente estudo verificou a capacidade de três agentes anti-hiperestésicos interferirem na permeabilidade dentinária. Para isso, foram utilizados dois métodos quantitativos, a condutividade hidráulica, que é um método tradicional, já bastante utilizado para esse propósito, e a EIE, cujo ótimo desempenho vem se destacando em diversas áreas da Odontologia, porém sua efetividade em verificar o efeito obstrutivo de agentes anti-hiperestésicos ainda não tinha sido investigada.

6.1 DISCUSSÃO DA METODOLOGIA

6.1.1 Seleção dos dentes, armazenamento e tempo pós-extração

Neste estudo foram utilizados dentes terceiros molares humanos hígidos e não irrompidos, para evitar que a formação fisiológica de esclerose dentinária provocasse uma redução natural da permeabilidade da dentina (STANLEY; PEREIRA; SPIEGEL, 1983). Além disso, a escolha de um grupo específico de dentes, diminui a variação da permeabilidade de um dente para outro (PASHLEY; LIVINGSTON; GREENHILL, 1978).

A solução escolhida para o armazenamento dos dentes foi a solução de timol 0,1% em água deionizada. De acordo com estudos realizados, ela não exerce efeito no conteúdo orgânico nem no inorgânico da dentina (HAHN; OVERTON, 1997) e impede o crescimento bacteriano (GOODIS; MARSHALL; WHITE, 1991). O tempo em que os dentes permaneceram armazenados em solução de timol foi de no máximo três meses. Na opinião de Outhwaite, Livingston e Pashley, em 1976, o tempo de armazenamento dos dentes pós-extração, parece ter uma influência mínima na permeabilidade dentinária mensurada *in vitro*. Entretanto, optou-se por estabelecer um tempo máximo para a utilização dos dentes para reduzir as possibilidades de contaminação e fragmentação do conteúdo intratubular.

6.1.2 Obtenção dos discos de dentina

O disco de dentina é considerado um modelo adequado e reprodutível para ser utilizado nos estudos de permeabilidade. Isso se deve ao controle da sua espessura, à possibilidade de se ter um bom acabamento superficial da dentina e de permitir a delimitação da área de superfície a ser testada, através de anéis de borracha da câmara de filtração (PASHLEY, 1990a). Tais características também são necessárias e foram consideradas quando da utilização da célula eletroquímica do sistema de EIE. Apesar das aparentes limitações dos discos de dentina, Gillam, Mordan e Newman e Mordan, Barber e Gillam, em 1997, recomendam sua utilização *in vitro* para testar o efeito dos agentes anti-hiperestésicos na deposição superficial e na oclusão tubular. Entendem esses autores que, apesar das variáveis inerentes ao padrão do substrato dentinário e à sensibilidade do processo de aferição da filtração, este pode ser considerado um método de fácil reprodutibilidade e próximo da realidade clínica.

O primeiro método citado na literatura para a obtenção dos discos de dentina a partir de terceiros molares extraídos seccionava transversalmente a coroa dos dentes com brocas em alta velocidade sob adequada refrigeração, produzindo discos exclusivamente de dentina na sua porção central (OUTHWAITE; LIVINGSTON; PASHLEY, 1976). Entretanto,

com esse método é mais difícil de obter padronização e acabamento dos espécimes. Por isso, no presente estudo e como tem sido realizado em outras investigações (PASHLEY; MICHELIN; KEHL, 1981; PASHLEY; GALLOWAY, 1985; PASHLEY *et al.*, 1987; PEREIRA; SEGALA; GILLAM, 2005; SANTIAGO; PEREIRA; MARTINELLI, 2006), os discos de dentina foram obtidos por seccionamento com discos diamantados montados em máquina de corte especial para procedimentos de relativa precisão. Com isso, foi possível a obtenção de espécimes com superfícies regulares, padronizadas e com espessuras muito próximas daquela determinada para os testes de permeabilidade.

Com a intenção de se obter amostras com uma maior homogeneidade, medidas dos índices de filtração foram realizadas, em todos os discos, antes dos testes de condutividade hidráulica e de EIE. Isso possibilitou a diminuição da interferência de variações do substrato dentinário nas respostas de condutividade dos espécimes. De fato, os resultados dos padrões de permeabilidade máxima e mínima apresentaram variabilidade mínima, como pode ser constatado pelos desvios-padrão obtidos.

6.1.3 Permeabilidade mínima (*smear layer*) e máxima (condicionamento ácido)

A determinação da permeabilidade mínima e máxima de cada disco de dentina é necessária para facilitar a interpretação dos dados referentes ao potencial obstrutivo dos agentes anti-hiperestésicos e permitir a utilização de cada espécime como seu próprio controle. Os trabalhos que estudam a permeabilidade dentinária consideram que a *smear layer* é uma forma natural e efetiva na obstrução tubular. Assim, quando em estudos *in vitro* se pretende simular uma condição de baixa permeabilidade dentinária, adota-se o recurso de produzir uma *smear layer* artificial.

O método *in vitro* mais adequado para simular a *smear layer* é a utilização de lixas abrasivas de granulação padronizada. No presente estudo optou-se pela lixa de carbetto de

silício de granulação 320 por estar na faixa de desgaste e de depósitos residuais semelhantes ao da *smear layer* obtida com pontas diamantadas e de mais fácil remoção.

A presença da *smear layer* proporciona grande quantidade de íons cálcio e fosfato disponíveis para reagir com os diferentes agentes aplicados sobre a dentina. Por outro lado, sua remoção com agentes químicos diminui o número de íons e, conseqüentemente, número de precipitados, quando da reação com os agentes anti-hiperestésicos (DRAGOLICH; PASHLEY; BRENNAN, 1993). Assim, numa condição clínica de impermeabilização da dentina, como a em que se recomenda, por exemplo, o BisBlock, se a *smear layer* não for removida com condicionamento ácido previamente ao tratamento, a maior parte dos cristais resultantes da reação do material com o substrato dentinário, se precipitará apenas na superfície dentinária e não no interior dos túbulos, reduzindo seu efeito terapêutico (YAMAMOTO *et al.*, 1996).

Entretanto, no presente delineamento experimental, o propósito da manutenção da *smear layer* nesse momento do experimento (permeabilidade mínima), não é outro senão o de permitir uma relação comparativa com a permeabilidade máxima da dentina, esta obtida com o condicionamento ácido. Por ser um ácido fraco, o ácido fosfórico foi escolhido neste estudo para essa finalidade. De acordo com Pashley, em 1990a, o condicionamento da dentina com ácidos fracos e agentes quelantes, além de aumentar a permeabilidade dentinária devido à remoção da *smear layer*, preserva boa quantidade da matriz dentinária mineral subjacente. É preciso compreender, nesse ponto que, embora a permeabilidade máxima seja o valor de referência para a definição dos valores proporcionais das medidas, para a determinação da eficiência obstrutiva dos agentes anti-hiperestésicos adota-se a comparação com os valores da *smear layer*.

6.1.4 Métodos *in vitro*

Novos métodos estão surgindo para a realização de estudos *in vitro* sobre a hiperestesia dentinária. Pashley *et al.*, em 1981, relataram que o estudo da permeabilidade dentinária *in vitro* é mais conveniente, pois, algumas características da superfície da dentina e importantes variáveis podem ser controladas mais facilmente.

Segundo Sena, em 1990, na maioria das pesquisas científicas, o uso de um modelo de laboratório é essencial para o entendimento da natureza das observações clínicas, principalmente quando se considera a variedade de metodologias existentes, as dificuldades no recrutamento, no manejo dos pacientes, na definição do diagnóstico e na mensuração da dor e, também, pela influência do efeito placebo. Além disso, a subjetividade e a dificuldade de execução são características inerentes aos estudos clínicos sobre permeabilidade e hiperestesia dentinária (HOLLAND *et al.*, 1997).

6.1.4.1 Condutividade hidráulica

A utilização dos testes de condutividade hidráulica nesse estudo se deve, principalmente, por ser um método bastante conceituado para quantificar a permeabilidade dentinária, o que possibilita determinar se outros métodos, como a EIE, são igualmente aplicáveis para esse fim.

Todo o raciocínio para a aplicação do método de medição da condutividade hidráulica da dentina baseia-se na consideração de variáveis como o raio e o comprimento dos túbulos dentinários, a viscosidade do fluido, a espessura dentinária e a pressão hidrostática, as quais, definitivamente, influenciam na filtração (PASHLEY, 1990b). Essas variáveis são propriamente fixadas na equação que permite o cálculo da condutividade hidráulica (L_p) da dentina.

A pressão é uma variável importante, pois é responsável pelo movimento do fluido no interior dos túbulos num determinado espaço de tempo, sendo esse deslocamento linear

convertido em volume deslocado, o que torna possível o cálculo dos valores de L_p . Como a pressão é a força por unidade de área, a pressão produzida por qualquer força depende da área de superfície sobre a qual é aplicada. De acordo com a Lei de Poiseuille-Hagen, a filtração varia com a quarta potência do raio do túbulo e a força de deslocamento é o gradiente de pressão (PASHLEY; GALLOWAY, 1985).

No presente estudo, a pressão aplicada foi de 703,1 cm H₂O ou 10 psi, como preconizada por Goodis, Marshall e White, em 1991 e Simpson *et al.*, em 1992. É uma pressão bem maior que a pressão fisiológica, esta em torno de 15 cm H₂O, mas necessária para proporcionar suficiente movimentação de líquido para uma medição precisa em poucos minutos (MERCHANT; LIVINGSTON; PASHLEY, 1977), quando se emprega o sistema de filtração adotado no presente estudo. Tem sido demonstrado por meio de estudos *in vitro*, que o aumento gradual da pressão hidrostática pode ou não proporcionar o aumento linear dos índices de filtração através da dentina condicionada. Isso porque, pressões mais altas podem provocar o aumento da resistência intratubular em consequência da compressão de resíduos do conteúdo dos túbulos contra suas paredes internas, reduzindo os valores da condutividade hidráulica (REEDER *et al.*, 1978; CAMPS *et al.*, 1997). Essa possibilidade pode ser indiretamente constatada quanto se permite que um mesmo espécime seja submetido ao processo de filtração sob pressão, por longo tempo. Santiago, Pereira e Martineli, em 2006, observaram o aumento linear da resistência à filtração com o passar do tempo e hipotetizaram que esse fenômeno é decorrente da estagnação de resíduos intratubulares em regiões de constrição ou irregularidades nas paredes dos túbulos.

Para permitir uma avaliação menos sujeita a interferências do conteúdo intratubular, a filtração foi realizada com água deionizada, desprovida de qualquer componente mineral ou orgânico que pudesse interferir na filtração ou reagir com os agentes anti-hiperestésicos, sobretudo na superfície dos discos (PASHLEY; STEWART; GALLOWAY, 1984). Na hipótese de filtração de um fluido orgânico ou com conteúdo mineral, o volume extravasado

na superfície dos discos durante os testes de condutividade poderia, rapidamente, reagir com os agentes anti-hiperestésicos, precipitando cristais superficialmente, antes da penetração nos túbulos. Por igual motivo o reservatório de água contido na câmara de pressão era sempre limpo e a água deionizada trocada, sistematicamente, a fim de diminuir a possibilidade de obstrução dos túbulos dentinários por resíduos inorgânicos, orgânicos ou mesmo, por bactérias.

6.1.4.2 Espectroscopia de impedância eletroquímica

O método da EIE empregado para a avaliação da permeabilidade dentinária tem a mesma grande vantagem dos testes de condutividade hidráulica discutidos acima, isto é, tem a capacidade de fornecer valores quantitativos sem a destruição da amostra (LEVINKIND; VANDERNOOT; ELLIOTT, 1992; PRADELLE-PLASSE; WENGER; COLON, 2002; PRADELLE-PLASSE *et al.*, 2004a e 2004b; WADGAONKAR *et al.*, 2006; Eldarrat *et al.*, 2007). Por isso, cada amostra pode ser usada como seu próprio controle (FAYAD; CARTER; LIEBOW, 1996; PRADELLE-PLASSE *et al.*, 2004b). Entretanto, uma vantagem particular desse método é a de possibilitar a medição do movimento dos íons contidos em uma determinada solução eletrolítica através da dentina, e não o movimento do fluido, como no método de condutividade hidráulica (LEVINKIND; VANDERNOOT; ELLIOTT, 1992). Assim, as possíveis interferências do deslocamento de resíduos no interior dos túbulos, por efeito da pressão hidrostática, são evitadas com a adoção do método da EIE.

A condutividade hidráulica traduz a facilidade com que o fluido, sob uma pressão hidrostática, pode passar pela dentina (PASHLEY, 1994). Consequentemente, se não houver pressão, não haverá movimento do fluido. No entanto, dependendo do gradiente de pressão a que se submete o espécime, poderá haver aumento da resistência intratubular através da compressão do conteúdo interno contra as paredes dos túbulos, reduzindo os valores da condutividade hidráulica (CAMPS *et al.*, 1997). Como já foi dito, durante as medidas de condutividade hidráulica, o conteúdo tubular pode se deslocar, se compactar,

devido à rugosidade das paredes dos túbulos dentinários, e impedir a passagem do líquido. Acredita-se que, por não necessitar do movimento de fluido intratubular, a impedância é um método mais confiável (LEVINKIND; VANDERNOOT; ELLIOTT, 1992).

Portanto, decidiu-se investigar se a EIE é um método aplicável para avaliar a obstrução dos túbulos dentinários após a utilização de agentes anti-hiperestésicos.

A EIE indica a oposição total que um circuito oferece ao fluxo de uma corrente elétrica variável no tempo numa dada gama de frequência. O princípio da técnica consiste em aplicar uma perturbação de pequena amplitude, sob a forma de um potencial alternado, a uma célula eletroquímica, e medir a corrente alternada que atravessa essa célula, obtendo-se assim, os valores de Z' (resistência) e Z'' (reatância). Num teste de EIE efetua-se a determinação da impedância do sistema ao longo de uma ampla gama de frequências. O termo espectroscopia se deve a isso. Quando se utiliza uma gama de frequência ao invés de uma frequência fixa, é possível relacionar os resultados obtidos com as propriedades físicas e químicas de diversos materiais (MCDONALD, 1987). No presente estudo, a gama de frequência foi entre 0.01Hz a 10KHz.

Métodos elétricos que usam corrente alternada, como a EIE, apresentam algumas vantagens quando comparados com métodos que usam corrente contínua: possui grande sensibilidade (condução iônica); não perturba a distribuição de carga dentro do espécime de dentina devido ao uso de potencial alternado de pequeno valor e fornece resultados imediatos (SCHOLBERG; BORGGREVEN; DRIESSENS, 1984). Atendendo a esse particular optou-se pelo potencial alternado no valor de 20mV.

Como a dentina não é um substrato eficaz como condutor, se faz necessário a utilização de uma solução eletrolítica, pois a condutividade se dá principalmente pelo movimento de íons que percorrem a solução dentro dos túbulos dentinários. A maioria dos estudos de EIE utilizam a solução de cloreto de potássio para essa finalidade (LEVINKIND; VANDERNOOT; ELLIOTT, 1990; LEVINKIND; VANDERNOOT; ELLIOTT, 1992;

PRADELLE-PLASSE; WENGER; COLON, 2002; PRADELLE-PLASSE *et al.*, 2004a; PRADELLE-PLASSE *et al.*, 2004b). Porém, na presente investigação a solução utilizada foi o perclorato de sódio a 0,05 molar, pois os íons cloretos poderiam ser adsorvidos nas paredes dos túbulos dentinários, distorcendo os resultados (BARD; FAULKNER, 1980). Para tanto, os discos de dentina ficaram imersos nessa solução por 48h antes da realização das medidas de impedância, para que houvesse um equilíbrio iônico entre espécime e solução (FAYAD; CARTER; LIEBOW, 1996).

Nesse estudo, os resultados foram analisados em função dos valores do componente R do circuito equivalente R(RC)(RC) (**Figura 18**). Este circuito foi obtido por meio de simulações dos dados experimentais a partir do sistema eletroquímico estudado, isto é, tendo em mãos os valores de Z' e Z'' utilizou-se o método de regressão não linear dos mínimos quadrados, com o auxílio do programa de Boukamp, para encontrar o circuito equivalente que simulasse uma resposta de corrente semelhante àquela produzida pelo sistema eletroquímico estudado. Uma vez escolhido o circuito elétrico que melhor descreveu o processo, que nesse estudo, foi o R(RC)(RC), pôde-se extrair os valores numéricos de todos os componentes. No entanto, somente os valores de R foram utilizados, pois é ele que representa a resistência ao transporte de íons através dos túbulos dentinários. Os demais componentes não estão relacionados ao transporte de íons, e sim às propriedades da própria dentina.

Os estudos realizados nas diversas áreas da Odontologia foram unânimes em validar a EIE como um método adequado de avaliação (SCHOLBERG; BORGGREVEN; DRIESSENS, 1984; LEVINKIND; VANDERNOOT; ELLIOTT, 1990; LEVINKIND; VANDERNOOT; ELLIOTT, 1992; HUYSMANS *et al.*, 1996; LONGBOTTOM *et al.*, 1996; PRADELLE-PLASSE; WENGER; COLON, 2002; ELDARRAT; HIGH; KALE, 2004; PRADELLE-PLASSE *et al.*, 2004a e 2004b; WADGAONKAR *et al.*, 2006; ELDARRAT *et al.*, 2007; LIAO; FENG; CHEN, 2007).

6.1.5 Materiais

Com base no princípio da hidrodinâmica, os agentes mais utilizados são os que interagem com a condutividade hidráulica da dentina, promovendo a obliteração dos túbulos dentinários.

Os sais de oxalato têm sido empregados em diferentes formulações dirigidas para o tratamento da hiperestesia dentinária, tanto para uso tópico e específico, como na composição de dentifrícios. Dentre esses sais, o oxalato de potássio tem sido reconhecido com um dos mais efetivos, pela capacidade de promover a precipitação intratubular de cristais de oxalato de cálcio com relativa resistência à dissolução ácida (PASHLEY *et al.*, 1984; PASHLEY; GALLOWAY, 1985, MONGIORGI *et al.*, 1992; SIMPSON *et al.*, 1992; MONGIORGI; PRATI, 1994; MONGIORGI; PRATI; FERRIERI, 1994; SUGE *et al.*, 1995; ZHANG *et al.*, 1998; GILLAN, 2001; PASHLEY *et al.*, 2001; PEREIRA; MARTINELLI; TUNG, 2002; TAY *et al.*, 2003; PEREIRA; SEGALA; GILLAM, 2005; SANTIAGO; PEREIRA; MARTINELLI, 2006; YIU *et al.*, 2005; YIU *et al.*, 2006, SADEK *et al.*, 2007). Assim, no presente estudo foram empregados dois materiais à base de oxalato, um comercialmente conhecido, o BisBlock, e outro produzido experimentalmente nos laboratórios da FOB.

Embora o oxalato seja bastante conhecido e aplicado como componente ativo em varias formulações, os estudos com o BisBlock, embora importantes, não são muitos. Todavia, os bons resultados relatados com o emprego desse material e sua disponibilização relativamente recente no mercado suscitaram sua utilização no presente trabalho como um elemento de comparação importante para comprovar a aplicação correta dos métodos de mensuração da permeabilidade dentinária (pela reprodutibilidade dos resultados) e da efetividade dos demais materiais empregados.

O raciocínio para o emprego do BisBlock na prática odontológica, além daquele de explorar o seu potencial anti-hiperestésico, é também a possibilidade de, em associação com determinados sistemas adesivos, otimizar o efeito obstrutivo de ambos, condição tida

como apropriada para reduzir a possibilidade de sensibilidade pós-operatória e o efeito nocivo do conteúdo líquido intratubular na qualidade da camada híbrida. Essa possibilidade surgiu com os primeiros experimentos de Pashley *et al.*, em 2001, empregando um gel experimental de oxalato de potássio, entendendo que a deposição subsuperficial dos cristais de oxalato de cálcio reduz a permeabilidade tubular, sem comprometer a interação dos adesivos com o substrato dentinário. De fato, esses autores constataram que o gel de oxalato de potássio, ao mesmo tempo em que reduzia a permeabilidade dentinária a níveis semelhantes àqueles proporcionados pela *smear layer*, era, ainda, capaz de manter os valores de resistência adesiva, estatisticamente semelhantes aos alcançados pela técnica regular de emprego convencional do adesivo estudado.

O material Experimental utilizado nesse estudo é o aprimoramento de uma formulação também desenvolvida na FOB, conhecida já por algum tempo no mercado como OxaGel, mas que, diferentemente desta, sofre menor alteração de sua efetividade diante das variações químicas do substrato dentinário (PEREIRA; SEGALA; GILLAM, 2005). O princípio de ação desse material é o mesmo do BisBlock, isto é, os oxalatos em reação com íons cálcio livres na superfície ou no interior dos túbulos dentinários, promovem a precipitação subsuperficial de cristais de oxalato de cálcio di-hidratados, reduzindo a condutividade hidráulica da dentina. Diferentemente do primeiro, que é uma solução de oxalato de potássio, o segundo é apresentado em forma de gel, que facilita seu emprego clínico e mantém o material em contato com os substratos dentários, independente do efeito gravitacional. Estudo elemental e molecular da dentina tratada com esse material através de micro sonda eletrônica e difração de raios X, mostrara a presença de potássio e cristais oxalato de cálcio, respectivamente, conforme esperado para esse tipo de agente (Segala 2000). Por outro lado, estudos clínicos e laboratoriais têm mostrado, respectivamente, a eficiência do gel na redução da hiperestesia dentinária (MARTINELLI; SANTIAGO; PEREIRA,

2001) sem alterar significativamente, a resistência de união dos sistemas adesivos (COSTA *et al.*, 2005).

O outro agente anti-hiperestésico escolhido para este estudo foi o Sensi Kill, que é um material a base de fosfato de cálcio. Seu princípio ativo e sua dinâmica de interação com o substrato dentinário são bastante diferentes dos materiais à base de oxalato de potássio anteriormente discutidos. O Sensi Kill, segundo o fabricante, é um sistema simples e eficaz para remineralizar rapidamente a superfície do dente pela deposição *in vivo* de fosfato de cálcio. O mineral fosfato de cálcio formado é idêntico em composição ao encontrado no próprio dente. Combinando as duas soluções no local do tratamento, resulta em uma rápida precipitação de fosfato de cálcio amorfo, o que rapidamente se converte em apatita. Este mineral é depositado no interior dos túbulos dentinários assim como na superfície da dentina, o que lhe confere, em teoria, um bom efeito obstrutivo. Além disso, é tido como resistente a subseqüentes desafios ácidos. Na prática clínica, o resultado propalado é uma dessensibilização rápida e durável. Uma vez que contém somente íons que naturalmente compõem a saliva e as estruturas dentais mineralizadas, este material é considerado biocompatível.

6.2 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Estudos têm demonstrado que a dentina hiperestésica apresenta maior número de túbulos abertos quando comparada à dentina exposta não hiperestésica (ABSI; ADDY; ADAMS, 1987; YOSHIYAMA *et al.*, 1989 e 1990) e que o desaparecimento da hiperestesia está relacionado à oclusão total ou parcial dos túbulos dentinários (ABSI; ADDY; ADAMS, 1987). Assim, o tratamento da hiperestesia se baseia na utilização de agentes que promovam a obliteração dos túbulos (PEREIRA, 1995).

Os agentes à base de oxalato atuam na oclusão dos túbulos através da formação e deposição de cristais de oxalato de cálcio em presença de meio ácido. Ao reagir com o

cálcio ionizado da dentina e do fluido dentinário, o oxalato promove a deposição de cristais de oxalato de cálcio na superfície dentinária e/ou no interior dos canalículos, bloqueando as embocaduras dos túbulos tão eficientemente quanto a *smear layer* original, reduzindo de forma significativa a permeabilidade própria dessa estrutura (PASHLEY; GALLOWAY 1985; PASHLEY *et al.*, 1989; PEREIRA, 1995).

Por outro lado, sendo o fosfato de cálcio o principal componente da dentina, Suge *et al.*, em 1995 e Kawasaki *et al.*, em 1996, consideraram natural que os túbulos fossem ocluídos com este mineral. Sugeriram, então, o tratamento da superfície dentinária com uma solução precipitada de fosfato de cálcio, acidificada com ácido fosfórico, seguida pela neutralização com uma solução básica. Devido à grande solubilidade do mineral fosfato de cálcio em meio ácido, íons cálcio e fosfato podem ser transferidos para dentro dos túbulos dentinários que, após a neutralização, resultará em precipitação de fosfato de cálcio, ocluindo os túbulos e reduzindo a permeabilidade.

Como o objetivo do tratamento com os agentes anti-hiperestésicos é reduzir a permeabilidade a valores que se assemelham aos obtidos na presença da *smear layer* (PASHLEY; LIVINGSTON; GREENHILL, 1978), a proximidade a esses valores pode ser considerada um ótimo parâmetro para analisar o poder obstrutivo desses materiais. No teste de condutividade hidráulica, comparando-se os valores da *smear layer* com os valores obtidos após a aplicação dos agentes anti-hiperestésicos, observa-se que para os materiais Experimental e BisBlock, a filtração foi menor, ou seja, a capacidade de obstrução foi maior do que a *smear*. Porém, o mesmo não aconteceu com o Sensi Kill, que apresentou valores de filtração bem maiores, próximo aos 100% do ácido fosfórico. Esse resultado contradiz os trabalhos referenciados na literatura (TUNG *et al.*, 1993; ISHIKAWA *et al.*, 1994; SUGE *et al.*, 1995 e KAWASAKI *et al.*, 1996; TUNG *et al.*, 1997; SUGE *et al.*, 1999; CHERNG; CHOW; TAKAGI, 2004) onde se verifica o efeito de redução da permeabilidade quando soluções a base de fosfato de cálcio são utilizadas.

Faz-se necessário lembrar que os resultados obtidos pelo método de condutividade hidráulica foram transformados em percentagem em relação ao condicionamento ácido, que significa 100%. Já para os resultados de EIE, a análise estatística foi realizada sobre os valores percentuais de $1/R$, considerando a resistência após condicionamento ácido como 100% de “permeabilidade”. Para os testes de condutividade hidráulica, quanto menor a permeabilidade, menor a filtração. Para a EIE, quanto menor a permeabilidade, maior a resistência. Entretanto, para efeito de determinação da efetividade dos diferentes agentes empregados, a comparação é realizada tendo como referência os resultados obtidos com a *smear layer*. Ao se analisar a literatura correspondente, observa-se que os valores de L_p na presença de *smear layer* são reduzidos, variando entre 10% e 20% da permeabilidade máxima (PASHLEY; LIVINGSTON; GREENHILL, 1978; PASHLEY *et al.*, 1978; REEDER *et al.*, 1978; YIU *et al.*, 2006). Há, entretanto, relatos de L_p mais elevadas na presença de *smear layer* (CARLO *et al.*, 1999), provavelmente em decorrência da variação dos métodos empregados para sua obtenção (CHERNG; CHOW; TAKAGI, 2004). No presente trabalho os resultados de L_p obtidos com a *smear layer* foram, respectivamente, 46,34%, 46,90% e 57,08% para os grupos do gel Experimental, para o Sensi Kill e BisBlock, e estatisticamente significantes entre si. Esses valores são semelhantes aos observados por (CARLO *et al.*, 1999), os quais obtiveram L_p s ao redor de 60% da permeabilidade máxima.

A interpretação desses dados é fundamental para realçar os resultados comparativos entre os grupos estudados. Na seqüência das mensurações de L_p , as primeiras medidas são feitas na presença de *smear layer* (permeabilidade mínima), a qual é, em seguida, removida pelo condicionamento ácido, quando se determina a L_p máxima. Somente então é que se realiza a determinação da L_p pós-tratamento. Ora, a ocorrência de L_p s mínimas tão elevadas significa que a *smear layer* formada não obstruiu completamente os túbulos, mostrando, assim, reduzido efeito de impermeabilização dos espécimes. Por outro lado, as L_p s pós-tratamento, exceto para o Sensi kill, apresentaram valores

significativamente mais baixos que os produzidos pela *smear layer*, isto é, 25,51% (Experimental) e 22,31% (BisBlock) da permeabilidade máxima. Esses valores de L_p são estatisticamente semelhantes entre si e mostram a capacidade obstrutiva desses dois materiais testados. Isso significa que as elevadas taxas de condutividade hidráulica na presença de *smear* não impõem dificuldades reais para a interpretação da efetividade dos agentes testados. Por outro lado, o Sensi Kill apresentou valores de L_p ainda mais elevados (89,71%) que os da própria *smear layer*, mostrando baixíssima capacidade obstrutiva. Infelizmente, não há trabalhos na literatura que tenham estudado os efeitos desse material na condutividade hidráulica da dentina. Convém lembrar que, nesse tipo de delineamento experimental, cada espécime é controle de si mesmo, reduzindo o impacto das variáveis próprias do substrato dentinário na comparação dos resultados intragrupos. O mesmo raciocínio se aplica para os testes de EIE.

Quando se faz a mesma comparação em relação ao teste de EIE, verifica-se pelos resultados em Ohm (**Tabela 3**), que a resistência à passagem de corrente proporcionada pelo gel Experimental e pelo BisBlock se equivalem àquela da *smear layer*. Já o Sensi Kill, apresentou a mais baixa resistência à passagem de corrente, menor ainda que a resistência oferecida pelo ácido fosfórico a 37%. Fazendo uma análise dos resultados comparativamente com o ácido fosfórico é possível observar que a *smear layer* representou uma redução média da resistência nos grupos estudados de cerca de 28,17%, 19,94% e 20,77% respectivamente. Embora pareçam diferenças pequenas, elas são maiores do que a obtida por Pradelle-Plasse, Wenger e Colon, em 2002, os quais verificaram uma diferença de 9% quando empregaram o ácido fosfórico a 32% para remoção da *smear layer*. Quando se compara os valores de resistência entre os materiais, observa-se que o gel Experimental e o BisBlock apresentam resultados estatisticamente semelhantes (1283,11 Ohm e 1780,98 Ohm respectivamente). Isso equivale dizer que ambos os materiais proporcionam menor permeabilidade e, em tese, maior obstrução tubular. O mesmo não ocorreu com o Sensi Kill,

que mostrou valor de resistência significativamente menor que os dos demais agentes (738,24 Ohm).

O desempenho menos efetivo do Sensi Kill pode ser aventado sob diferentes possibilidades. É possível supor que sua ineficiência possa estar relacionada à remoção da *smear layer* com ácido fosfórico, isto é, à persistência de um pH ácido no interior da dentina, mesmo após a lavagem dos espécimes, o que pode ter sido determinante para a dissolução recorrente desse material. Essa possibilidade, certamente, proporcionou menor efeito para os dois materiais à base de oxalato de potássio, uma vez que os cristais de oxalato de cálcio depositados são tidos como relativamente ácido-resistentes (TAY *et al.*, 2003; PEREIRA; SEGALA; GILLAM, 2005; SANTIAGO; PEREIRA; MARTINELLI, 2006). Pode-se, ainda, sugerir que a disponibilização de íons cálcio e fosfato não tenha sido suficiente para a precipitação de fosfato de cálcio em quantidade necessária para obliterar os túbulos dentinários. Por outro lado, os cristais de fosfato de cálcio que eventualmente se precipitaram na superfície dos espécimes, podem ter sido rapidamente dissolvidos quando em contato com as soluções utilizadas para a realização dos testes, seja a água deionizada empregada nos testes de condutividade hidráulica, ou a solução de perclorato de sódio a 0,05 molar, utilizada nos testes de EIE. Outra possibilidade é que os cristais que se formaram tenham sido tão volumosos e irregulares a ponto de não permitirem a obliteração os túbulos (TUNG *et al.*, 1993). De fato, Ishikawa e Eanes, em 1993, e Ishikawa, Eanes e Tung, em 1994, analisando as características morfológicas dos cristais formados verificaram que o tamanho dos cristais aumentava quando diminuía a supersaturação da solução. Acredita-se que, *in vivo*, as condições são mais favoráveis para a precipitação do mineral fosfato de cálcio devido à presença da saliva (SUGE *et al.*, 1995; CHERNG; CHOW; TAKAGI, 2004).

Ainda que diferenças sejam observadas entre condutividade hidráulica e EIE, o padrão de comportamento dos agentes anti-hiperestésicos encontrou correspondência entre

os dois métodos. Note-se que, nos testes de EIE, a etapa do condicionamento ácido, que nos testes de Lp corresponde à permeabilidade máxima, é aqui representada pela mínima resistência a passagem de corrente elétrica. Dessa forma, quanto mais elevados os valores de resistência, menor o transporte de íons e menor a permeabilidade.

Apreciando criticamente os dois métodos empregados no presente trabalho (condutividade hidráulica e EIE) pode-se dizer que ambos apresentam aspectos positivos e negativos na determinação da permeabilidade da dentina, conforme o delineamento experimental aqui adotado.

Dentre as principais críticas que se pode fazer sobre o método da condutividade hidráulica nas condições aqui estudadas, pode-se relacionar: a permanente possibilidade de falhas do circuito hidráulico que compõe o sistema de filtração; a pressão hidráulica adotada (703,1 cm H₂O) muito acima da pressão fisiológica do complexo dentinopulpar (15 - 20 cm H₂O) e a movimentação e compactação de partículas no interior dos túbulos dentinários sob pressão, muitas vezes inviabilizando a medição. O aspecto positivo do método, por ser não destrutivo, é a possibilidade de utilizar o espécime como seu próprio controle, reduzindo o efeito das variáveis nas avaliações intragrupos.

Quanto ao método de EIE, a maior fragilidade é a eventual interferência da composição química dos materiais testados na alteração do meio eletrolítico e, portanto, na correta interpretação da resistência elétrica do circuito. Outro aspecto está relacionado com o tipo de amostra empregado, nesse caso, discos de dentina, cujo substrato representa um desafio permanente de interpretação dos fenômenos eletroquímicos que incidem sobre ele. Obviamente, assim como o método anterior, para este também há necessidade de dispositivos específicos para as medições, o que, de certa forma, pode dificultar seu emprego sistemático. Talvez a maior vantagem desse método sobre o teste de condutividade hidráulica seja, exatamente, a de não exigir um gradiente de pressão hidráulica e movimentação de fluido intratubularmente, uma vez que o que se determina é a

condução iônica através da amostra. Desta forma, não ocorre a obstrução dos túbulos por compactação do conteúdo tubular. Assim como o método de condutividade hidráulica, a EIE também fornece valores quantitativos sem a destruição da amostra, podendo utilizar o espécime como seu próprio controle.

A despeito desses comentários e concordando com outros autores (SCHOLBERG; BORGGREVEN; DRIESSENS, 1984; LEVINKIND; VANDERNOOT; ELLIOTT, 1990; LEVINKIND; VANDERNOOT; ELLIOTT, 1992; HUYSMANS *et al.*, 1996; LONGBOTTOM *et al.*, 1996; PRADELLE-PLASSE; WENGER; COLON, 2002; ELDARRAT; HIGH; KALE, 2004; PRADELLE-PLASSE *et al.*, 2004a e 2004b; WADGAONKAR *et al.*, 2006; ELDARRAT *et al.*, 2007; LIAO; FENG; CHEN, 2007) o método de EIE pode ser considerado uma alternativa importante para a determinação quantitativa da permeabilidade da dentina, não apenas quando da utilização de agentes anti-hiperestésicos, mas para outros procedimentos restauradores que têm como finalidade complementar a impermeabilização da superfície dentinária exposta. Entretanto, outros estudos devem ser realizados para a correta determinação dos parâmetros a serem adotados, para o controle exato das variáveis e para testar a reprodutibilidade dos resultados.

7 CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

Dentro dos limites do presente estudo, pôde ser concluído que:

7.1 Os agentes anti-hiperestésicos estudados apresentaram diferentes valores quantitativos de redução da permeabilidade dentinária, seja pelo método da condutividade hidráulica ou pelo método da espectroscopia de impedância eletroquímica.

7.1.1 Os agentes Experimental e BisBlock mostraram-se efetivos e estatisticamente semelhantes na redução da permeabilidade dentinária, pelos dois métodos de avaliação estudados;

7.1.2 O Sensi Kill apresentou pouco poder obstrutivo quando avaliado por meio do teste de condutividade hidráulica e nenhuma obstrução pelo método de espectroscopia de impedância eletroquímica. Para ambos os testes esse material foi significativamente inferior aos demais. Assim a primeira hipótese nula foi parcialmente comprovada.

7.2 Observou-se correspondência entre os resultados de permeabilidade dentinária obtidos por meio dos testes de condutividade hidráulica e de espectroscopia de impedância eletroquímica.

7.2.1 A espectroscopia de impedância eletroquímica pode ser considerada um método alternativo para a avaliação da capacidade obstrutiva de agentes anti-hiperestésicos, contrariando, assim, a segunda hipótese nula proposta.

ANEXO A - Ofício de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru.

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comitê de Ética em Pesquisa

Processo nº 61/2004

Bauru, 27 de maio de 2004.

Senhor Professor,

O projeto de pesquisa encaminhado a este Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, denominado **“Estudo in vitro da fisuão de íons K derivados de agentes anti-hiperestésicos à base de oxalato de potássio através da dentina humana, medida por meio de condutividade”**, de autoria de Giovana Calicchio Canova, que será desenvolvido sob sua orientação, foi enviado ao relator para avaliação.

Na reunião de 26 de maio de 2004 o parecer do relator, **aprovando o projeto**, foi aceito pelo Comitê, considerando que não existem infrações éticas pendentes.

Informamos que após o envio do trabalho concluído, este Comitê enviará o parecer final, que será utilizado para publicação do trabalho.

Atenciosamente,

Profª Drª Ana Lúcia Alvares Capelozza
Coordenadora

Ilmº Sr. **Prof. Dr. José Carlos Pereira**
DD. Docente do Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários

ANEXO B – Ofício de aprovação da alteração da quantidade de espécimes e do título do trabalho pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru.

**Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru**

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – Brasil – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comitê de Ética em Pesquisa (3235-8356)
e-mail: mferrari@fob.usp.br

Of.nº CEP/14_ 2007/FOB

Processo nº 61/2004

Bauru, 05 de abril de 2007.

Senhor Professor,

Em atenção ao seu pedido para alteração da quantidade de espécimes utilizados no projeto de pesquisa "Estudo in vitro da difusão de íons K derivados de agentes anti-hiperestésicos à base de oxalato de potássio através da dentina humana, medida por meio de condutividade", de autoria de Giovana Calicchio Canova, sob sua orientação, informamos Vossa Senhoria que após análise por um Relator deste Comitê de Ética em Pesquisa, a solicitação foi aprovada pelo Relator, (de 30 para 45 espécimes) e aceita por unanimidade em reunião deste Comitê realizada no dia 28 de março de 2007.

Informamos ainda, a aprovação da alteração do título, para "Estudo in vitro do efeito de agentes anti-hiperestésicos na permeabilidade dentinária por meio de ensaios de condutividade hidráulica e impedância".

Solicitamos que ao término do trabalho, Vossa Senhoria envie um Relatório Final para avaliação deste Colegiado.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Henrique Rubo
Coordenador

Prof. Dr. José Carlos Pereira

Docente do Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

1. ABSI, E. G.; ADDY, M.; ADAMS, D. Dentine hypersensitivity. A study of the patency of dentinal tubules in sensitive and non-sensitive cervical dentine. **J. clin. Periodont.**, v.14, n.5, p.280-4, 1987.
2. BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods**. John Wiley & Sons, New York, 1980.
3. BISSADA, N. J. Syntomatology and clinical features of hypersensitive teeth. **Arch. oral Biol.**, v.39, p.31S-2S, 1994. Supplement.
4. BOUKAMP, B. A. **Equivalent Circuit Users Manual**, the Netherlands, University of Twente, Enschede, 1989.
5. BRÄNNSTRÖM, M. **Dentin and pulp in restorative dentistry**. London, Wolf Medical, 1982. p.22-37.
6. BRÄNNSTRÖM, M.; ASTRÖM, A. The hydrodynamics of the dentine; its possible relationship to dentinal pain. **Int. dent. J.**, v.22, n.2, p.219-27, 1972.
7. BRÄNNSTRÖM, M.; JOHNSON, G. Effects of various conditioners and cleaning agents on prepared dentin surfaces: a scanning electron microscopic investigation. **J. prosth. Dent.**, v.31, n.4, p.422-30, 1974.
8. BRÄNNSTRÖM, M.; LINDEN, L. A.; ASTRÖM, A. The hydrodynamics of the dental tubule and of pulp fluid. A discussion of its significance in relation to dentinal sensitivity. **Caries Res.**, v.1, n.4, p.310-7, 1967.
9. BYERS, M. R.; NÄRHI, M. V. O. Dental injury models: experimental tools for understanding neuroinflammatory interactions and polymodal nociceptor functions. **Crit. Rev. oral Biol. Med.**, v.10, n.1, p.4-39, 1999.
10. CAMPS, J. *et al.* Low versus high pressure for *in vitro* determination of hydraulic conductance of human dentine. **Arch. oral Biol.**, v.42, n.4, p.293-8, 1997.
11. CARLO, P. *et al.* Dentin permeability after tooth brushing with different toothpastes. **Am. J. Dent.**, v.12, n.4, p.157-208, 1999.

12. CARVALHO, L. A.; ANDRADE, A. R.; BUENO, P. Espectroscopia de impedância eletroquímica aplicada ao estudo das reações heterogêneas em anodos dimensionalmente estáveis. **Quím. Nova**, v.29 n.4, p.796-804, 2006.
13. CHABANSKI, M. B. *et al.* Prevalence of cervical dentine sensitivity in a population of patients referred to a specialist periodontology department. **J. clin. Periodont.**, v.23, n.11, p.989-92, 1996.
14. CHERNG, A. M.; CHOW, L. C.; TAKAGI, S. Reduction in dentin permeability using mildly supersaturated calcium phosphate solutions. **Arch. oral Biol.**, v.49, p.91-8, 2004.
15. CIUCCHI, B. *et al.* Clinical and histological observations of human teeth with cervically exposed dentine. **Arch. oral Biol.**, v.39, p.148S, 1994. Supplement.
16. COFFEY, C. T.; INGRAM, M. J.; BJORNDALL, A. Analysis of human dentinal fluid. **Oral Surg.**, v.30, n.6, p.835-7, 1970.
17. COSTA, L. C. *et al.* Effect of oxalate on bond strength of treated dentin. **J. dent. Res.**, v.84, 2005. Special Issue. / Abstract 451/.
18. COSTER, H. G. L.; CHILCOTT, T. C.; COSTER, A. C. F. Impedance spectroscopy of interfaces, membranes and ultrastructures. **Bioelectrochemistry and Bioenergetics**, v.40, p.79-98, 1996.
19. DOWELL, P., ADDY, M. Dentine hypersensitivity: a review aetiology, symptoms and theories of pain production. **J. clin. Periodont.**, v.10, n.4, p.341-50, 1983.
20. DRAGOLICH, W. E.; PASHLEY, D. H.; BRENNAN, W. A. An in vitro study of dentinal tubule occlusion by ferric oxalate. **J. Periodont.**, v.64, n.11, p.1045-51, 1993.
21. ECCLES, J. D.; JENKINS, W. G. Dental erosion and diet. **J. dent. Res.**, v.2, n.4, p.153-9, 1974.
22. ELDARRAT, A. H.; HIGH, A. S.; KALE, G. M. In vitro analysis of 'smear layer' on human dentine using ac-impedance spectroscopy. **J. Dent.**, v.32, n.7, p.547-54, 2004.
23. ELDARRAT, A. H. *et al.* Age-related changes in ac-impedance spectroscopy studies of normal human dentine. **J. Mater. Sci. Mater. Med.**, v.18, n.6, p.1203-10, 2007.

24. FAYAD, M. I.; CARTER, J. M.; LIEBOW, C. Transient effects of low-energy CO₂ laser irradiation on dentinal impedance: implications for treatment of hypersensitive teeth. **J. Endod.** v.22, n.10, p.526-31, 1996.
25. GARBEROGLIO, R.; BRÄNNSTRÖM, M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. **Arch. oral Biol.**, v.21, n.6, p.355-62, 1976.
26. GILLAN, D. G.; MORDAN, N. J.; NEWMAN, H. N. The dentin disc surface: a plausible model for dentin physiology and dentin sensitivity evaluation. **Advanc. dent. Res.**, v.11, n.4, p.487-501, 1997.
27. GILLAN, D. G. *et al.* The effects of oxalate-containing products on the exposed dentine surface: an SEM investigation. **J. oral Rehab.**, v.28, p.1037-44, 2001.
28. GOODIS, H. E; MARSHALL, G. W.; WHITE, J. M. Post-extraction history effects on dentin permeability. **Archs. oral Biol.**, v.36, p.561-6, 1991.
29. GREENHILL, J. D.; PASHLEY, D. H. The effects of desensitizing agents on the hydraulic conductance of human dentin *in vitro*. **J. dent. Res.**, v.60, n.3, p.686-98, 1981.
30. GRIPPO, J. O. Abfraction: a new classification of hard tissues lesions of teeth. **J. Esthet. Dent.**, v.3, n.1, p.14-9, 1991.
31. GROSSMAN, L. I. A systematic method for the treatment of hypersensitive dentin. **J. Am. Dent. Assoc.**, v.22, p.592-602, 1935.
32. HAHN, C.; OVERTON, B. The effects of immunoglobulins on the convective permeability of human dentine *in vitro*. **Arch. oral Biol.**, v.42, n.12, p.835-43, 1997.
33. HOLLAND, G. R. Morphological features of dentine and pulp related to dentine sensitivity. **Arch. oral Biol.**, v.39, p.3S-11S, 1994. Supplement.
34. HOLLAND, G. R. *et al.* Guidelines for the design and conduct of clinical trials on dentine hypersensitivity. **J. clin. Periodont.**, v.24, n.11, p.808-13, 1997.
35. HOLLIDAY, D.; RESNICK, R. **Fundamentos da física 3 – Eletromagnetismo**. Livros técnicos e científicos editora LTDA, Rio de Janeiro, 1991.
36. HUYSMANS, M. -C. D. N. J. M. *et al.* Impedance spectroscopy of teeth with and without approximal caries lesionsan in vitro study. **J. dent. Res.**, v.75, n.11, p.1871-8, 1996.

37. ISHIKAWA, K.; EANES, E. D. The hydrolysis of anhydrous dicalcium phosphate into hydroxyapatite. **J. Dent. Res.** V.72, p.474-80, 1993.
38. ISHIKAWA, K; EANES, E. D.; TUNG, M. S. The effect of supersaturation on apatite crystal formation in aqueous solutions at physiologic ph and temperature. **J. dent. Res.**, v.73, n. 8, p.1462-69, 1994.
39. ISHIKAWA, K. *et al.* Occlusion of dentinal tubules with calcium phosphate using acidic calcium phosphate solution followed by neutralization. **J. dent. Res.**, v.73, n.6, p.1197-204, 1994.
40. JACQUOT, B, M.; PANIGHI, M. M.; STEINMETZ, P.; G'SELL, C. Microleakage of Cavit, CavitW, CavitG and IRM by impedance spectroscopy. **J. Endod.**, v.29, n.4, p.256-61, 1996a.
41. JACQUOT, B, M.; PANIGHI, M. M.; STEINMETZ, P.; G'SELL, C. Evaluation of temporary restorations' microleakage by means of electrochemical impedance measurements. **J. Endod.**, v.22, n.11, p.586-9, 1996b.
42. JOHNSON, G.; BRÄNNSTRÖM, M. The sensitivity of dentin. Changes in relation to conditions at exposed tubule apertures. **Acta odont. scand.**, v.32, n.1, p.29-38, 1974.
43. JOHNSON, G.; OLGART, L.; BRÄNNSTRÖM, M. Outward fluid flow in dentin under a physiologic pressure gradient: experiments *in vitro*. **Oral Surg.**, v.35, n.2, p.238-48, 1973.
44. KANAPKA, J. A. Over-the-counter dentifrices in the treatment of tooth hypersensitivity - Review of clinical studies. **Dent. Clin. N. Amer.**, v.34, n.3, p.545-60, 1990.
45. KAWASAKI, A. *et al.* Effects of hexafluorosilicate on the precipitate composition and dentine tubule occlusion by calcium phosphate. **J. Dent.**, v.24, n.6, p.429-34, 1996.
46. KERNS, D. G. *et al.* Dentinal tubule occlusion and root hypersensitivity. **J. Periodont.**, v.62, n.7, p.421-8, 1991.
47. KIM, S. Hypersensitive teeth: desensitization of pulpal sensory nerves. **J Endod.**, v.12, n.10, p.482-5, 1986.

48. LEE, W. C; EAKLE, W. S. Stress-induced cervical lesions: review of advances in the past 10 years. **J. prosth. Dent.**, v.75, n.5, p.487-94, 1996.
49. LEVINKIND, M.; VANDERNOOT, T. J.; ELLIOTT, J. C. Electrochemical impedance characterization of human and bovine enamel. **J. dent. Res.**, v.69, n.12, p.1806-11, 1990.
50. LEVINKIND, M.; VANDERNOOT, T. J.; ELLIOTT, J. C. Evaluation of smear layers on serial sections of human dentin by means of electrochemical impedance measurements. **J. dent. Res.**, v.71, n.3, p.426-33, 1992.
51. LIAO, Y. M.; FENG, Z. D.; CHEN, Z. L. In situ tracing the process of human enamel demineralization by electrochemical impedance spectroscopy (EIS). **J. Dent.**, v.35, n.5, p.425-30, 2007.
52. LONGBOTTOM, C. *et al.* Detection of dental decay and its extent using a.c. impedance spectroscopy. **Nat. Med.** v.2, n.2, p.235-7, 1996.
53. MARTINELI, A. C. B. F.; SANTIAGO, S. L.; PEREIRA, J. C. Avaliação da eficácia de agentes anti-hiperestésicos: métodos clínicos e laboratoriais. **Rev. FOB**, v. 9, n. 3/4, p.157-166, 2001.
54. MCDONALD, J. R. **Impedance Spectroscopy : Emphasizing Solid Materials and Systems**. John Wiley & Sons Canada, 1987.
55. MERCHANT, V. A.; LIVINGSTON, M. J.; PASHLEY, D. H. Dentin permeation: comparison of diffusion with filtration. **J. dent. Res.**, v.56, n.10, p.1161-4, 1977.
56. MJÖR, I. A. Histologic studies of human coronal dentine following the insertion of various materials in experimentally prepared cavities. **Arch. oral Biol.**, v.12, n.4, p.441-52, 1967.
57. MJÖR, I.A. **Pulp dentin biology in restorative dentistry**. Chicago, Quintessence, 2002.
58. MONGIORGI, R.; PRATI, C. Mineralogical and Crystallographical study of γ -cálcio oxalate on dentin surface *in vitro*. **Arch. oral Biol.**, v.39, p.152S, 1994. Supplement.
59. MONGIORGI, R.; PRATI, C; FERRIERI, P. Effects of desensitizing toothpastes on dentine permeability. **Arch. oral Biol.**, v.39, p.144S, 1994. Supplement.

60. MONGIORGI, R. *et al.* Calcium oxalate smear layer: mineralogical and crystallographic study. **Boll. Soc. It. Biol. Sper.**, v.68, n.2, p.99-103, 1992.
61. MORDAN, N. J.; BARBER, P. M.; GILLAM, D. G. The dentine disc. A review of its applicability as a model for the *in vitro* testing of dentine hypersensitivity. **J. oral Rehab.**, v.24, n.2, p.148-56, 1997.
62. MUZZIN, K. B.; JOHNSON, R. Effects of potassium oxalate on dentin hypersensitivity *in vivo*. **J. Periodont.**, v.60, n.3, p.151-8, 1989.
63. NICHOLSON, J.W. Biologic considerations. In: SUMMITT, J.B.; ROBBINS, J.W.; SCHWARTZ, R.S. **Fundamentals of operative dentistry: a contemporary approach**. 2.ed. Chicago, Quintessence, 2001. Cap.1, p.1-25.
64. ORCHARDSON, R. *et al.* Dentine hypersensitivity into the 21st century. **Arch. oral Biol.**, v.39, p.113S-19S, 1994. Supplement.
65. OUTHWAITE, W. C.; LIVINGSTON, M. J.; PASHLEY, D. H. Effects of changes in surface area, thickness, temperature and post-extraction time on human dentine permeability. **Arch. oral Biol.**, v.21, n.10, p.599-603, 1976.
66. OUTHWAITE, W. C.; MCKENZIE, D. M.; PASHLEY, D. H. A versatile split-chamber device for studying dentin permeability. **J. dent. Res.**, v.53, n.6, p.1503, 1974.
67. PASHLEY, D. H. Dentin permeability, dentin sensitivity, and treatment through tubule occlusion. **J. Endod.**, v.12, n.10, p.465-74, 1986.
68. PASHLEY, D. H. Dentine permeability: theory and practice. In: **Experimental Endodontics**. Spangberg, LSW. ed. Boca Raton, FL, CRC Press, 1990a.
69. PASHLEY, D. H. Mechanism of dentin sensitivity. **Dent. Clin. N. Amer.**, v.34, n.3, p.449-73, 1990b.
70. PASHLEY, D. H. Dentin sensitivity: theory and treatment. **Focus on Adult Oral Health**, v.1, n.2, p.1-7, 1993.
71. PASHLEY, D. H. Dentine permeability and its role in the pathobiology of dentine sensitivity. **Arch. oral Biol.**, v.39, p.73S-80S, 1994. Supplement.

-
72. PASHLEY, D. H.; CARVALHO, R. M. Dentine permeability and dentine adhesion. **J. Dent.**, v.25, n.5, p.355-72, 1997.
73. PASHLEY, D. H.; GALLOWAY, S. E. The effects of oxalate treatment on the smear layer of ground surfaces of human dentine. **Arch. oral Biol.**, v.30, n.10, p.731-7, 1985.
74. PASHLEY, D. H.; LIVINGSTON, M. J. Effect of molecular size on permeability coefficients in human dentine. **Arch. oral Biol.**, v.23, n.5, p.391-5, 1978.
75. PASHLEY, D. H.; KALATHOOR, S.; BURNHAM, D. The effects of calcium hydroxide on dentin permeability. **J. dent. Res.**, v.65, n.3, p.417-20, 1986.
76. PASHLEY, D. H.; LEIBACH, J. G.; HORNERT, J. A. The effects of burnishing NaF/Kaolin/Glycerin paste on dentin permeability. **J. Periodont.**, v.58, n.1, p.19-23, 1987.
77. PASHLEY, D. H.; LIVINGSTON, M. J.; GREENHILL, J. D. Regional resistances to fluid flow in human dentine *in vitro*. **Arch. oral Biol.**, v.23, n.9, p.807-10, 1978.
78. PASHLEY, D. H.; LIVINGSTON, M. J.; WHITFORD, G. M. The effect of molecular size on reflection coefficients in human dentin. **Arch. oral Biol.**, v.24, n.3, p.455-60, 1979.
79. PASHLEY, D. H.; MICHELIN, V.; KEHL T. Dentin permeability: effects of smear layer removal. **J. prosth. Dent.**, v.46, n.5, p.531-7, 1981.
80. PASHLEY, D. H.; NELSON, R.; WILLIAMS, E. C. Dentin hydraulic conductance: changes produced by red blood cells. **J. dent. Res.**, v.60, n.10, p.1797-1802, 1981.
81. PASHLEY, D. H.; STEWART, F. P.; GALLOWAY, S. E. Effects of air-drying *in vitro* on human dentine permeability. **Arch. oral Biol.**, v.29, n.5, p.379-83, 1984.
82. PASHLEY, D. H.; THOMPSON, S. M.; STEWART, F. P. Dentin permeability: effects of temperature on hydraulic conductance. **J. dent. Res.**, v.62, n.9, p.956-9, 1983.
83. PASHLEY, D. H. *et al.* The effects of the degree of tubule occlusion on the permeability of human dentine *in vitro*. **Arch. oral Biol.**, v.23, n.12, p.1127-33, 1978.
84. PASHLEY, D. H. *et al.* Comparison of *in vitro* and *in vivo* dog dentin permeability. **J. dent. Res.**, v.60, n.3, p.763-8, 1981.

85. PASHLEY, D. H. *et al.* Dentin permeability. Effects of desensitizing dentifrices *in vitro*. **J. Periodont.**, v.55, n.9, p.522-5, 1984.
86. PASHLEY, D. H. *et al.* Regional variability in the permeability of human dentine. **Arch. oral Biol.**, v.32, n.7, p.519-23, 1987.
87. PASHLEY, D. H. *et al.* Dentin: a dynamic substrate - A review. **Scanning Microsc. Int.**, v.3, n.1, p.161-76, 1989.
88. PASHLEY, E. L. *et al.* Permeability of normal versus carious dentin. **Endod. dent. Traumat.**, v.7, n.5, p.207-11, 1991.
89. PASHLEY, D. H. *et al.* The use of oxalate to reduce dentin permeability under adhesive restorations. **Am. J. Dent.**, v.14, n.2, p.89-94, 2001.
90. PEREIRA, J. C. Hiperestesia dentinária – aspectos clínicos e forma de tratamento. **Maxi-Odonto**, v.1, n.2, p.1-24, 1995.
91. PEREIRA, J. C.; SEGALA, A. D. **Hipersensibilidade pós-tratamento restaurador**. In: Dentística/Laser. São Paulo: Artes Médicas, 2002. p.338-394.
92. PEREIRA, J. C.; MARTINELLI, A. C. B. F.; TUNG, M. S. Replica of Human Dentin Treated With Different Desensitizing Agents: A Methodological SEM Study *In Vitro*. **Braz. Dent. J.**, v.13, n.2, p.75-85, 2002.
93. PEREIRA, J. C.; SEGALA, A. D.; GILLAM, D. G. Effect of desensitizing agents on the hydraulic conductance of human dentin subjected to different surface pré-treatments- an in vitro study. **Dent. Mat.**, v. 21, n.2, p.129-38, 2005.
94. PEREIRA, J. C. *et al.* Tratamentos conservadores da vitalidade pulpar: Princípios biológicos e clínicos. **Biodonto**, v.2, n.3, p. 7-100, 2004.
95. POCRIFKA, L. **Estudos das propriedades magnéticas de filmes de poli(3-heiltiofeno)**. São Carlos, 2005. Tese (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos.
96. PRADELLE-PLASSE, N.; WENGER, F.; COLON, P. Effect of conditioners on dentin permeability using an impedance method. **J. Dent.**, v.30, n.5-6, p.251-57, 2002.

-
97. PRADELLE-PLASSE, N. *et al.* Quantitative evaluation of self-etching primer action on dentin permeability: a correlation between impedance measurements and acidity. **Am. J. Dent.**, v.17, n.2, p.131-36, 2004a.
98. PRADELLE-PLASSE, N. *et al.* Evaluation of microleakage of composite resin restorations by an electrochemical technique: the impedance methodology. **Dent. Mat.** v.20, n.5, p.425-34, 2004b.
99. PRATI, C. *et al.* Scanning electron microscopy and dentinal permeability analysis of smear layer. **Boll. Soc. It. Biol. Sper.**, v.67, n.5, p.481-5, 1991.
100. REEDER *et al.* Dentin permeability: determinants of hydraulic conductance. **J. dent. Res.**, v.57, n.2, p.187-93, 1978.
101. ROSENTHAL, M. W. Historic review of the management of tooth hypersensitivity. **Dent. Clin. N. Amer.**, v.34, n.3, p.403-27, 1990.
102. SADEK, F.T.; PASHLEY, D.H.; FERRARI, M.; TAY, F. R. Tubular occlusion optimizes bonding of hydrophobic resins to dentin. **J. dent. Res.**, v.86, n.6, p.524-8, 2007.
103. SANTIAGO, S. L.; PEREIRA, J. C.; MARTINELLI, A. C. B. F. Effect of commercially available and experimental potassium oxalate-based dentin desensitizing agents in dentin permeability: influence of time and filtration system. **Braz. Dent. J.**, v.17, n.4, p.300-5, 2006.
104. SCHOLBERG, H. P.; BORGGREVEN, J. M.; DRIESSENS, F. C. Impedance of dental enamel membranes as a predictor for their permeability. **Med. Biol. Eng. Comput.**, v.20, n.5, p.578-84, 1982.
105. SCHOLBERG, H. P.; BORGGREVEN, J. M.; DRIESSENS, F. C. A phenomenological interpretation of the frequency-dependent impedance behaviour of bovine dental enamel. **Arch. oral Biol.**, v.29, n.12, p.965-70, 1984.
106. SCHOLBERG, H. P.; BORGGREVEN, J. M.; DRIESSENS, F. C. The analysis of the small-signal ac-response of bovine enamel membranes. **Ber. Bunsenges Phys. Chem.**, v.91, p.129-34, 1987.

- 107.SEGALA, A. D. **Efeito de agentes anti-hiperestésicos à base de oxalato de potássio na permeabilidade da dentina humana. Estudo in vitro.** Bauru, 2000. 288p. Tese (Doutorado) - Faculdade de odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
- 108.SELTZER, S.; BENDER I. B. **The dental pulp: biologic considerations in dental procedures.** 2nd ed. Philadelphia: Lippincott, 1975. 356 p.
- 109.SENA, F. J. Dentinal permeability in assessing therapeutic agents. **Dent. Clin. N. Amer.**, v.34, n.3, p.475-90, 1990.
- 110.SIMPSON, M. D. *et al.* Effects of aluminum oxalate/glycine pretreatment solutions on dentin permeability. **Amer. J. Dent.**, v.5, n.6, p.324-8, 1992.
- 111.STANLEY, H. R.; PEREIRA, J. C.; SPIEGEL, E. The detection and prevalence of reactive and fisiological sclerotic dentin, reparative dentin and dead tracts beneath various types of dental lesions according to tooth surface and age. **J. oral Path.**, v.12, n.4, p.257-89, 1983.
- 112.STEAD, W. J.; ORCHARDSON, R.; WARREN, P. B. A mathematical model of potassium ion diffusion in dentinal tubules. **Arch. oral Biol.**, v.41, n.7, p.679-87, 1996.
- 113.STEVENSON, T. S. Fluid movement in human dentine. **Arch. oral Biol.**, v.10, n.6, p.935-44, 1965.
- 114.SUGE, T. *et al.* Duration of dentinal tubule occlusion formed by calcium phosphate precipitation method: *in vitro* evaluation using synthetic saliva. **J. dent. Res.**, v.74, n.10, p.1709-14, 1995.
- 115.SUGE, T. *et al.* Evaluation of post-treatment solutions for clinical use with the calcium phosphate precipitation method. **J. Dent.**, v.27, n.7, p.487-96, 1999.
- 116.TAY, F. R. *et al.* Integrating oxalate desensitizers with total-etch two-step adhesive. **J. dent. Res.**, v.82, n.9, p.703-7, 2003.
- 117.THOMAS, H. F. The dentin-predentin complex and its permeability: anatomical overview. **J. dent. Res.**, v.64, p.607-12, 1985. Special Issue.
- 118.TROWBRIDGE, H. O.; KIM, S. Pulp development, structure and function. In: COHEN, S.; BURNS, R.C. **Pathways of the pulp.** St. Louis, Mosby, 6th ed, p.296-336, 1994.

- 119.TUNG, M. S. *et al.* Effects of calcium phosphate solutions on dentine permeability. **J. Endod.**, v.19, n.8, p.383-7, 1993.
- 120.TUNG, M. S. *et al.* Dentin desensitization by in situ formation of calcium phosphate. **J. dent. Res.**, v.76, p. 387, 1997. Special issue. /Abstract 2985/.
- 121.VANDERNOOT, T. J.; LEVINKIND, M. Ac impedance characteristics of human dental enamel and dentine. **J. of Electroanalytical Chemistry**, v.300, n.1-2, p.191-8, 1991.
- 122.WADGAONKAR, B. *et al.* Evaluation of the effect of water-uptake on the impedance of dental resins. **Biomaterials**, v.27, n.17, p.3287-94, 2006.
- 123.WICHGERS, T. G.; EMERT, R. L. Dentin hypersensitivity. **Gen. Dent.**, v.44, n.3, p.225-30, 1996.
- 124.YAMAMOTO, H. *et al.* precipitation of oxalates in dog dentinal tubules *in vivo*. In: **Proceeding of International Conference on Dentin/Pulp Complex**. Tokyo, Quintessence, 1996. p.278-9.
- 125.YOSHIYAMA, M. *et al.* Scanning electron microscopic characterization of sensitive vs. insensitive human radicular dentin. **J. dent. Res.**, v.68, n.11, p.1498-1502, 1989.
- 126.YOSHIYAMA, M. *et al.* Transmission electron microscopic characterization of hypersensitive human radicular dentin. **J. dent. Res.**, v.69, n.6, p.1293-7, 1990.
- 127.YIU, C. K. Y. *et al.* Incompatibility of oxalate desensitizers with acidic, fluoride-containing total-etch adhesives. **J. Dent.**, v.84, n.8. p.730-5, 2005.
- 128.YIU, C. K. Y. *et al.* Single-bottle adhesives behave as permeable membranes after polymerisation. II. Differential permeability reduction with an oxalate desensitiser. **J. Dent.**, v.34, n.2. p.106-16, 2006.
- 129.ZHANG, Y. *et al.* The effects of pain-free desensitizer on dentine permeability and tubule occlusion over time, *in vitro*. **J. clin. Periodont.**, v.25, n.11, p.884-91, 1998.

ABSTRACT

ABSTRACT

IN VITRO STUDY OF THE EFFECT OF ANTI-HYPERESTHESIC AGENTS IN DENTIN PERMEABILITY THROUGH HYDRAULIC CONDUCTANCE AND ELETROCHEMICAL IMPEDANCE SPECTROSCOPY

The aim of the present study was to quantify *in vitro* the dentin permeability of dentin treated with two potassium oxalate dentin desensitizers and one calcium phosphate agent through hydraulic conductance (Lp) and eletrochemical impedance spectroscopy (EIS) tests and, yet, to determine whether EIS may be considered a suitable alternative method to evaluate the occlusive capacity of the dentin desensitizers. For the hydraulic conductance, twenty-four dentin discs were obtained from extracted human third molars, which were divided into three groups of eight specimens, corresponding to the materials to be tested: Experimental gel, Sensi Kill and BisBlock. Other eighteen dentin discs were selected for the EIS and divided into three groups of six specimens corresponding to the three dentin desensitizers mentioned before. For both tests, the following conditions were measured: in the presence of smear layer, after 37% phosphoric acid etching and after the application of the tested materials in the occlusal surfaces of dentin discs. Based upon the statistical analysis of the results, it was demonstrated by both methods that Experimental gel and BisBlock performed statistically similarly in reducing dentin permeability and were significantly more efficient than Sensi Kill. It can be concluded that the dentin desensitizers Experimental e BisBlock were demonstrated to be effective in the reduction of dentin permeability by both experimental methods and that EIS may be considered as an alternative method for the evaluation of the obstructive capacity of dentin desensitizers.

Keywords: Amorphous calcium phosphate. Dentin desensitizer. Dentin permeability. Eletrochemical impedance. Hydraulic conductance. Potassium oxalate.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Valores médios de Lp e percentagem do grupo Experimental para cada espécime nas condições testadas pela condutividade hidráulica.

Espécime	Smear Layer	Ácido Fosfórico	Experimental
1	0,2443 (76,44%)	0,3196 (100%)	0,0630 (19,71%)
2	0,0999 (55,56%)	0,1798 (100%)	0,0645 (35,90%)
3	0,2966 (85,78%)	0,3457 (100%)	0,0876 (25,33%)
4	0,0922 (35,09%)	0,2628 (100%)	0,0799 (30,41%)
5	0,0968 (23,95%)	0,4041 (100%)	0,0891 (22,05%)
6	0,1291 (39,81%)	0,3242 (100%)	0,0907 (27,96%)
7	0,0876 (22,18%)	0,3949 (100%)	0,0814 (20,62%)
8	0,0799 (31,90%)	0,2505 (100%)	0,0553 (22,09%)

APÊNDICE B - Valores médios de Lp e percentagem do grupo Sensi Kill para cada espécime nas condições testadas pela condutividade hidráulica.

Espécime	<i>Smear Layer</i>	Ácido Fosfórico	Sensi kill
9	0,1306 (61,59%)	0,2121 (100%)	0,1783 (84,06%)
10	0,0661 (22,28%)	0,2966 (100%)	0,2843 (95,85%)
11	0,0599 (31,45%)	0,1905 (100%)	0,2074 (108,87%)
12	0,2981 (76,38%)	0,3903 (100%)	0,3304 (84,65%)
13	0,3027 (86,78%)	0,3488 (100%)	0,2827 (81,06%)
14	0,0845 (24,34%)	0,3473 (100%)	0,3334 (96,02%)
15	0,1091 (27,84%)	0,3918 (100%)	0,3611 (92,16%)
16	0,1260 (44,57%)	0,2827 (100%)	0,2121 (75,00%)

APÊNDICE C - Valores médios de Lp e percentagem do grupo BisBlock para cada espécime nas condições testadas pela condutividade hidráulica.

Espécime	<i>Smear Layer</i>	Ácido Fosfórico	Bis Block
17	0,1199 (61,42%)	0,1952 (100%)	0,0430 (22,05%)
18	0,1813 (49,58%)	0,3657 (100%)	0,0615 (16,81%)
19	0,1168 (55,07%)	0,2121 (100%)	0,0507 (23,91%)
20	0,1245 (62,31%)	0,1998 (100%)	0,0446 (22,31%)
21	0,1506 (73,68%)	0,2044 (100%)	0,0522 (25,56%)
22	0,1137 (38,14%)	0,2981 (100%)	0,0630 (21,13%)
23	0,1352 (56,77%)	0,2382 (100%)	0,0569 (23,87%)
24	0,1567 (59,65%)	0,2628 (100%)	0,0599 (22,81%)

APÊNDICE D - Valores de R em Ohm e percentagem de 1/R do grupo Experimental para cada espécime nas condições testadas pela EIE.

Espécime	<i>Smear Layer</i>	Ácido Fosfórico	Experimental
1	1323,0 (69,20%)	915,6 (100%)	1163,4 (78,70%)
2	1389,3 (74,54%)	1035,6 (100%)	1160,1 (89,27%)
3	1821,5 (74,33%)	1354,0 (100%)	1444,8 (93,72%)
4	1640,0 (66,96%)	1098,1 (100%)	1415,4 (77,58%)
5	1054,2 (96,22%)	1014,3 (100%)	1014,3 (100,00%)
6	1943,0 (60,22%)	1170,0 (100%)	1500,7 (77,96%)

APÊNDICE E - Valores de R em Ohm e percentagem de 1/R do grupo Sensi Kill para cada espécime nas condições testadas pela EIE.

Espécime	<i>Smear Layer</i>	Ácido Fosfórico	Sensi kill
7	1735,6 (95,58%)	1658,9 (100%)	1009,4 (164,35%)
8	1392,7 (78,02%)	1086,6 (100%)	818,0 (132,84%)
9	1201,2 (67,68%)	813,0 (100%)	487,5 (166,77%)
10	1395,4 (85,77%)	1196,9 (100%)	761,3 (157,22%)
11	1177,2 (75,50%)	888,8 (100%)	613,4 (144,91%)
12	1387,3 (71,50%)	991,9 (100%)	740,0 (134,06%)

APÊNDICE F - Valores de R em Ohm e percentagem de 1/R do grupo BisBlock para cada espécime nas condições testadas pela EIE.

Espécime	<i>Smear Layer</i>	Ácido Fosfórico	BisBlock
13	2162,5 (84,35%)	1824,0 (100%)	1867,6 (97,67%)
14	1669,7 (89,01%)	1486,2 (100%)	1551,0 (95,82%)
15	1826,4 (74,33%)	1357,6 (100%)	1695,0 (80,09%)
16	2095,1 (72,88%)	1526,9 (100%)	1842,3 (82,88%)
17	1307,6 (79,42%)	1038,5 (100%)	1700,7 (61,06%)
18	2425,8 (76,99%)	1867,7 (100%)	2029,3 (92,04%)