

Daniela Casimiro de Figueredo

Avaliação de biovidros e vitrocerâmicas bioativas do sistema $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$ para tratamento de hipersensibilidade dentinária

Trabalho submetido à Universidade Federal do ABC como parte dos requisitos para a aprovação na disciplina Trabalho de Graduação III.

Santo André

2016

Daniela Casimiro de Figueredo

Avaliação de biovidros e vitrocerâmicas bioativas do sistema $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$ para tratamento de hipersensibilidade dentinária

Trabalho submetido à Universidade Federal do ABC como parte dos requisitos para a aprovação na disciplina Trabalho de Graduação III.

Prof^a Dra Patrícia Aparecida da Ana

Orientadora

Prof^a Dra. Juliana K. M. F. Daguano

Coorientadora

Centro de Engenharia, Modelagem e Ciências Sociais Aplicadas

(CECS) – UFABC

DEDICATÓRIA

Dedico este Trabalho de Graduação aos meus pais, José e Zilma, que apesar de todas as dificuldades sempre acreditaram em mim e nos meus sonhos e me apoiaram incondicionalmente.

Dedico também a minha irmã, Deyse, companheira para todas as horas e cúmplice das minhas aventuras.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, fonte de vida e sabedoria, por ter me concedido o privilégio de poder buscar o desenvolvimento de novas habilidades.

Aos meus pais e irmã, que sempre estiveram ao meu lado e têm me acompanhado há muitos anos nesta jornada errante que é a vida.

As minhas orientadoras, prof^a Patrícia da Ana e Juliana Daguano, por terem me acolhido em um momento delicado. Todo o apoio, atenção e amizade foram essenciais para a realização deste Trabalho de Graduação.

A Amanda Juraski, por estar sempre disposta e disponível a me ajudar nos testes em laboratório e para esclarecer dúvidas a respeito do projeto iniciado originalmente por ela que, generosamente, foi confiado a mim.

A Universidade Federal do ABC (UFABC), não somente pela oportunidade de realização do curso de graduação em Engenharia de Materiais, mas também por ter me apresentado à pesquisa e à docência. Eu, indubitavelmente, sairei desta universidade com coração e mente abertos para um mundo totalmente interdisciplinar à espera de ser explorado.

A Amanda Moraes, pelos mais de dez anos de amizade, mas especialmente por ter me incentivado a procurar a professora Juliana Daguano como orientadora. Foi um dos melhores conselhos dados a mim.

Aos técnicos dos laboratórios 501-1, em especial, Marília, Wilson e Arnaldo e aos técnicos da Central Multiusuário da UFABC-SBC.

Ao meu amigo Julio Carvalho, que conseguiu entre seus contatos, alguém que pudesse ceder a fita de carbono para realização do teste de microscopia eletrônica de varredura.

Aos meus amigos Amanda Rios, Alexandre Freitas, Rodrigo Braga, Ana Torres Luís Flávio Ferrante Marcos que sempre me apoiaram e acreditaram no meu potencial, incentivando-me sempre.

A todos os professores que fizeram parte da minha trajetória escolar iniciada aos três anos de idade. Sem eles, jamais teria chegado à universidade.

“Não entendo.
Isso é tão vasto que ultrapassa qualquer entender.
Entender é sempre limitado.
Mas não entender pode não ter fronteiras.
Sinto que sou muito mais completa quando não entendo.
Não entender, do modo como falo, é um dom.
Não entender, mas não como um simples de espírito.
O bom é ser inteligente e não entender.
É uma bênção estranha, como ter loucura sem ser doida.
É um desinteresse manso, é uma doçura de burrice.
Só que de vez em quando vem à inquietação
- quero entender um pouco.
Não demais: mas pelo menos entender que não entendo”.

Clarice Lispector

RESUMO

A hipersensibilidade dentinária é uma doença que atinge a população adulta e, dependendo do grau de severidade, pode causar prejuízo ao paciente acometido por esta patologia ao interferir em seus hábitos alimentares. Neste Trabalho de Graduação, propõe-se o uso de um biovidro e uma vitrocerâmica com composição de 52,75 3CaO.P₂O₅ – 30,00 SiO₂ – 17,25 MgO (% em peso) para o tratamento da hipersensibilidade em comparação ao desempenho do biovidro 45S5[®], que tem seu uso consagrado para este fim. Para tal, quarenta amostras de dentina radicular humana foram desmineralizadas com EDTA e distribuídas aleatoriamente em quatro grupos experimentais: G1 – amostras sem tratamento; G2 – amostras tratadas com biovidro 45S5[®]; G3 e G4 – amostras tratadas com biovidro e vitrocerâmica (tratada termicamente a 775 °C) do sistema 3CaO.P₂O₅ – SiO₂ – MgO, respectivamente. Após os tratamentos, todas as amostras foram submetidas ao processo de remineralização por 7 dias. Os biomateriais foram caracterizados empregando-se as técnicas de difração de raios-X (DRX) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). As amostras tiveram sua avaliação morfológica superficial efetuada por MEV, assim como a avaliação composicional efetuada por meio da técnica de reflectância difusa da espectroscopia por absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Ambos os biovidros são materiais completamente amorfos, ao passo que a vitrocerâmica possui whiteloquita como fase cristalina, o que favorece a formação de partículas com arestas arredondadas e menos pontiagudas. Os grupos tratados com biovidros tiveram maior obliteração dos túbulos dentinários, ao passo que o tratamento com vitrocerâmica promoveu menor oclusão destes túbulos. O biovidro 45S5[®] promoveu a maior formação de hidroxiapatitacarbonatada em comparação com os demais grupos experimentais, os quais apresentaram bandas de absorção características de dentina em seus espectros, evidenciando a exposição de material orgânico mesmo após os tratamentos. Desta maneira, foi possível concluir que o tratamento mais eficiente para hipersensibilidade dentinária é o que fez uso do biovidro 45S5[®]; contudo, ambos os biomateriais do sistema 3CaO.P₂O₅-SiO₂-MgO apresentam-se promissores para futuro tratamento da hipersensibilidade dentinária.

Palavras-chaves: Hipersensibilidade dentinária, biovidro e vitrocerâmicas bioativas.

ABSTRACT

Dentin hypersensitivity is a disease which affects adults and, according to its severity degree, may cause injuries to the individuals affected by this pathology due to the interferences in their feed habits. In this work, it is proposed the use of a bioglass and a glass-ceramic with composition of 52,75 $3\text{CaO.P}_2\text{O}_5$ – 30,00 SiO_2 – 17,25 MgO (weight %) to treat dentin hypersensitivity when compared to bioglass 45S5[®] performance, taking into account that this is a well-established biomaterial for this purpose. For that, forty human root dentin samples were demineralized with EDTA and randomly distributed into four experimental groups: G1 - samples without treatment; G2 – samples treated with 45S5[®] bioglass; G3 and G4 – samples treated with a bioglass and a glass-ceramic (treated at 775 °C) of the system $3\text{CaO.P}_2\text{O}_5$ – SiO_2 – MgO , respectively. After treatments, all samples were submitted to a 7-day remineralization process. The biomaterials were characterized by X-rays diffraction (XRD) and scanning electron microscopy (SEM) techniques. The samples had their morphological evaluation by SEM, as well as the compositional evaluation was performed by diffuse reflectance technique of Fourier transformed infrared spectroscopy (FTIR). Both of the bioglasses are completely amorphous materials, while the glass-ceramic material contains a crystalline phase identified as whitelockite, which provides rounded edge particles in comparison to the sharpened ones of bioglasses. The groups treated with bioglasses presented a higher amount of closed dentinal tubules when compared to the glass-ceramic treatment. The 45S5[®] bioglass promoted greater formation of carbonated hydroxyapatite when compared to the other experimental groups, which presented absorption bands characteristic of dentin in their spectra. In this way, it was possible to conclude that the most efficient treatment for dentin hypersensitivity is the one that used the 45S5[®] bioglass; however, both biomaterials of the $3\text{CaO.P}_2\text{O}_5$ - SiO_2 - MgO system are promising for the future treatment of dentin hypersensitivity.

Keywords: Dentin hypersensitivity, bioglass and bioactive glass-ceramics.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVO	12
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1 Estado da arte	13
3.2 Estrutura do dente	14
3.3 Hipersensibilidade dentinária: um panorama geral	17
3.4 Biovidros e vitrocerâmicas bioativas no tratamento da hipersensibilidade dentinária	22
3.4.1 Biovidros e vitrocerâmicas bioativas: considerações gerais	22
3.4.2 Biovidro 45S5®	24
3.4.3 Vitrocerâmicas bioativas	26
3.4.3 Vitrocerâmicas bioativas do sistema 3CaO.P ₂ O ₅ -SiO ₂ -MgO	27
4. MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1 Delineamento experimental	29
4.2 Obtenção das matérias-primas	29
4.3 Caracterização dos biomateriais	30
4.4 Preparação das amostras da dentina	30
4.5 Desmineralização das amostras da dentina	31
4.6 Tratamentos	32
4.7 Remineralização das amostras	32
4.8 Avaliação composicional	33
4.9 Avaliação morfológica	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1 Caracterização das matérias-primas	35
5.1.1 Análise cristalográfica	35
5.1.2 Análise morfológica	37
5.2 Caracterização das amostras de dentina tratadas	41
5.2.1 Análise morfológica	41
5.2.2 Avaliação composicional por espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier	46
6. CONCLUSÃO	56
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	57
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
9. ANEXO	60
Anexo A – Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFABC	60

1. INTRODUÇÃO

A hipersensibilidade dentinária (HD) é, na definição mais amplamente aceita na atualidade, uma dor aguda, de curta duração, oriunda da exposição da dentina em resposta a estímulos térmicos, evaporativos, táteis, osmóticos ou químicos. Tal dor não deve estar associada a quaisquer outras formas de defeitos dentários ou patologia [1-14].

É comum acometer adultos na faixa etária entre 20 e 50 anos e, aparentemente, não há características específicas que tornam um indivíduo mais suscetível à hipersensibilidade. Contudo, esta patologia pode provocar uma série de desconfortos ao ponto de interferir nos hábitos alimentares dos pacientes acometidos, e conseqüentemente impacta na qualidade de vida destes [2-9, 15-17].

A principal explicação para a hipersensibilidade dentinária é a teoria hidrodinâmica, proposta por Brannstrom em 1964. Esta teoria prevê que, devido a uma diferença de pressão, o movimento dos fluidos dentinários associado à existência de túbulos expostos estimularia barorreceptores que ativariam terminações nervosas existentes nos próprios túbulos ou no complexo dentino-pulpar, o que resultaria na sensação de dor [2-5, 7-12, 15, 17-20].

Os tratamentos para a hipersensibilidade dentinária, então, podem ser baseados em duas estratégias: (i) a estabilização ou dessensibilização das terminações nervosas presentes na polpa e (ii) oclusão dos túbulos dentinários expostos. A maior parte dos tratamentos existentes baseia-se na segunda estratégia, pois está em concordância com a teoria hidrodinâmica [4, 6, 8-9, 18].

Tratamentos baseados em materiais como cloretos, glutaraldeído, hidróxido de cálcio, nitretos, fluoretos, oxalatos, sulfatos e resinas poliméricas têm sido propostos na literatura científica em diversas formulações (dentifrícios, vernizes, adesivos e cimentos) a fim de promover a oclusão dos túbulos dentinários. Contudo, a maioria destes tratamentos produz efeitos de curto prazo (às vezes por poucos dias) e não admite descontinuidade. Ainda assim, considerando os locais mais frequentemente acometidos por tal condição, isto é, margem cervical coronária, com a presença de fluido gengival e biofilme, a restauração definitiva do local é geralmente, impossível de ser realizada [4, 6, 8-9, 18].

Entre os materiais propostos para o tratamento da hipersensibilidade dentinária destacam-se os biovidros e as vitrocerâmicas bioativas, que são amplamente conhecidos pela capacidade de regeneração óssea mediadas por processos de osteoindução e osteocondução. Os biovidros são materiais cujas composições advêm de combinações do sistema $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{MgO}-\text{P}_2\text{O}_5-\text{SiO}_2$ e, assim como vidros em geral, são amorfos. As vitrocerâmicas bioativas, por sua vez, são materiais obtidos por meio da cristalização controlada de biovidros. Estes últimos podem apresentar um grau de cristalinidade entre 0,5 e 99,5%, porém é mais comum que esteja entre 30% e 70%. É um consenso na literatura que a presença de fases cristalinas em vitrocerâmicas diminui a sua bioatividade em comparação aos biovidros [21-22].

Segundo Tirapelliet *al.* (2010), os biovidros e as cerâmicas bioativas são muito semelhantes ao osso, dentina e esmalte e, uma vez em contato com estes tecidos, promoveriam a formação de uma camada de hidroxiapatitacarbonatada que seria a responsável pela oclusão dos túbulos expostos. Como a hidroxiapatitacarbonatada liga-se quimicamente à dentina, estes materiais teriam um efeito prolongado em longo prazo, o que seria uma vantagem em relação aos demais tratamentos para a hipersensibilidade dentinária [1, 13-14, 21-23].

Para Siqueira e Zanotto (2011), o principal inconveniente no emprego dos biovidros no tratamento de hipersensibilidade dentinária é que estes apresentam superfícies irregulares, afiadas e pontiagudas que poderiam provocar microcortes na gengiva quando aplicados no meio oral. Tais características seriam amenizadas nas vitrocerâmicas bioativas devido à existência de fases cristalinas que teriam influência em seu mecanismo de fratura, o que geraria partículas mais arredondadas e menos abrasivas [1, 14].

O biovidro 45S5[®] foi concebido por Hench *et al.* na década de 70 e é um vidro do sistema quartenário $\text{SiO}_2-\text{CaO}-\text{Na}_2\text{O}-\text{P}_2\text{O}_5$ com composição de 45% SiO_2 ; 24,5% CaO ; 24,5%; 24,5% Na_2O e 6% P_2O_5 . É um dos materiais de uso consagrado para tratamento de hipersensibilidade dentinária. Para este fim, o biovidro é usualmente introduzido em dentifrícios e, com o intuito de potencializar sua ação, é frequente a combinação com ácido fosfórico ou, mais recentemente, lasers em alta intensidade [4, 21].

Alternativamente, biovidros e vitrocerâmicas do sistema $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$ também têm sido pesquisados como potenciais biomateriais devido à boas propriedades mecânicas e a formação de fortes ligações químicas com o osso. Em destaque especial, Daguano *et al.*(2011) têm estudado extensivamente a composição 57,75% $3\text{CaO.P}_2\text{O}_5$ – 30% SiO_2 – 17,25% MgO por seu equilíbrio entre boa bioatividade e propriedades mecânicas. Ainda não há pesquisas que avaliem esta composição como tratamento de hipersensibilidade dentinária [24-26].

Neste Trabalho de Graduação, propõe-se a avaliação *in vitro* da viabilidade do uso de um biovidro e vitrocerâmica bioativa do sistema $3\text{CaO.P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$, com composição 52,75 $3\text{CaO.P}_2\text{O}_5$ – 30,00 SiO_2 – 17,25 MgO (% em peso), para o tratamento da hipersensibilidade dentinária comparando-se seu desempenho com um material de uso consagrado para esta aplicação, o biovidro 45S5[®].

2. OBJETIVO

O principal objetivo deste Trabalho de Graduação é a avaliação *in vitro* da viabilidade do uso de um biovidro e vitrocerâmicabioativa do sistema $3\text{CaO.P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$, com composição 52,75 $3\text{CaO.P}_2\text{O}_5$ – 30,00 SiO_2 – 17,25 MgO (% em peso), para o tratamento da hipersensibilidade dentinária comparando-se seu desempenho com um material de uso consagrado para esta aplicação, o biovidro 45S5[®].

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

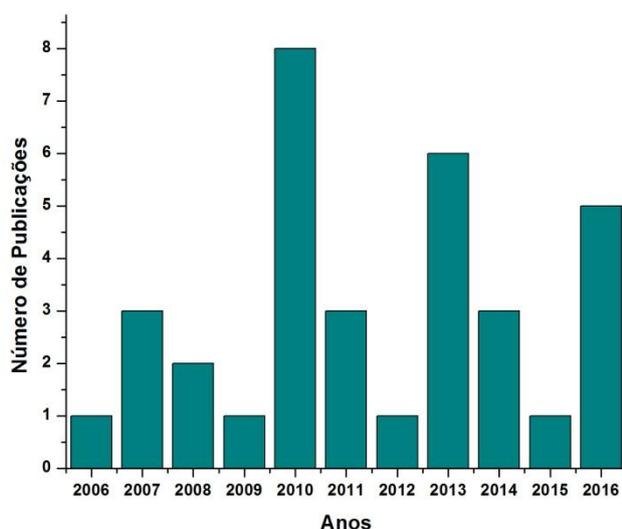
Nesta seção, apresenta-se uma revisão das publicações científicas nos últimos dez anos a respeito do uso de biovidros e vitrocerâmicas bioativas para tratamento da hipersensibilidade dentinária, bem como breves considerações sobre a estrutura dos dentes e esses biomateriais.

3.1 Estado da Arte

A fim de realizar uma atualização literária a respeito hipersensibilidade dentinária e os tratamentos existentes, especialmente aqueles que tivessem como base os biovidros, as bases de dados online *PubMed* e *Web of Science*, além do portal de periódicos CAPES foram consultadas para a obtenção de artigos científico-acadêmicos publicados nos últimos dez anos (2006-2016).

Ao todo foram coletadas 34 publicações que foram localizadas com a combinação das palavras chaves *dentin hypersensitivity*, *bioglass* e *bioactive glass-ceramics* (Figura 1).

Figura 1: Número de publicações por ano, no período de 2006 a 2016, que incluíam as palavras-chaves *dentin hypersensitivity*, *bioglass*, *bioactive glass-ceramics* de acordo com as bases *Web of Science* e *PubMed*.

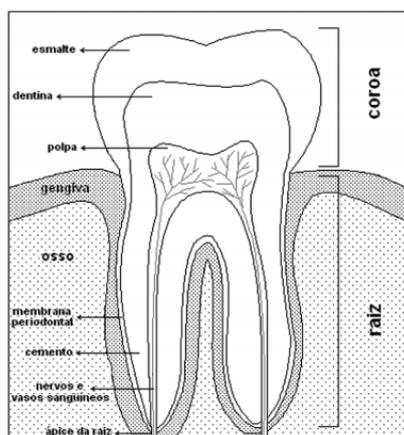


A partir da Figura 1 é possível observar que há um número considerável de estudos científicos sobre a temática nos últimos anos. No entanto, a vasta maioria envolve o emprego de biovidros como principal estratégia no tratamento de hipersensibilidade dentinária.

3.2A Estrutura do Dente

O dente é um órgão do sistema estomatognático (Figura 2) que tem como principal função a captação e o processamento dos alimentos por meio da mastigação, o que facilita as etapas posteriores de digestão. Embora esta seja a principal função, ela não é a única: os dentes também servem para proteger os tecidos moles a eles associados, além de auxiliarem na dicção de palavras e serem cruciais para a estética da face humana [27].

Figura 2: Ilustração de um dente e seus principais componentes.



Fonte: Siqueira *et al.*, 2011.

O dente é composto pelos tecidos esmalte, dentina, polpa e cemento e é circundado pelos tecidos periodontais (ligamento periodontal, processo alveolar e gengiva). O constituinte em maior quantidade no dente é a dentina, a qual dá a forma do dente, que é um tecido mineralizado, conjuntivo diferenciado, avascular, produzido pelos odontoblastos que se encontram na polpa [27-30].

Conforme pode ser observado na Figura 2, o dente pode ser dividido macroscopicamente em duas grandes regiões: coroa e raiz. A primeira refere-se, em

suma, à porção do dente que está exposta na cavidade oral e é de fácil observação. A raiz, por sua vez, está inserida no osso alveolar por meio dos ligamentos periodontais e possui forames e outros canais acessórios que permitem a comunicação de vasos sanguíneos e nervos do periodonto para a polpa [28].

A dentina, um dos tecidos dentais mencionados, é constituída por 70% de substância inorgânica e 30% de substância orgânica, e é passível de mineralização no decorrer da vida do indivíduo mediante a deposição de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) nas vesículas da matriz, majoritariamente sob a forma de hidroxiapatitacarbonatada. Este tecido apresenta-se de maior dureza que o tecido ósseo e possui coloração amarelo clara, o que confere também a cor preponderante ao dente, tendo em vista que o esmalte, tecido mais externo, apresenta-se transparente quando observado pelo olho humano. Morfologicamente, é estruturada por canalículos tubulares, preenchidos por prolongamentos dos odontoblastos e fluidos, que conferem a ela resiliência e elasticidade (Figura 3). É recoberta por esmalte na superfície coronária e pelo cemento na superfície radicular. Há diversas classificações da dentina que se encontram relacionadas principalmente ao conteúdo mineral e ao aspecto fisiopatológico deste tecido, mas estas serão omitidas neste trabalho, uma vez que fogem ao âmbito deste [27-30].

Figura 3: Eletromicrografia da dentina evidenciando os túbulos dentinários com prolongamentos de odontoblastos. Magnificação original: 10.000x



Fonte: <http://pocketdentistry.com/1-pulp-and-periradicular-pathways-pathosis-and-closure>

A polpa é formada por tecido conjuntivo frouxo indiferenciado, não mineralizado e vascular. Encontra-se na cavidade interna do dente (câmara pulpar e

canais radiculares) e está repleta de células como odontoblastos, fibroblastos, hemácias, neurônios, células indiferenciadas, endoteliais, da glia e do sistema imune. Possui uma porção coronária (câmara pulpar) e outra radicular (canal radicular). Em conjunto com a dentina, forma o complexo dentino-pulpar [28-30].

São atribuídas quatro funções à polpa: (i) formação; (ii) nutrição; (iii) sensorial e (iv) defesa. A primeira, de formação, refere-se à sua capacidade de produzir dentina durante toda a vida do ser vivo; a segunda, de nutrição, está atrelada ao fornecimento de nutrientes e líquido tecidual para os componentes orgânicos dos tecidos adjacentes. Em ausência de patologia ou quaisquer outros fatores externos, a polpa é capaz de preservar sua circulação intacta e funcional. A terceira, sensorial, está associada à habilidade da polpa em responder a estímulos nocivos com dor, uma vez que suas terminações nervosas são livres. E a última função, defesa, tem como finalidade produzir uma ação inflamatória provocada por algum agente irritante que impede ou retarda os danos à polpa [31].

O esmalte é um tecido mais mineralizado que a dentina e é composto por hidroxiapatita (aproximadamente 96%), proteínas e água. Sua espessura varia de acordo com a geometria do dente, mas pode atingir até 2 mm na superfície oclusal (superior) dos dentes posteriores. É o tecido com a maior concentração de minerais no corpo humano, o que o torna friável [27, 32].

O periodonto é um termo genérico e engloba todos os tecidos que circundam a raiz do dente. Pode ser classificado em periodonto de revestimento (gengiva) e em periodonto de inserção (cimento, ligamento periodontal e osso alveolar) [27].

A gengiva (periodonto de revestimento) é a mucosa que se localiza ao redor dos dentes, estende-se em profundidade até o osso alveolar, e termina na junção mucogengival na porção mais externa. Pode ser dividida em três zonas: marginal, inserida e interdentária. Possui tonalidades rosáceas devido ao alto conteúdo de queratina na sua composição [33].

Conforme mencionado anteriormente, o cimento (periodonto de inserção) reveste a dentina em sua porção radicular. É um tecido mineralizado que possui apenas alguns micrometros de espessura. Mediante o ligamento periodontal, o cimento permite que o dente seja inserido no osso alveolar. Alguns estudiosos

defendem que o cimento não é uma estrutura dentária, pois é desenvolvido a partir de um folículo e não do germe dentário [27, 34].

O ligamento periodontal, que também é um periodonto de inserção, é constituído por um tecido conjuntivo frouxo fibroso e está localizado entre o cimento e o osso alveolar. Por este motivo, funciona como uma articulação entre o dente e seu alvéolo, permitindo a movimentação dentária e amortecendo impactos na estrutura óssea [35].

E, por sua vez, o processo alveolar é a porção da maxila e da mandíbula que suporta as raízes dentárias. Pode ser dividido em duas partes: cortical óssea alveolar (lâmina dura) e osso alveolar. A lâmina dura fornece inserção às fibras principais do ligamento alvéolo-dental. Pode ser compreendida como uma modificação do osso compacto, pois possui fibras oriundas do ligamento periodontal. O osso alveolar, por sua vez, constitui-se de osso trabecular (esponjoso) recoberto por corticais (osso mais denso) [27, 36].

3.3 Hipersensibilidade dentinária: um panorama geral

Conforme mencionado anteriormente, a hipersensibilidade dentinária (HD) é, na definição mais amplamente aceita na atualidade, uma dor aguda, de curta duração, oriunda da exposição da dentina em resposta a estímulos termais, evaporativos, táteis, osmóticos ou químicos. Tal dor não deve estar associada a quaisquer outras formas de defeitos dentários ou patologia [1-14, 16].

Em casos mais severos, a hipersensibilidade pode ocasionar dor generalizada e distúrbios psicológicos ao interferir na qualidade de vida do indivíduo acometido, sobretudo no que diz respeito aos seus hábitos alimentares, estética, higiene e dicção. Alguns estudos correlacionam a hipersensibilidade dentinária a uma maior incidência de cáries, gengivite, inflamação pulpar e outros distúrbios periodontais, uma vez que, na ocorrência de dor, o indivíduo negligencia a higienização do local, tornando-o mais susceptível a infecções [2-4, 7, 9, 15].

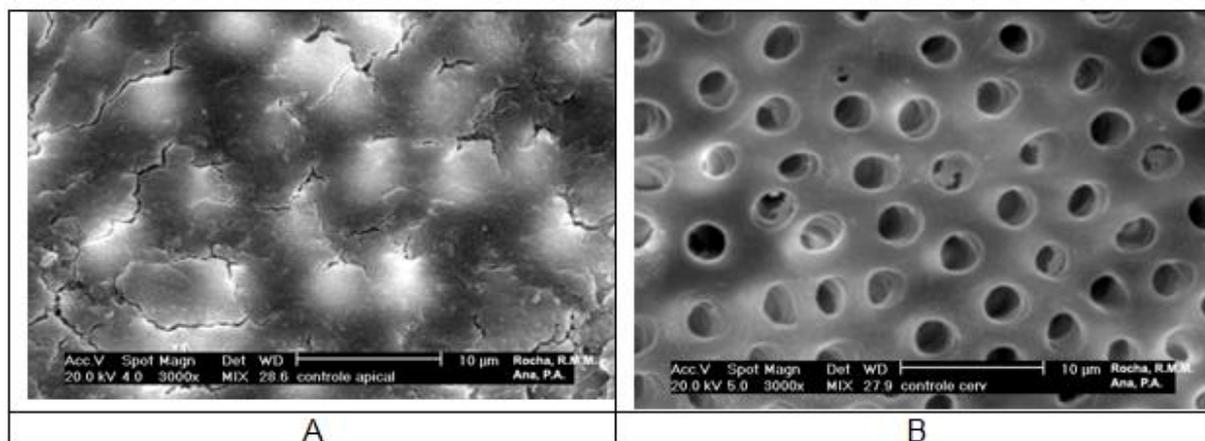
Os estudos não mostram um consenso entre si ao que concerne a incidência da doença, pois cada pesquisa fez uso de metodologias distintas. Sabe-se, contudo,

que a hipersensibilidade dentinária manifesta-se mais comumente em adultos que se encontram na faixa etária entre 20 a 50 anos, com um pico entre 30 e 40 anos, e as mulheres seriam os indivíduos majoritariamente acometidos. Também não há concordância em relação aos dentes mais afetados pela patologia: alguns estudos reportam que são os caninos e os pré-molares; outros, incisivos e pré-molares; outros ainda, molares e pré-molares [3-6, 8-9, 15-17].

A exposição da dentina e seus túbulos, que conseqüentemente leva à hipersensibilidade, pode ser resultante da perda de esmalte ou cemento por atrito, abrasão, abfração, erosão ácida, hábitos parafuncionais, fraturas, envelhecimento, patologia periodontal crônica, ou apenas pela exposição da superfície radicular decorrente da recessão gengival ou de tratamentos periodontais [2-11, 15-19, 37].

A dentina hipersensível, segundo investigações com microscopia eletrônica de varredura, possui até oito vezes mais túbulos por unidade de área do que uma dentina não sensível. Estes túbulos também apresentam diâmetros maiores (0,83 μm , em média) em comparação aos túbulos de uma dentina não sensível (0,43 μm , em média). A Figura 4 evidencia eletromicrografias da dentina humana sem tratamento em comparação com a dentina tratada com EDTA, como um protocolo para simular casos de hipersensibilidade dentinária. Observa-se que, na dentina sem tratamento, os túbulos aparecem parcialmente obliterados, com uma camada de *smearlayer* que recobre a entrada dos túbulos, ao passo que a dentina submetida ao EDTA apresenta os túbulos completamente abertos, o que favorece a hipersensibilidade [3, 5, 10, 15-16].

Figura 4: Eletromicrografias da dentina radicular humana sadia (A) e submetida ao tratamento com EDTA (B). Magnificação original: 3000x.



Fonte: Ana *et al.*, 2004.

Davari *et al.* (2010) apontam que a hipersensibilidade dentinária é desenvolvida em dois estágios: (i) localização da lesão e (ii) iniciação da lesão. A primeira refere-se à perda do esmalte ou cemento por processos abrasivos e recessão gengival citada anteriormente. A segunda, por sua vez, está relacionada à exposição dos túbulos dentinários e da polpa ao meio ambiente externo [3].

São descritos três mecanismos para a sensibilidade dentinária: (i) teoria da inervação direta; (ii) hipótese de modulação ou transdução odontoblástica e (iii) teoria hidrodinâmica [2-4, 8, 15, 37].

A teoria da inervação direta prediz que terminações nervosas penetram a dentina através da polpa e se estendem até a junção amelo-dentinária, que é a área mais sensível da dentina. Deste modo, a dor provocada por estímulos mecânicos é transmitida diretamente. Há, contudo, pouca evidência que suporta esta teoria, pois estudos conduzidos com anestésicos e substâncias de indução de dor mostraram que a hipersensibilidade não depende unicamente da exposição de nervos a superfícies externas, bem como não há provas microscópicas que, de fato, existam terminações nervosas na superfície externa da dentina [2-4, 8].

Na hipótese de modulação (ou transdução odontoblástica) é defendido que as células odontoblásticas atuam como receptores de dor e, assim, conduzem e transmitem impulsos a dentina. Entretanto, não há evidência de que existe uma relação sináptica entre os processos odontoblásticos e os nervos pulpares [2-5, 8].

A teoria hidrodinâmica, por sua vez, foi proposta por Brannstrom em 1964 e preconiza que há fluidos no interior dos túbulos dentinários. O movimento dos fluidos dentinários devido à diferença de pressão, na presença de túbulos expostos, estimularia barorreceptores que ativariam terminações nervosas existentes nos próprios túbulos ou no complexo dentino-pulpar, o que resultaria na sensação de dor. Esta teoria é amplamente aceita pela comunidade científica e é tida como a principal explicação para a hipersensibilidade dentinária [2-5, 7-13, 15, 17-20].

Poiseuille – Hagen (1840 e 1846) resumiram a teoria hidrodinâmica a uma equação, na qual se afirma que o movimento do fluido dentinário em um túbulo é proporcional a quarta potência do raio tubular e a diferença de pressão entre as terminações de um túbulo [10, 12, 15, 17, 20].

O fluido, de acordo com a teoria hidrodinâmica, pode movimentar-se em direção a polpa ou para a superfície externa da dentina. Alimentos ou líquidos quentes, por exemplo, provocariam a movimentação do fluido em direção à polpa. Contudo, as queixas mais frequentes dos pacientes são em relação a bebidas e alimentos frios que fariam o fluido movimentar-se para a região externa da dentina [2-5, 8].

O diagnóstico da hipersensibilidade dentinária pode ser realizado apenas com uma avaliação clínica. O procedimento de diagnóstico consiste em: (i) levantar o histórico do paciente; (ii) aplicar um jato de ar ou de água e avaliar a resposta do paciente ao estímulo; (iii) a avaliação visual dos aspectos dos dentes. Contudo, os métodos são muito subjetivos, tanto por parte do profissional quanto por parte do paciente, especialmente este último que pode não saber classificar adequadamente o grau de sua dor. Além disso, é de suma importância que quaisquer outras patologias sejam descartadas antes que seja diagnosticada a hipersensibilidade dentinária [2-5, 8-9].

Os tratamentos para a hipersensibilidade dentinária podem ser baseados em duas estratégias: (i) a estabilização ou dessensibilização das terminações nervosas presentes na polpa e (ii) oclusão dos túbulos dentinários expostos. A maior parte dos tratamentos existentes baseia-se na segunda estratégia, pois está em concordância com a teoria hidrodinâmica, e faz uso de diversos biomateriais, sendo comuns os sais de potássio, fluoretos, oxalatos, glutaraldeído e arginina [4, 6, 8-9, 18].

Os sais de potássio (nitratos, cloretos, citratos e bicarbonatos) são as substâncias mais comumente utilizadas para a estabilização das terminações nervosas. Seu mecanismo de atuação está associado ao acréscimo da concentração de íons de potássio no meio extracelular, o que provoca a despolarização do nervo e impede sua repolarização. Para tal efeito, os íons devem permear pelos túbulos dentinários até atingirem os nervos localizados na polpa, o que pode levar entre 4 e 8 semanas de tratamento até que o paciente sinta alívio na dor. São empregados como componentes de dentifrícios, géis dentais, adesivos ou enxaguatórios [2-5, 7-8].

Fluoretos podem ser empregados sozinhos ou em conjunto com outros biomateriais. A principal característica dos fluoretos, e que justificam seu uso como agente de oclusão, é a capacidade de criar uma barreira física na superfície externa dos túbulos dentinários ao precipitar cristais majoritariamente compostos por fluoreto de cálcio (CaF_2), os quais, ao reagir com a hidroxiapatita da dentina, propicia a formação de fluorhidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OHF}$) e de fluorapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$), as quais são menos solúveis que a hidroxiapatita em meio ácido. No entanto, ao longo do tempo, estes mesmo cristais podem ser removidos pela ação da saliva e por processos mecânicos (escovação e mastigação, por exemplo). Com o intuito de melhorar estas deficiências, são usados fluoretos de sódio, fluoretos estanosos, fluorsilicatos ou derivados acidulados. Os fluoretos podem ser encontrados em formulações de dentifrícios ou podem ser aplicados clinicamente por um profissional sob a forma de géis com maior concentração [3-5, 8].

Assim como ocorre com os fluoretos, os oxalatos são capazes de promover a precipitação de cristais ao reagirem com íons de cálcio presentes na dentina ou nos fluidos orais. Os oxalatos mais comuns utilizados para o tratamento da hipersensibilidade dentinária são o oxalato férrico, o oxalato de potássio, o oxalato de alumínio e ácido oxálico. Pesquisas constataram que os oxalatos perdem gradualmente sua eficácia com o tempo e podem causar problemas digestivos com o uso contínuo em longo prazo [2, 4-5, 8].

O glutaraldeído, por sua vez, é um fixador biológico que reage com as proteínas presentes nos túbulos dentinários. É comum sua aplicação ser realizada em conjunto com o metacrilato de 2-hidroxietila. Pesquisas *in vivo* evidenciam que

houve uma redução de até 27% na dor. É reportado ainda que pacientes tratados com glutaraldeído tiveram recidiva entre 7 a 9 meses após a aplicação da substância. Em comparação aos oxalatos, cujos pacientes relataram recidiva após 5 meses do tratamento, o glutaraldeído é mais eficiente [4-5, 8].

.A arginina, um dos aminoácidos presentes na saliva, atua em conjunto com o carbonato de cálcio e o fosfato para criar uma ligação nos túbulos dentinários que impede a movimentação do fluido existente na dentina. O dentifrício comercial Colgate Sensitive PRO-Alívio[®] baseia-se neste mecanismo. Estudos indicam que após quatro semanas de uso contínuo, este dentifrício é capaz de provocar a oclusão dos túbulos dentinários e o alívio total da dor desde que a escovação seja feita de modo adequado [3-5].

3.4 Biovidros e vitrocerâmicas bioativas no tratamento da hipersensibilidade dentinária

3.4.1 Biovidros e vitrocerâmicas bioativas: considerações gerais

Biomateriais, na definição mais aceita na atualidade, são materiais capazes de induzir uma resposta apropriada no tecido hospedeiro em uma situação específica [38].

Em se tratando de biovidros e vitrocerâmicas bioativas, a resposta por estes induzida ao hospedeiro está relacionada à habilidade de promover a regeneração de tecidos ósseos por meio de processos de osteoindução e osteocondução. A regeneração óssea somente é possível devido à similaridade química destes biomateriais à hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO})_6(\text{OH})_2$), que corresponde à fase mineral inorgânica presente no osso. Algumas composições de biovidros também apresentam a capacidade de ligarem-se a tecidos conjuntivos [21-22, 39].

Os biovidros, em geral, são materiais cujas composições advêm de combinações do sistema $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{MgO}-\text{P}_2\text{O}_5-\text{SiO}_2$ e, assim como vidros, são amorfos. Para que estes materiais possam ligar-se ao tecido ósseo, sua composição deve atender alguns requisitos: (i) apresentar menos do que 60% (em mol) de SiO_2 ; (ii) altas concentrações de Na_2O (ou MgO) e CaO ; (iii) alta proporção entre

CaO/P₂O₅. Apesar de apresentarem alta bioatividade e, por este motivo, serem empregados em diversas aplicações em ortopedia, os biovidros possuem baixo desempenho mecânico, fratura concoidal e usinabilidade restrita. Tais características limitam sua utilização na engenharia de tecidos [14, 21, 39].

As vitrocerâmicas bioativas, por sua vez, são materiais obtidos por meio da cristalização controlada de biovidros. Estes últimos podem apresentar um grau de cristalinidade entre 0,5 e 99,5%, porém é mais comum que esteja entre 30% e 70%. É um consenso na literatura que a presença de fases cristalinas em vitrocerâmicas diminui a sua bioatividade em comparação aos biovidros. Apesar da perda na bioatividade, as vitrocerâmicas bioativas apresentam elevada resistência mecânica e tenacidade à fratura quando comparados aos biovidros [21-23, 25].

Segundo Montazerian *et al.* (2016), as vitrocerâmicas podem ser obtidas por três rotas distintas [23]:

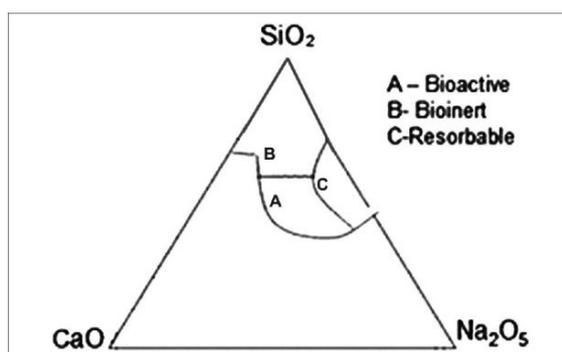
- (i) Os reagentes são medidos, misturados e fundidos em um cadinho de platina. Os artigos de vidro são, em seguida, moldados por fusão, prensagem, extrusão ou por qualquer outra técnica convencional de produção de vidro. Posteriormente, os vidros são submetidos a tratamentos térmicos acima de sua temperatura de transição vítrea (T_g) a fim de induzir uma cristalização interna que acarretará no crescimento das fases cristalinas almejadas.
- (ii) O vidro no estado fundido, antes de ser moído e peneirado, passa por um processo designado *quench*, no qual é submetido a um resfriamento brusco na presença de ar ou água para obterem-se fritas. As fritas, então, são depositadas em um molde para serem sinterizadas. A própria superfície livre das fritas estimula a cristalização, que ocorre em concorrência à densificação do material. A vantagem deste método é que ele permite a mistura de diferentes composições.
- (iii) A vitrocerâmica pode também ser obtida pelo método sol-gel, que requer temperaturas menores para a produção das vitrocerâmicas do que os procedimentos descritos anteriormente. Os reagentes formam um gel que posteriormente é sinterizado. A densificação e a

cristalização promovidas pela sinterização levam à obtenção das vitrocerâmicas. Além de requerer pouca energia, este método permite a produção de vidros e vitrocerâmicas com características bem específicas.

3.4.2 Biovidro 45S5[®]

O biovidro 45S5[®] foi concebido por Hench *et al.* na década de 70 e é um vidro do sistema quaternário SiO₂-CaO-Na₂O-P₂O₅ com composição de 45% SiO₂; 24,5% CaO; 24,5%; 24,5% Na₂O e 6% P₂O₅. Este nome (45S5) denota a porcentagem de silício como formador de rede (45%) e a proporção entre Ca/P (5%). De acordo com o diagrama de fases do sistema SiO₂-CaO-Na₂O-P₂O₅, há apenas uma faixa estreita de composições que apresenta bioatividade (Figura 5) [21, 39-40].

Figura 5: Ilustração do diagrama de fases do sistema quaternário SiO₂-CaO-Na₂O-P₂O₅.



Fonte: Krishnan *et al.*, 2013.

Apesar da estreita faixa de composição de vidros do sistema SiO₂-CaO-Na₂O-P₂O₅ que são bioativos, a composição que ficou conhecida como 45S5[®] possui amplo emprego na área biomédica é utilizada como enxerto, implante endósseo, agente de remineralização, agente bactericida, carreador de fármacos e na engenharia de tecidos em geral [39-40].

O biovidro 45S5[®] tem sido utilizado nos últimos 40 anos em Odontologia. Em se tratando especificamente da hipersensibilidade dentinária, o mecanismo de atuação do biovidro dá-se pela formação de uma camada de hidroxiapatita carbonatada que realiza a oclusão dos túbulos dentinários. Há um grande número de pesquisas que visam à avaliação da eficiência do biovidro sob a

forma de pasta profilática. Há até uma marca comercial com esta finalidade: a NovaMin[®] [3-5, 9, 18].

Em 2005, Lee *et al.* realizaram um estudo com uma formulação de dentifrício cujos principais constituintes eram biovidro e 20% a 60% de ácido fosfórico. O dentifrício foi irradiado com laser de CO₂ a fim de fundir o biovidro. Foi concluído que o dentifrício êxito em selar os túbulos dentinários, formando uma camada de 10 µm de profundidade com o melhor desempenho para a formulação com 30% de ácido fosfórico. Os resultados deste estudo, segundo os autores, foram mais satisfatórios em comparação aos de pesquisas anteriores realizadas com lasers Nd:YAG e GaAIs que apresentaram benefícios em curto prazo devido à remoção de agentes por meio da escovação [16].

Em 2006, outro estudo conduzido por Lee *et al.* avaliou uma pasta dental com biovidro produzido pelo método sol-gel com três diferentes catalisadores: HNO₃, NaOH e H₃PO₄. Os melhores resultados foram obtidos com o HNO₃ como catalisador, com o qual se pode obter uma cobertura que variou entre 55,8 e 62,7 µm de profundidade [10].

Em 2011, Bakry *et al.* também avaliaram a mistura de biovidro 45S5[®] com ácido fosfórico posteriormente irradiada com laser de CO₂. Os resultados evidenciaram que o biovidro promoveu a oclusão dos túbulos dentinários por meio da precipitação de cristais de fosfato de cálcio. Os autores ainda ressaltaram a importância da irradiação com o laser de CO₂, que desempenhou um papel importante ao desidratar estes cristais e que, por este motivo, tiveram um arranjo mecânico melhorado [19].

Ainda em 2011, Bakry *et al.* também avaliaram formulações de biovidro e ácido fosfórico, este, porém, com concentração fixa em 50%, no tratamento da hipersensibilidade dentinária, principalmente o que concerne a citotoxicidade nas células da polpa. Eles compararam esta formulação com outros três materiais comerciais (Cavition[®], Fujil[®] e SuperSeal[®]). Foi concluído que o biovidro possui compatibilidade semelhante a dos outros materiais tradicionalmente utilizados, não é tóxico para as células da polpa e é um potencial candidato para o tratamento da hipersensibilidade dentinária [18].

Em continuação ao estudo anterior, em 2012, Brakry *et al.* compararam um dentífrico com biovidro 45S5[®] e ácido fosfórico em comparação com um agente dessensibilizador a base de oxalato. Foi verificado que o biovidro precipitou cristais de fosfato de cálcio que foram capazes de promover a oclusão total dos túbulos dentinários. O agente a base de oxalato, por sua vez, precipitou pequenos cristais que foram gradualmente removidos pela escovação. Assim, o dentífrico com biovidro mostrou-se ser mais eficiente do que o com oxalato [20].

Ainda em 2012, um estudo publicado por Farmakis *et al.* investigou os efeitos da aplicação de biovidro (NovaMin[®]) com e sem a aplicação de laser de Nd:YAG. Os autores verificaram que a irradiação do laser isoladamente ou em conjunto ao biovidro promoveu a oclusão dos túbulos dentinários quando comparado à aplicação de apenas biovidro [17].

Em 2015, Jena *et al.* realizaram uma pesquisa *in vivo* de quatro semanas para avaliar três dentífricos no tratamento da hipersensibilidade dentinária: (i) dentífrico com 5% de NovaMin[®]; (ii) dentífrico com 8% de arginina e (iii) um dentífrico com 15% de nanopartículas de hidroxiapatita. Foi constatado, por meio de testes com jatos de ar, que os pacientes tratados com o dentífrico com 15% de nanopartículas de hidroxiapatita apresentaram menos dor, sendo seguidos por aqueles tratados com dentífrico com 8% de arginina e com 5% de NovaMin[®] [9].

Com base no que foi mencionado anteriormente, é notória a pouca quantidade de estudos a respeito da aplicação do biovidro como tratamento da hipersensibilidade dentinária, embora este material tenha apresentado resultados satisfatórios nos estudos publicados.

3.4.3 Vitrocerâmicas bioativas

Ao contrário do que foi observado com os biovidros, há um único estudo que avalia o desempenho de vitrocerâmicas para tratamento de hipersensibilidade dentinária.

A única pesquisa encontrada está relacionada ao grupo de pesquisa conduzido pelo professor Edgar Dutra Zanotto da Universidade Federal de São

Carlos (UFSCar). Este grupo possui uma patente de uma família de vitrocerâmicas bioativas do sistema quartenário $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ (o mesmo do biovidro 45S5[®]) sob o nome de Biosilicato[®]. Tais vitrocerâmicas exibiriam composições muito próximas ao do biovidro 45S5[®], com microestrutura bem controlada para a obtenção de propriedades mecânicas superiores em relação aos vidros de partida. Uma característica interessante do Biosilicato[®] é que estes materiais possuem cristalinidade próxima a 100% e, apesar disso, exibem elevados índices de bioatividade. Também é reportado que a vitrocerâmica em questão possui módulo de elasticidade comparável a do osso cortical [1, 14].

Em relação ao uso do Biosilicato[®] para tratamento de hipersensibilidade dentinária, Tirapelli *et al.* (2011) avaliaram quatro grupos de tratamentos: (i) dentifrício dessensibilizante Sensodyne[®]; (ii) um dentifrício comercializado sob o nome SensiKill[®]; (iii) um gel com 1% de Biosilicato[®]; (iv) uma mistura de Biosilicato[®] em água destilada na proporção 1:10. Estudos *in vitro* preliminares aos demonstraram que a mistura de Biosilicato[®] com água destilada apresentou uma camada uniforme de tecido mineralizado. A propósito, a formação de hidroxiapatitacarbonatada sobre a dentina para este grupo de tratamento, conforme análise de espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), foi detectada após 30 minutos de imersão de discos de dentina em saliva artificial. Testes *in vivo* com os mesmo grupos de tratamento confirmaram o que já havia sido detectado em laboratório: a mistura de Biosilicato[®] com água destilada proporcionou a redução da dor no menor tempo em comparação aos demais grupos, durante os seis meses de monitoramento do estudo [1, 13-14].

3.5 Vitrocerâmicas bioativas do sistema $3\text{CaO.P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$

Como citado anteriormente, Daguano *et al.* (2010) têm estudado extensivamente biovidros e vitrocerâmicas do sistema $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$, especialmente a composição 57,75% $2\text{CaO.P}_2\text{O}_5$ – 30% SiO_2 – 17,25% MgO por seu equilíbrio entre boa bioatividade e propriedades mecânicas. Materiais deste sistema têm sido pesquisados como potenciais biomateriais devido às boas propriedades mecânicas e a formação de fortes ligações químicas com o osso. Por

isso, têm sido considerados como alternativa aos biomateriais do sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ [24-26].

Daguano *et al.* (2012) investigaram a influência do tratamento térmico sobre as transformações de fase e as propriedades mecânicas da composição 57,75% $2\text{CaO.P}_2\text{O}_5$ – 30% SiO_2 – 17,25% MgO . Para isso, o vidro foi tratado a 700, 775, 800, 900, 975 e 1100 °C. A 700 °C apenas o processo de nucleação é iniciado, o que resulta em um material tipicamente amorfo. A 775 °C ocorre a formação de whiteloquita. A 800 °C, 900 °C e 975 °C, as vitrocerâmicas apresentam whiteloquita e uma fase não catalogada (silicato transiente). A 1100 °C, no entanto, esta fase não catalogada transforma-se em diopsida. Neste mesmo estudo foi concluído que o aumento da cristalinidade nestes materiais confere aumentos na dureza, tenacidade à fratura, resistência à flexão e módulo de elasticidade [25].

Ainda de acordo com estudos de Daguano *et al.* (2013), a estrutura whiteloquita, presente em todas as vitrocerâmicas tratadas a partir de 775 °C, corresponde à fase $\beta\text{-TCMP}$ que é formada pela substituição de íons Ca^{2+} por Mg^{2+} na estrutura do $\beta\text{-TCP}$. A substituição do íon Ca^{2+} por Mg^{2+} leva a uma alteração química e biológica nos materiais, o que favoreceria o metabolismo ósseo e a diminuição de doenças cardiovasculares [26].

É inegável que as investigações de Daguano *et al.* (2013) trouxeram contribuições importantes a respeito do comportamento mecânico das vitrocerâmicas de composição 57,75% $2\text{CaO.P}_2\text{O}_5$ – 30% SiO_2 – 17,25% MgO perante o grau de cristalinidade e fases envolvidas, bem como sobre a atoxicidade destes materiais. No entanto, ainda não há estudos que utilizem estes materiais em aplicações biomédicas, como o tratamento de hipersensibilidade dentinária, por exemplo, o que motiva a realização do presente estudo [24-26].

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Delineamento experimental

Foi conduzido um estudo *in vitro* no qual 40 amostras de dentina radicular humana foram preparadas e submetidas à desmineralização inicial com solução de EDTA 0,5 M para simulação da hipersensibilidade dentinária. Em seguida, as amostras foram aleatoriamente distribuídas em quatro grupos experimentais (n = 10):

- G1- sem tratamento (grupo controle negativo);
- G2- tratamento com biovidro 45S5[®] (grupo controle positivo);
- G3 - tratamento com o biovidro de composição 52,75 3CaO.P₂O₅ – 30,00 SiO₂ – 17,25 MgO;
- G4- tratamento com vitrocerâmica de composição 52,75 3CaO.P₂O₅ – 30,00 SiO₂ – 17,25 MgO com tratamento térmico a 775 °C.

Após os tratamentos, as amostras foram submergidas a uma solução de saliva artificial (pH 7,0) por 7 dias, visando-se simular o processo de remineralização. Antes dos tratamentos, todos os biomateriais empregados foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e difração de raios-X (DRX). Para avaliar os efeitos dos mesmos sobre a remineralização da dentina, as amostras tiveram sua composição e morfologia avaliadas qualitativamente por espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e microscopia eletrônica de varredura (MEV), respectivamente.

4.2 Obtenção das matérias-primas

A fusão da mistura de pós para a obtenção do biovidro de composição 52,75 3CaO.P₂O₅ – 30,00 SiO₂ – 17,25 MgO (% em peso) e os tratamentos térmicos a 775 °C para a produção da vitrocerâmica do mesmo sistema foram realizados no Laboratório de Materiais Vítreos da Universidade Federal de São Carlos (LaMaV – UFSCar). O protocolo de obtenção destes materiais foi realizado de acordo com o procedimento descrito por Daguano *et al.* (2011,2012 e 2013) [24-25].

4.3 Caracterização dos biomateriais

Após o preparo, os biomateriais foram caracterizados empregando-se as técnicas de difração de raios-X e microscopia eletrônica de varredura.

A difração de raios-X (DRX) das matérias-primas em pó foi realizada na Central Multiusuário da Universidade Federal do ABC em Santo André. A radiação $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda=0,15406$ nm) foi usada para varrer as amostras entre os ângulos $2\theta = 10.0^\circ$ - 50° .

Para a microscopia eletrônica de varredura (MEV), preparou-se uma solução 1:1 de água destilada e álcool isopropílico para que os materiais particulados pudessem ser fixados diretamente ao *stub* com auxílio de uma fita de carbono. Os biomateriais foram submetidos ao *sputtering* previamente ao MEV.

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada na Central Multiusuário da Universidade Federal do ABC campus São Bernardo do Campo com microscópio FEI Quanta 250, EUA. . Foram utilizadas magnificações de 1000, 5000 e 10000x.

4.4 Preparação das amostras da dentina

Após aprovação do presente estudo pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFABC (Anexo 1), quarenta dentes incisivos humanos foram cortados transversalmente com auxílio de um micromotor de bancada (Beltec LB 2000, Beltec, Araraquara, Brasil) sob baixa rotação. Para isto, os dentes foram fixados com cera pegajosa a uma placa acrílica. Após os cortes, estes dentes foram lixados manualmente (em uma sequência de lixas de carbetto de silício com granulações de 320, 600, 1200 e 2400) e polidos com pasta diamantada de 3 e $1\mu\text{m}$, a fim de obterem-se amostras finais planas de $5,0 \times 5,0$ mm e espessuras entre 1,0 e 1,5 mm com superfícies espelhadas isentas de riscos. Logo em seguida, as amostras foram submetidas a um banho ultrassônico de três minutos para remoção de resíduos de cera. Posteriormente, foi delimitada uma área de $3,0 \times 3,0$ mm sobre a superfície polida de cada amostra com auxílio de verniz ácido-resistente (esmalte cosmético) para a aplicação dos tratamentos. Após o preparo, as amostras foram mantidas em

ambiente úmido sob refrigeração (± 4 °C) até o início dos experimentos. A Figura 6 ilustra as etapas de preparação das amostras.

Figura 6: Ilustração das etapas de preparação da dentina: (A) raízes antes dos cortes; (B) dentinas após as etapas de lixamento e polimento; (C) demarcação de uma superfície de 3,0 x 3,0 mm com auxílio de verniz ácido resistente.



4.5 Desmineralização das amostras da dentina

As amostras de dentina foram fixadas a uma placa de cera rosa tipo 7 (Figura 7) e imersas em uma solução de EDTA sal dissódico (Synth, Diadema, Brasil) 0,5 M (pH 7,4) por 5 minutos a fim de desmineralizá-las (Wang *et al.*, 2011), simulando-se uma condição de hipersensibilidade dentinária. Após a imersão, os dentes foram enxaguados abundantemente com água destilada por 2 minutos para total remoção do EDTA [41].

Figura 7: Ilustração das amostras de dentina fixadas à placa de cera tipo 7 imediatamente antes da imersão em solução de EDTA 0,5 M por cinco minutos.



4.6 Tratamentos

As amostras de dentina obtidas foram aleatoriamente distribuídas em quatro grupos experimentais distintos com dez amostras cada, a saber:

- **Grupo 1:** amostras sem tratamento (grupo controle negativo);
- **Grupo 2:** amostras com aplicação do biovidro 45S5[®] (grupo controle positivo);
- **Grupo 3:** amostras com aplicação do biovidro do sistema $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$;
- **Grupo 4:** amostras com aplicação da vitrocerâmica $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$.

No desenvolvimento dos biovidros, foi adotada uma composição referente ao sistema $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$, a qual é capaz de originar por tratamento térmico fases cristalinas que melhorem a bioatividade do material. A composição 52,75 $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5$ – 30,00 SiO_2 – 17,25 MgO (% em peso) foi relatada por Oliveira *et al.* (1997) e apresenta elevada bioatividade. No momento dos tratamentos, cada amostra foi friccionada com 0,2 g de biomaterial, juntamente com óleo de silicone (veículo), com o auxílio de um cotonete por 1 minuto; em seguida, a amostra foi lavada com água destilada por mais 1 minuto.

4.7 Remineralização das amostras

Após os tratamentos, todas as amostras foram submetidas ao processo de remineralização, sendo submergidas em 20 mL de saliva artificial durante 7 dias. A saliva artificial foi composta de 1,5 mM de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,9 mM de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 150 mM de KCl, 0,03 ppm de F^- , em tampão Tris 0,1M, com pH 7,0. Todas as amostras foram mantidas em temperatura controlada de 37° C, sendo as soluções de saliva artificial trocadas diariamente.

4.8 Avaliação composicional

A avaliação composicional foi efetuada empregando-se a espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). A espectroscopia no

infravermelho se baseia no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibração específicas, as quais correspondem a níveis de energia da molécula. Através do registro da quantidade de energia absorvida, pode-se identificar as substâncias constituintes. Com esta técnica de análise, torna-se possível a monitoração da composição química do tecido dentinário, assim como verificar o material formado após os tratamentos; essa monitoração foi conduzida mais precisamente com a análise qualitativa dos radicais de fosfato, carbonato e amidas presentes. A técnica de espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) permite determinar espectros de absorção na região do infravermelho (2,5 μm e 25 μm).

Nesse trabalho foram conduzidos experimentos com a técnica no modo de reflectância difusa, a qual permite analisar o tecido restrito à superfície, mesmo em superfícies irregulares, maximizando a análise do tecido alterado pelos tratamentos, o que não é possível com outras técnicas. Para tal, foi utilizado o espectrômetro Frontier (Perkin Elmer, EUA), pertencente à UFABC. No momento da aquisição dos dados, foram feitos 80 scans de cada amostra, na resolução de 4 cm^{-1} , sendo a tomada de *background* realizada a cada 5 amostras. A faixa dos espectros coletados variou entre 600 a 4000 cm^{-1} . O registro e a conversão dos espectros de absorção foi realizada através do programa específico do espectrômetro.

Após a obtenção dos dados, foi realizada a normalização vetorial dos espectros e, em seguida, uma análise qualitativa descritiva identificando as mudanças químicas ocorridas, além de uma comparação entre os espectros obtidos de cada grupo experimental, por meio da identificação de mudanças relativas entre as intensidades das diferentes bandas de absorção: entre 800cm^{-1} e 887cm^{-1} para ν_2 carbonato, entre 887cm^{-1} e 1181cm^{-1} para ν_3 fosfato; entre 1181cm^{-1} e 1296cm^{-1} para amida III; entre 1300 cm^{-1} e 1510cm^{-1} igualmente para carbonato (ν_3 e ν_4); entre 1510 cm^{-1} e 1580 cm^{-1} amida II e, entre 1593 cm^{-1} e 1720cm^{-1} para amida I (Zezell *et al.*, 2015).

4.9 Avaliação morfológica

A avaliação morfológica das amostras de dentina dos grupos G1, G2, G3 e G4 foi realizada com auxílio de um microscópio eletrônico de varredura (FEI Quanta 250, EUA) na Central Multiusuário da Universidade Federal do ABC campus São Bernardo do Campo (UFABC-SBC), sob o modo de baixo vácuo. Para isto, as amostras foram fixadas aos stubs com fita de carbono e não foram submetidas a processos de desidratação ou recobertas por *sputtering*. As ampliações utilizadas foram de 1000, 5000 e 10000x.

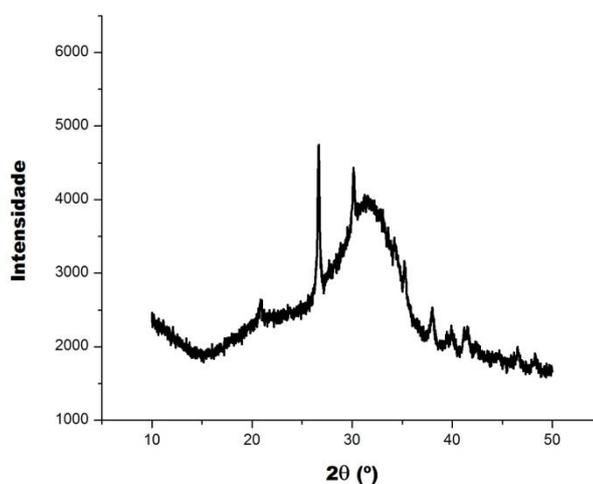
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização das matérias-primas

5.1.1 Análise cristalográfica

A Figura 8 apresenta o difratograma do biovidro 45S5[®].

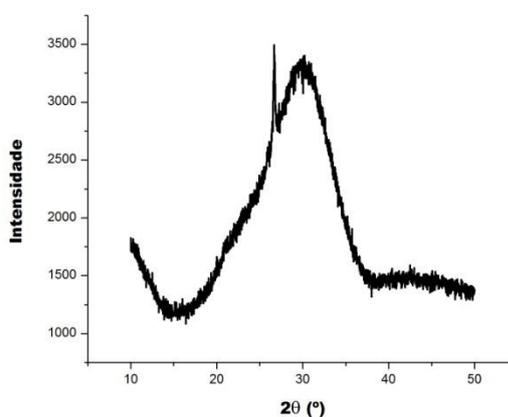
Figura 8: Ilustração do difratograma do biovidro 45S5[®].



O padrão de difração observado na Figura 8 é compatível ao de um material completamente amorfo, isto é, há a inexistência de picos bem definidos que identifiquem a presença de fases cristalinas, que é o caso de materiais vítreos como o biovidro 45S5[®]. O padrão exibido na Figura 8 é compatível com o encontrado por Bretcanu *et al.* (2009) [42].

Por sua vez, a Figura 9 exibe o difratograma do biovidro do sistema $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot \text{SiO}_2 \cdot \text{MgO}$.

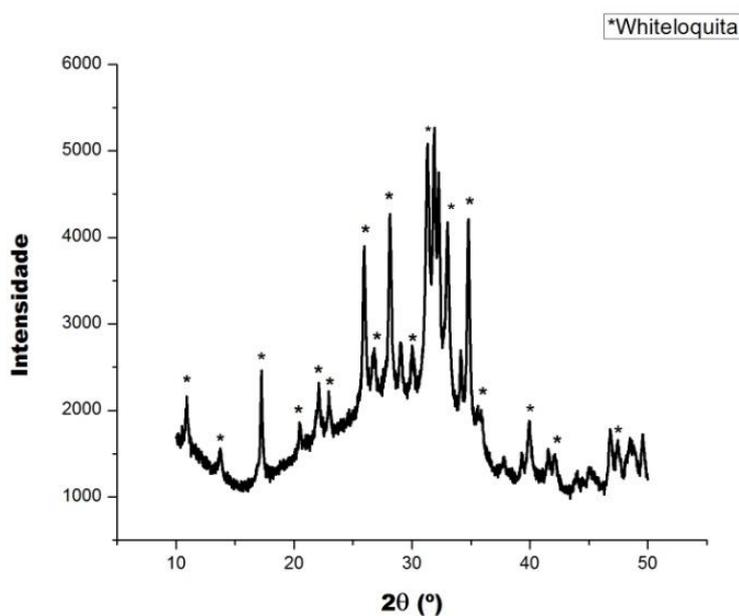
Figura 9: Ilustração do difratograma do biovidro do sistema $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$.



Observa-se que o padrão de difração representado na Figura 9 assemelha-se bastante ao exibido na Figura 8. Portanto, o biovidro do sistema $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$ também é um material completamente amorfo assim como o 45S5[®]. O padrão representado na Figura 9 é compatível com a de um biovidro do mesmo sistema conforme estudo de Daguano *et al.* (2011)[25].

A Figura 10 ilustra o difratograma da vitrocerâmica do sistema $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$.

Figura 10: Ilustração do difratograma da vitrocerâmica do sistema $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$.



Diferentemente das Figuras 8 e 9, a Figura 10 apresenta um padrão de difração de um material semicristalino, com fases amorfas (vítreas) e cristalinas. A formação das fases cristalinas deve-se ao tratamento térmico a 775°C ao qual a vitrocerâmica do sistema $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$ foi submetida [25].

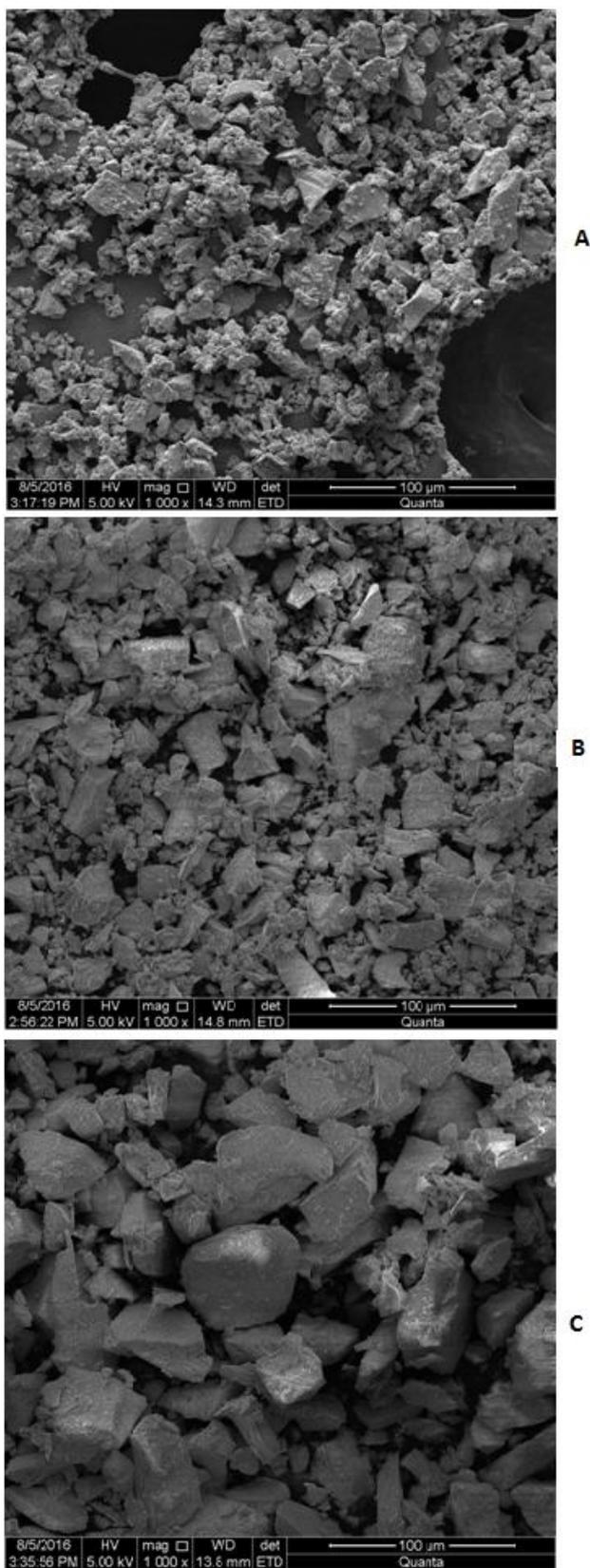
Srivastava (2012) menciona que a formação de fases cristalinas em vitrocerâmicas obtidas a partir de biovidros está correlacionada com a presença das redes de silicato e fosfato que, impulsionadas pelo tratamento térmico, formam novas fases. Além disso, também é reportado que o fosfato, ainda que em baixas concentrações, funciona como agente nucleador para a formação de fases cristalinas em silicatos vítreos. Contudo, Daguano *et al.* (2012) propõem que a sílica (SiO_2) seja o agente nucleante [25, 43].

Com auxílio do software *Match!*, que faz uso da base *Crystallography Open Database*(COD), foi possível averiguar que as fases cristalinas são constituídas majoritariamente pela estrutura whiteloquita. Este resultado está em concordância com estudos prévios de Daguano *et al.* (2012). Tais estudos apontam ainda que a whiteloquita ($\text{Ca}_{2,5725}\text{Mg}_{0,4275}(\text{PO}_4)_2$ ou $\beta\text{-TCMP}$) é resultante da cristalização de uma fase de fosfato de cálcio com substituição parcial dos íons de cálcio por magnésio. A cristalinidade da vitrocerâmica em questão varia de 25 a 27% [25-26].

5.1.2 Análise morfológica

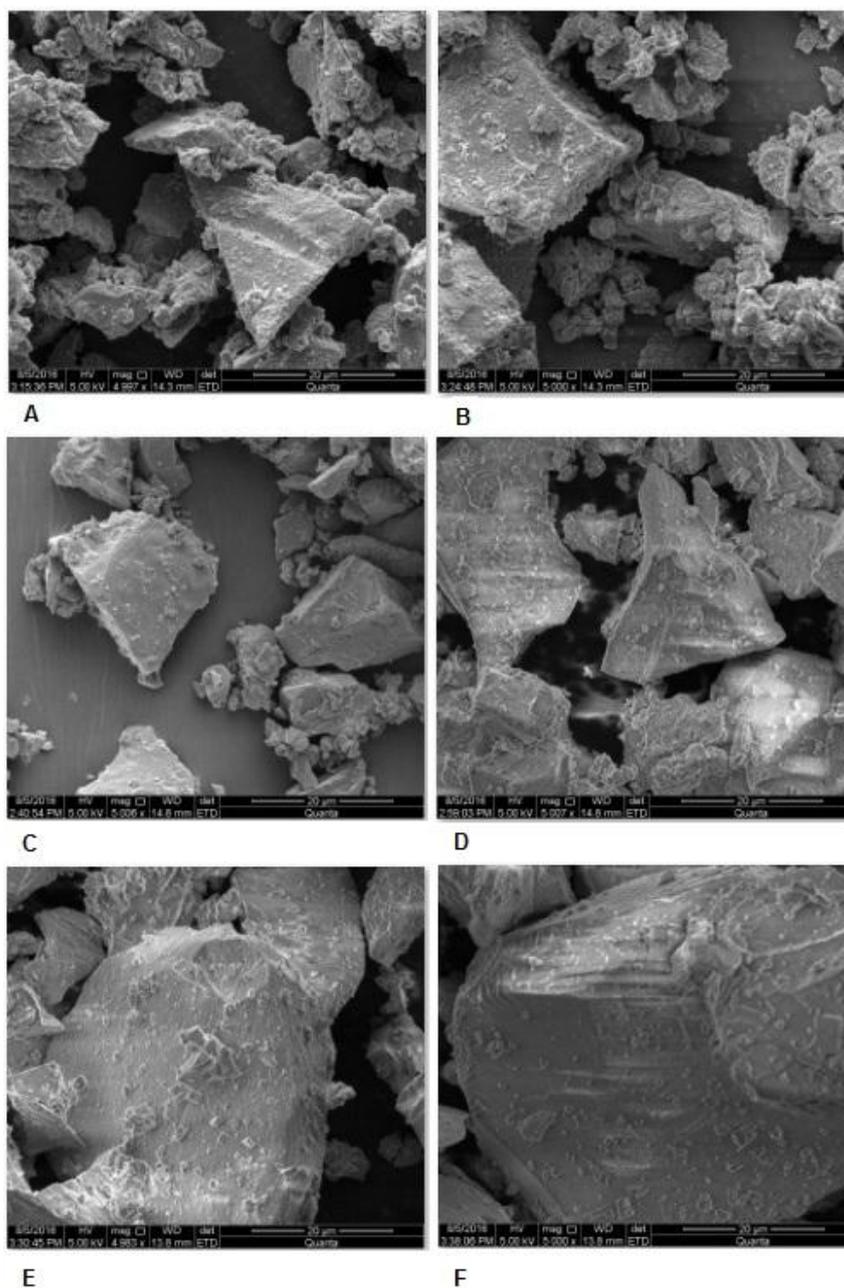
A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi empregada neste trabalho com o propósito de estabelecer uma relação entre a geometria das partículas de cada biomaterial com suas respectivas estruturas. A Figura 11 apresenta, então, as eletromicrografias dos pós do biovidro 45S5[®], do biovidro e da vitrocerâmica do sistema $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$.

Figura 11: Imagens dos pós dos biovidros e vitrocerâmica utilizados neste trabalho. (A) biovidro 45S5®; (B) biovidro do sistema 3CaO.P2O5-SiO2-MgO; (C) vitrocerâmica do sistema 3CaO.P2O5-SiO2-MgO. Magnificação original: 1000x.



Com maiores aumentos (Figura 12) e mediante auxílio do software *ImageJ*, foi possível mensurar as angulações presentes nas partículas provenientes do modo de fratura destes materiais.

Figura 12: Eletromicrografias dos pós dos biovidros e vitrocerâmica utilizados neste Trabalho de Graduação. (A,B) biovidro 45S5[®]; (C,D) biovidro do sistema 3CaO.P₂O₅-SiO₂-MgO; (E,F) vitrocerâmica do sistema 3CaO.P₂O₅-SiO₂-MgO. Magnificação original: 5000x.



Para efetuar as medidas, o software *ImageJ* necessita de pelo menos três pontos bem definidos. Os resultados obtidos são exibidos na Tabela 1:

Tabela 1: Medidas dos ângulos das arestas das partículas do biovidro 45S5[®], biovidro e vitrocerâmico sistema 3CaO.P₂O₅-SiO₂-MgO obtidas por meio do software *ImageJ*.

Biovidro45S5 [®] (°)	Biovidro (°)	Vitrocêrâmica (°)
66,748	63,001	86,934
69,605	78,998	89,210
72,300	79,029	90,465
84,314	79,611	93,359
84,890	80,193	100,569
93,592	87,843	113,136
95,560	93,544	121,159
103,477	94,086	121,809
105,088	94,420	121,843
106,699	101,557	131,406
110,045	103,710	147,999
111,414	106,260	153,135

Conforme pode ser observado na Figura 12 e nos dados da Tabela 1, as partículas dos biovidros, tanto o 45S5[®] como o do sistema 3CaO.P₂O₅-SiO₂-MgO, têm arestas mais agudas, que variam desde 63° até 112°, quando comparadas às da vitrocerâmica, que estão em um intervalo entre 86° e 154°. Portanto, os ângulos mais obtusos presentes nas vitrocerâmicas conferem-lhe um formato mais arredondado.

Há dois modos de fratura conhecidos em cerâmicas: (i) intergranular e (ii) transgranular. O primeiro ocorre devido à propagação de trincas entre os grãos, o que resulta em partículas facetadas; no segundo, as trincas passam através dos grãos, o que confere as partículas uma superfície mais plana. Há um caso especial de fratura transgranular: trata-se da fratura concoidal. Esta, diferentemente da transgranular, não apresenta planos de clivagem preferenciais (o que dá origem a partículas com superfícies cortantes e afiadas) e ocorre em materiais vítreos, por exemplo [44].

Ao se levar em consideração as teorias mencionadas a respeito de fraturas em cerâmicas e aliá-las ao fato de que uma vitrocerâmica possui fases cristalinas e amorfas, pode-se hipotetizar que a presença de cristais oferece alguma resistência à propagação da trinca, o que conseqüentemente resulta em uma combinação de mecanismos de fratura [44].

Os resultados encontrados para a vitrocerâmica estão em concordância com estudo prévio de Tirapelli *et al.*(2011) em que afirmaram que a cristalização altera significativamente as características de fratura do vidro, o que produziria partículas menos afiadas e abrasivas. Isto, em última instância, ocasionaria maior conforto ao paciente ao evitar microcortes gengivais [1, 13-14].

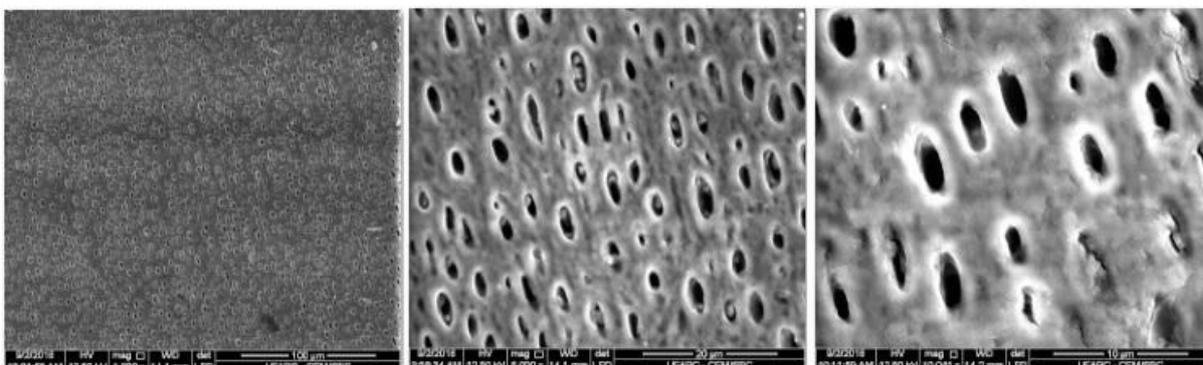
Salienta-se ainda que não foram calculados média e desvio padrão para os ângulos das arestas das partículas dos materiais analisados devido ao processo de moagem realizado, de natureza heterogênea. Além disso, apesar da pouca robustez do *ImageJ*, uma pesquisa de Codarin *et al.* (2012) revelou que o *software* apresenta boa acurácia e precisão em relação a sua capacidade de determinar medidas angulares, excetuando-se medidas entre 10 e 30°. Tais valores não foram contemplados neste trabalho de graduação [45].

5.2 Caracterização das amostras de dentina tratadas

5.2.1 Análise Morfológica

A Figura 13 ilustra as amostras de dentina após desmineralização com EDTA (grupo G1, controle negativo).

Figura 13: Eletromicrografias das amostras de dentina após desmineralização com EDTA (Grupo G1, controle negativo). Magnificação original de 1000, 5000 e 10000x, da esquerda para a direita.



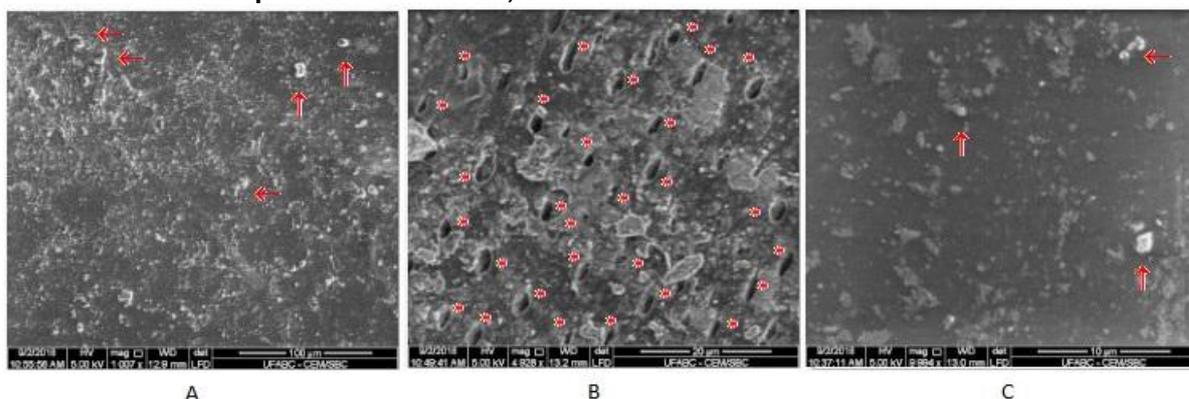
Observa-se na Figura 13 a exposição dos túbulos dentinários após a desmineralização com EDTA, que consequentemente favorece a hipersensibilidade de acordo com a teoria hidrodinâmica. Tal aspecto morfológico obtido neste trabalho encontra-se de acordo com o relatado na literatura para hipersensibilidade dentinária. Desta maneira, pode-se inferir que foi possível a simulação da situação clínica com o protocolo empregado [3, 5, 10].

A exposição, em um indivíduo, pode ser resultante da perda de esmalte ou cimento por atrito, abrasão, abfração, erosão ácida, hábitos parafuncionais, fraturas, envelhecimento, patologia periodontal crônica, ou apenas pela exposição da superfície radicular decorrente da recessão gengival ou de tratamentos periodontais [2-11, 15-19, 37].

A dentina hipersensível, segundo investigações com microscopia eletrônica de varredura, possui até oito vezes mais túbulos por unidade de área do que uma dentina não sensível. Estes túbulos também apresentam diâmetros maiores (0,83 μm , em média) em comparação aos túbulos de uma dentina não sensível (0,43 μm , em média) [3, 5, 10, 15-16].

A Figura 14, por sua vez, apresenta as imagens das amostras tratadas com biovidro 45S5[®] (grupo G2).

Figura 14: Eletromicrografias das amostras de dentina após tratamento com biovidro 45S5[®] (Grupo G2). Magnificação original de 1000, 5000 e 10000x, da esquerda para a direita. As setas indicam partículas residuais, os asteriscos indicam túbulos dentinários.

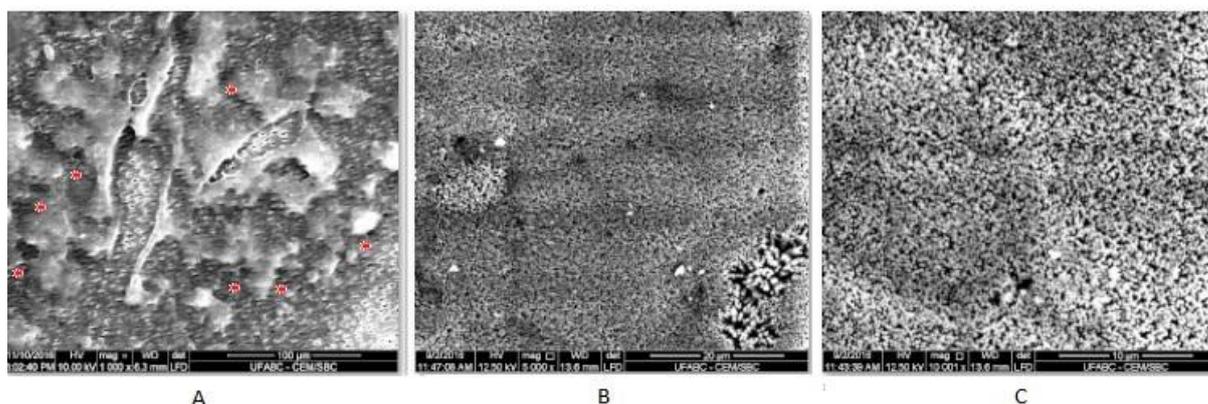


Diferentemente do que foi constatado nas amostras de dentina do grupo G1 (Figura 13), a Figura 14 exibe imagens das (grupo G2) nas quais são perceptíveis que os túbulos dentinários estão cobertos pelo biomaterial, que forma uma camada

homogênea sobre a superfície da dentina, apesar de haver algumas partículas residuais (setas, Figura 14 A e C). No entanto, a Figura 14B deixa evidente que há regiões em que o recobrimento não foi efetivo, pois há túbulos dentinários expostos. Isto pode ser decorrente do método manual de aplicação do biovidro 45S5[®], que consistiu em esfregar o biomaterial, veiculado em um óleo de silicone, com auxílio de um cotonete. O método manual pode implicar em uma aplicação não homogênea do biomaterial em comparação com aquele feito com um microaplicador [1,13].

Analogamente, a Figura 15 exibe as eletromicrografias das amostras de dentina tratada com o biovidro do sistema $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot \text{SiO}_2 \cdot \text{MgO}$ (grupo G3).

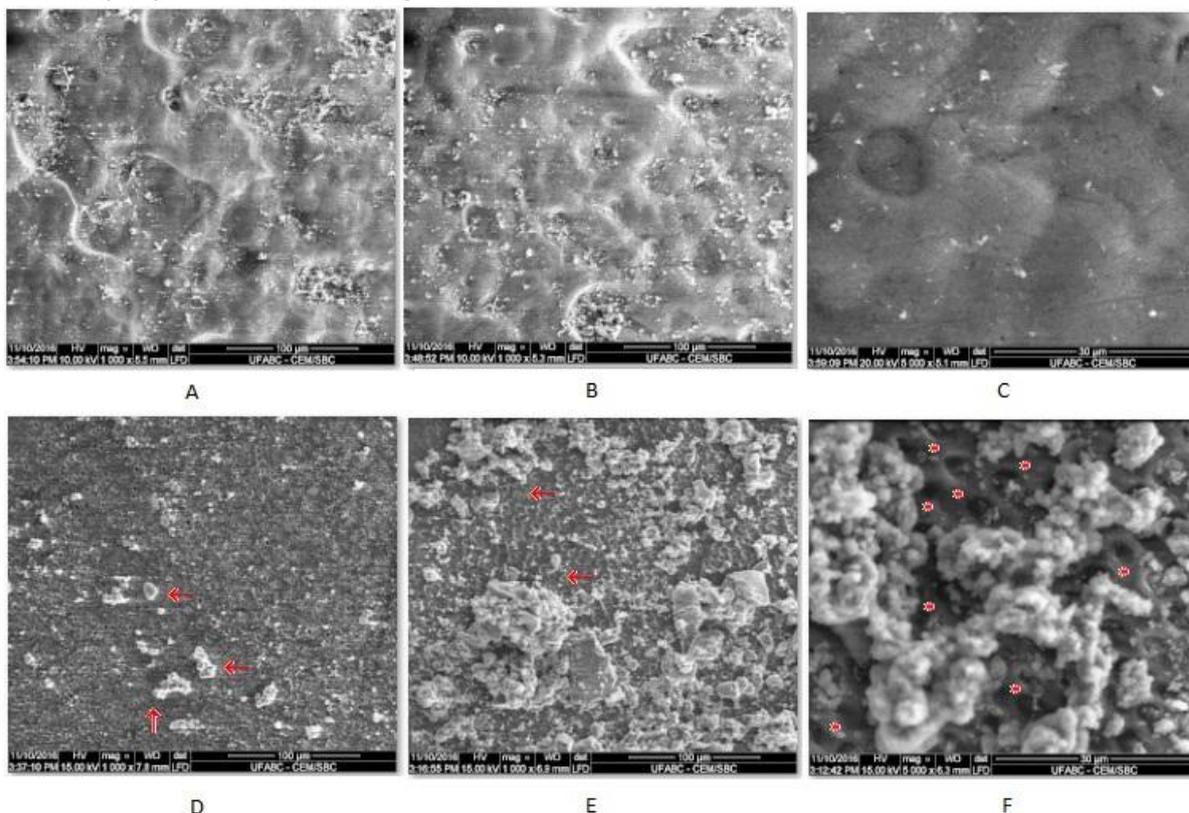
Figura 15: Eletromicrografias das amostras de dentina após tratamento com o biovidro do sistema $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot \text{SiO}_2 \cdot \text{MgO}$ (Grupo G3). Magnificação original de 1000, 5000 e 10000x, da esquerda para a direita. Os asteriscos indicam túbulos dentinários.



Assim como observado nas eletromicrografias das amostras do grupo G2, as amostras de dentina tratadas com o biovidro do sistema $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot \text{SiO}_2 \cdot \text{MgO}$ (grupo G3, Figura 15) apresentam algumas regiões em que o cobrimento não foi eficiente e é perceptível a presença de túbulos expostos (asteriscos, Figura 15 A). Entretanto, nas regiões em que o biovidro recobriu a superfície dentinária de modo a promover a oclusão dos túbulos, é possível observar uma camada cuja textura e morfologia assemelham-se àquelas que são atribuídas à formação de hidroxiapatitacarbonatada, de forma similar ao reportado na literatura [22].

E, enfim, a Figura 16 apresenta as imagens para as amostras de dentina tratadas com a vitrocerâmica do sistema $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot \text{SiO}_2 \cdot \text{MgO}$.

Figura 16: Eletromicrografias das amostras de dentina após tratamento com a vitrocerâmica do sistema $3\text{CaO}\cdot\text{P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$ (Grupo G4). Magnificação original de 1000x (A,B,D,E) e de 5000x (C,F). As setas indicam partículas remanescentes, e os asteriscos, túbulos dentinários.



Na Figura 16 (itens A,B e C), pode-se observar que a vitrocerâmica foi capaz de formar uma camada não-uniforme e heterogênea, quando comparada à camada produzida pelo biovidro 45S5[®] (Figura 14). Isto pode ser consequência do método manual de aplicação dos biomateriais, que não deve ter garantido uma cobertura uniforme em toda a superfície da dentina. Ainda assim, a vitrocerâmica, nesses casos, promoveu a oclusão dos túbulos dentinários. Além disso, é perceptível a existência de partículas remanescentes sobre a camada formada.

Contudo, entre todos os biomateriais utilizados para tratamento da dentina, a vitrocerâmica do sistema $3\text{CaO}\cdot\text{P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$ foi o que apresentou cobertura menos efetivo, conforme pode ser verificado na Figura 16 itens D, E, e F, pois foi o grupo que possuiu o maior número de amostras nas quais se observam túbulos dentinários expostos (asteriscos), parcialmente recobertos ou com diminuição de seu diâmetro (oclusão parcial). É importante ressaltar que provavelmente o óleo de silicone utilizado para veicular a vitrocerâmica sobre a superfície da dentina, aliado a uma aplicação manual, não tenha proporcionado o recobrimento uniforme do tecido dentinário e, de alguma forma, propiciou condições favoráveis para que a

vitrocerâmica se desprendesse com relativa facilidade quando em contato com a solução remineralizadora.

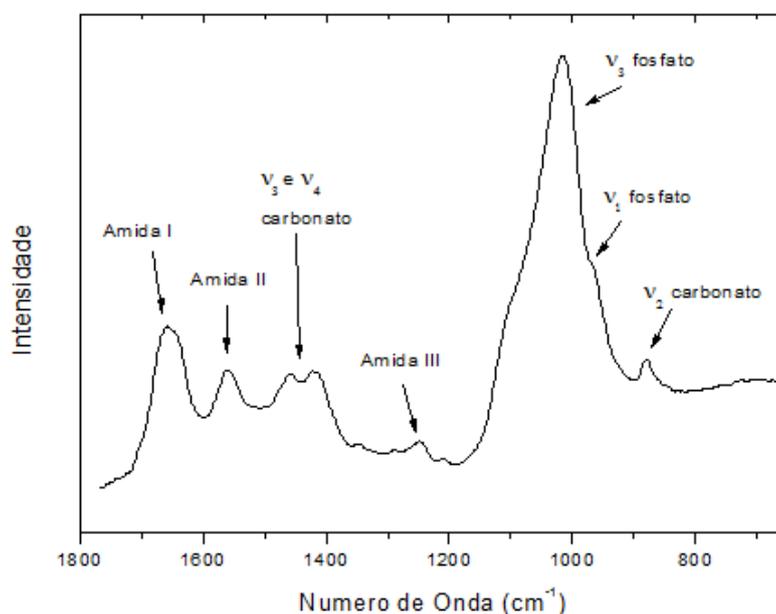
É interessante notar que Tirapelli *et al.* (2010) encontraram resultados semelhantes em seus estudos *in vitro* com a vitrocerâmica Biosilicato[®]. Foi reportado que a vitrocerâmica veiculada em gel recobriu menos eficientemente a superfície da dentina quando comparada ao mesmo biomaterial veiculado em água destilada. Neste estudo, os pesquisadores atribuíram este fato à existência de ligações cruzadas no gel utilizado, que de algum modo, devem ter retido as partículas de vitrocerâmica e impediram-nas de entrar em contato com a dentina. Os resultados observados nos estudos *in vitro* foram confirmados pelos mesmos pesquisadores em avaliações *in vivo*, pois os pacientes tratados com a vitrocerâmica veiculada em gel reportaram que o alívio da dor foi passageiro, diferentemente daqueles tratados com a mistura de vitrocerâmica e água destilada [1,13].

Ainda, na Figura 16 (E e F) também está evidente a tendência das partículas de vitrocerâmica em formar aglomerados, o que pode ser um indício de que as partículas deste biomaterial apresentam alta energia superficial e necessitam ligar-se quimicamente entre si para atingirem estabilidade.

5.2.2 Avaliação composicional por espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 17 apresenta a média dos espectros de absorção no infravermelho, entre 1800 a 650 cm^{-1} , das amostras de dentina hígidas com a devida identificação das principais bandas de absorção deste tecido.

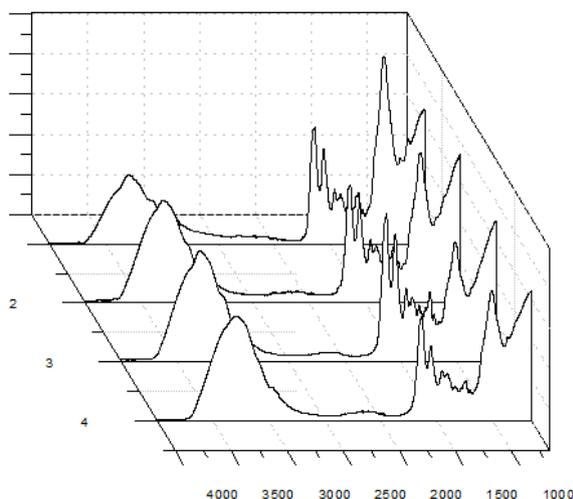
Figura 17: Média dos espectros de absorção no infravermelho, entre 1800 a 650 cm^{-1} , das amostras de dentina hígidas, com a identificação das principais bandas de absorção deste tecido.



Conforme pode ser observado na Figura 17, a dentina é constituída majoritariamente de uma matriz orgânica, composta por hidroxapatitacarbonatada, e uma matriz inorgânica, composta por proteína (colágeno tipo I), glicosaminoglicanas, água, lipídeos e outras enzimas. No espectro infravermelho característico da dentina, é possível evidenciar a estrutura da hidroxapatitacarbonatada (3 bandas de carbonato e 2 bandas de fosfato) e do colágeno, evidenciado pelas bandas das amidas I, II e III.

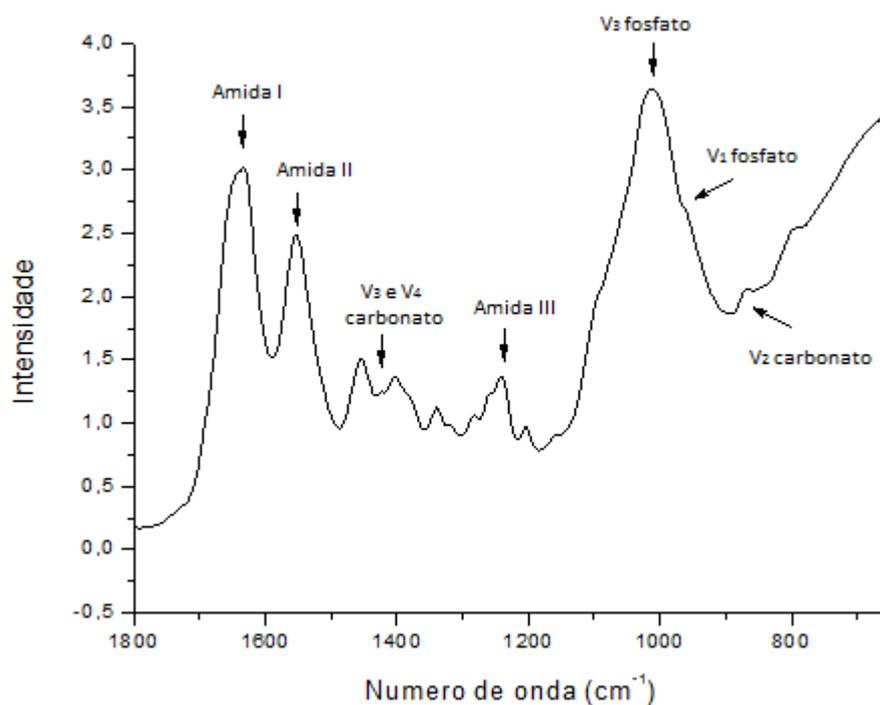
A Figura 18, por sua vez, ilustra os espectros de absorção de todas as amostras de dentina sem tratamento após demineralização com EDTA. É importante ressaltar que as amostras foram mantidas em saliva artificial a 37 °C por 7 dias (grupo G1).

Figura 18: Espectros de absorção no infravermelho, entre 4000 a 650 cm^{-1} , de todas as amostras de dentina do grupo sem tratamento (G1) após a desmineralização com EDTA.



A fim de comparar as alterações ocasionadas na dentina após a submersão em uma solução de EDTA, conveio, a partir da média dos espectros exibidos na Figura 18, analisar o espectro na região entre 1800 e 650 cm^{-1} (Figura 19).

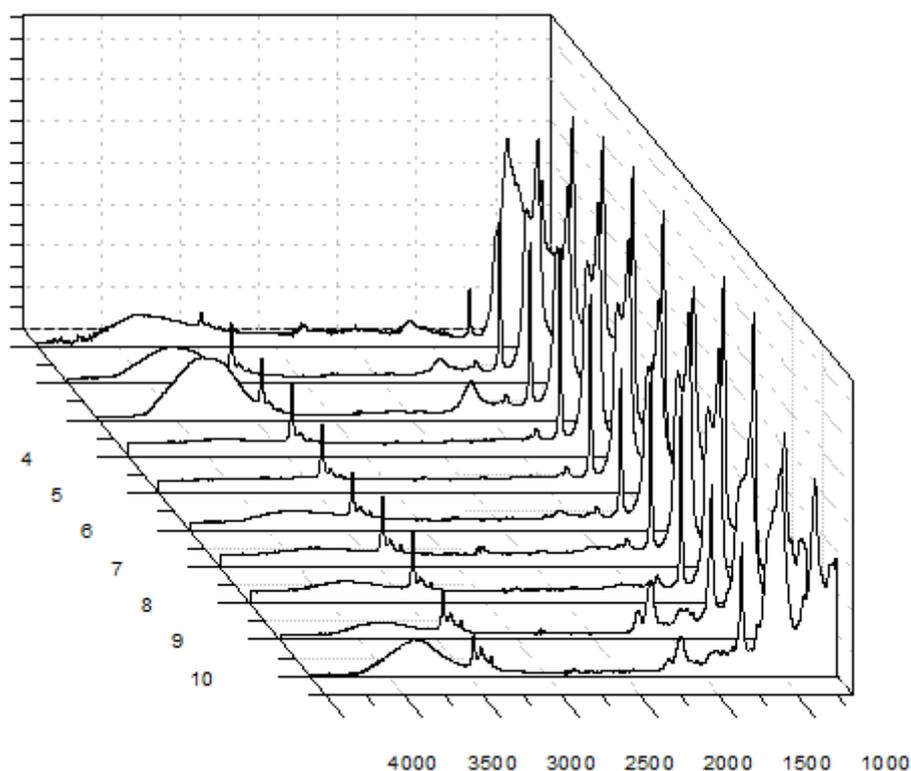
Figura 19: Média dos espectros de absorção no infravermelho, entre 1850 a 650 cm^{-1} , das amostras de dentina do grupo sem tratamento (G1) após a desmineralização com EDTA.



Em comparação à Figura 17 (dentina hígida), a Figura 19 evidencia importantes reduções nos conteúdos de componentes minerais da dentina, em especial o fosfato (bandas em 1012 e 964 cm^{-1}) e o carbonato ν_4 (banda em 871 cm^{-1}), que são resultantes da desmineralização promovida pelo EDTA. Como consequência, há maior exposição dos componentes orgânicos presentes na dentina, haja vista o aumento na intensidade dos picos correspondentes à amida I em 1636 cm^{-1} ; amida II em 1554 cm^{-1} ; e amida III em 1242 cm^{-1} . Estes resultados estão em concordância com os encontrados nas eletromicrografias do grupo G1 (Figura 13), na qual se observam túbulos dentinários expostos e com diâmetro aumentado devido à perda de minerais inorgânicos.

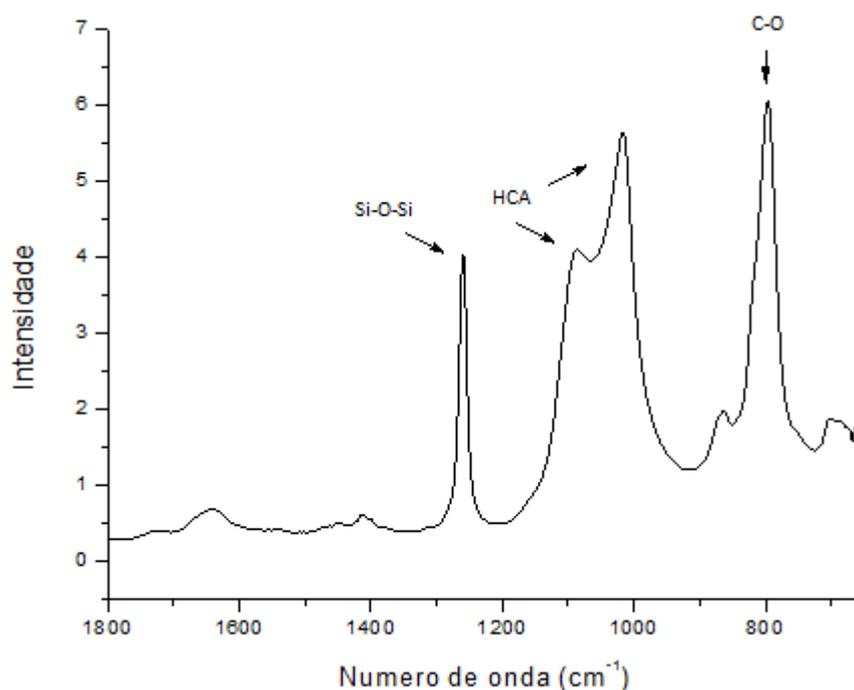
A Figura 20 demonstra os espectros de absorção de todas as amostras de dentina depois de terem sido submetidas ao tratamento com biovidro 45S5[®] (grupo G1).

Figura 20: Espectros de absorção no infravermelho, entre 4000 a 650 cm^{-1} , de todas as amostras de dentina desmineralizada após tratamento com biovidro 45S5[®] (grupo G2, controle positivo).



Por sua vez, a Figura 21 apresenta a média dos espectros exibidos na Figura 20, na região entre 1800 e 650 cm^{-1} .

Figura 21: Média dos espectros de absorção no infravermelho, entre 1850 a 650 cm^{-1} , das amostras do grupo tratado com biovidro 45S5[®] (G2, controle positivo).

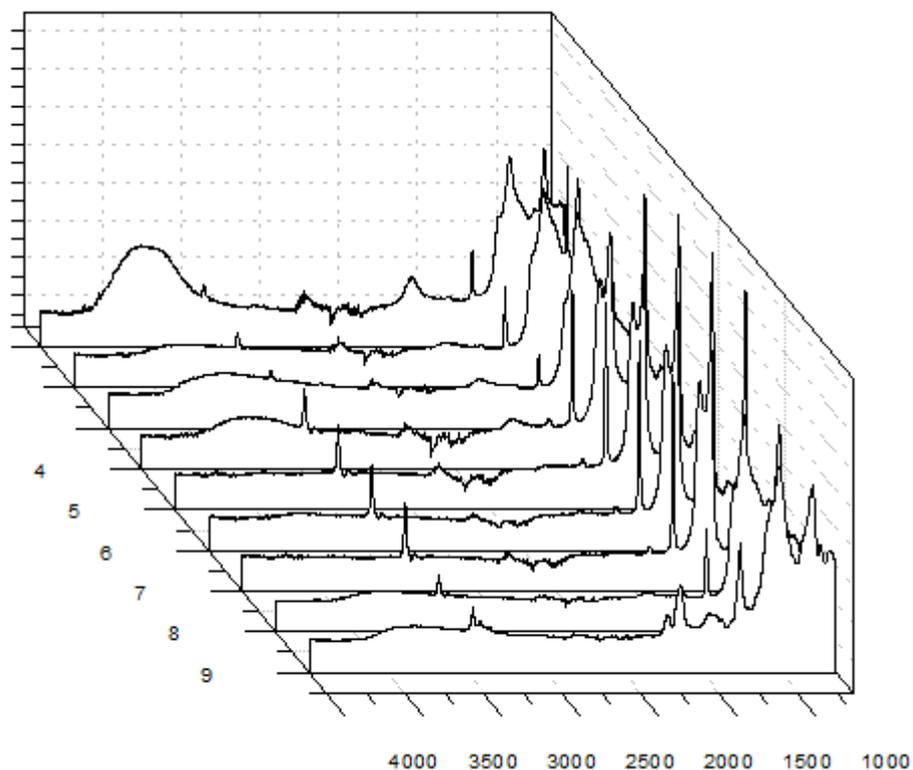


Em relação à Figura 17 (dentina hígida), nota-se que nas amostras tratadas com biovidro 45S5[®] há uma grande diminuição dos da intensidade dos picos correspondentes às bandas dos materiais orgânicos (principalmente a amida I em 1640 cm^{-1}). Tal redução, que está acompanhada por um aumento nas intensidades das bandas de compostos inorgânicos, configura um indício de recobrimento da superfície da dentina pelo biomaterial e é compatível com os resultados encontrados na análise morfológica (Figura 14). Além disso, a literatura reporta que a afinidade entre o biovidro e o colágeno presente no tecido ósseo seria a responsável por promover a ligação química entre biomaterial e osso [1].

A presença de picos intensos para as bandas de compostos inorgânicos, sobretudo a hidroxiapatitacarbonatada (HCA) em 1015 e 1095 cm^{-1} , evidencia a remineralização da dentina promovida pelo biovidro 45S5[®]. A banda em 800 cm^{-1} é atribuída ao estiramento da ligação C-O e é considerada como indício da natureza cristalina da hidroxiapatitacarbonatada. E, enfim, a banda em 1260 cm^{-1} é identificada como estiramento da ligação Si-O-Si e é considerada como uma das principais características da rede de silicato [43, 46].

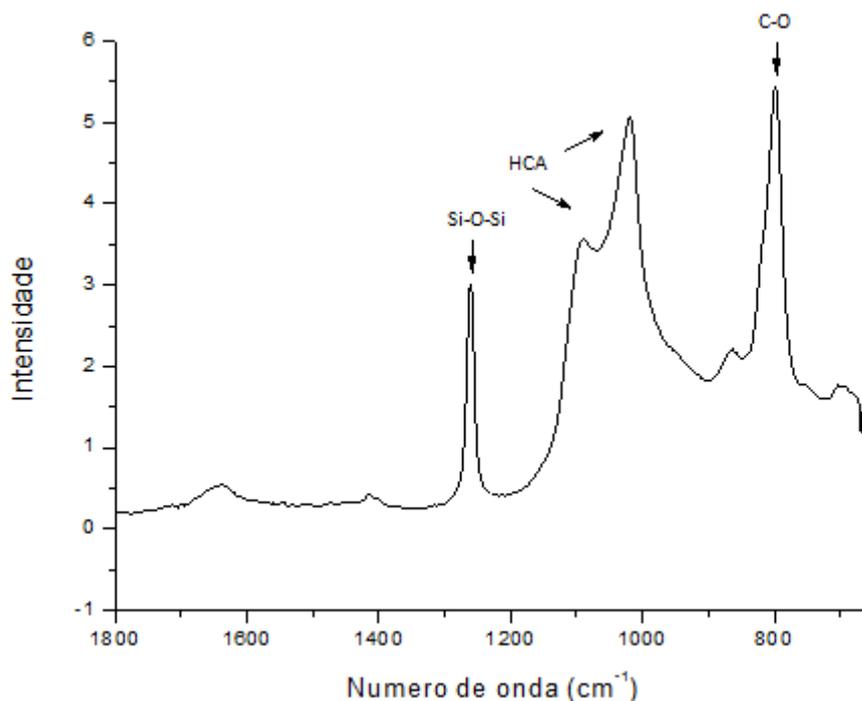
A Figura 22, a seguir, ilustra os espectros de absorção de todas as amostras de dentina depois de terem sido submetidas ao tratamento com o biovidro do sistema $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot \text{SiO}_2 \cdot \text{MgO}$ (grupo G3).

Figura 22: Espectros de absorção no infravermelho, entre 4000 a 650 cm^{-1} , de todas as amostras de dentina desmineralizada após tratamento com o biovidro do sistema $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot \text{SiO}_2 \cdot \text{MgO}$ (grupo G3).



Por sua vez, a Figura 23 exibe a média dos espectros exibidos na Figura 20, na região entre 1800 e 650 cm^{-1} .

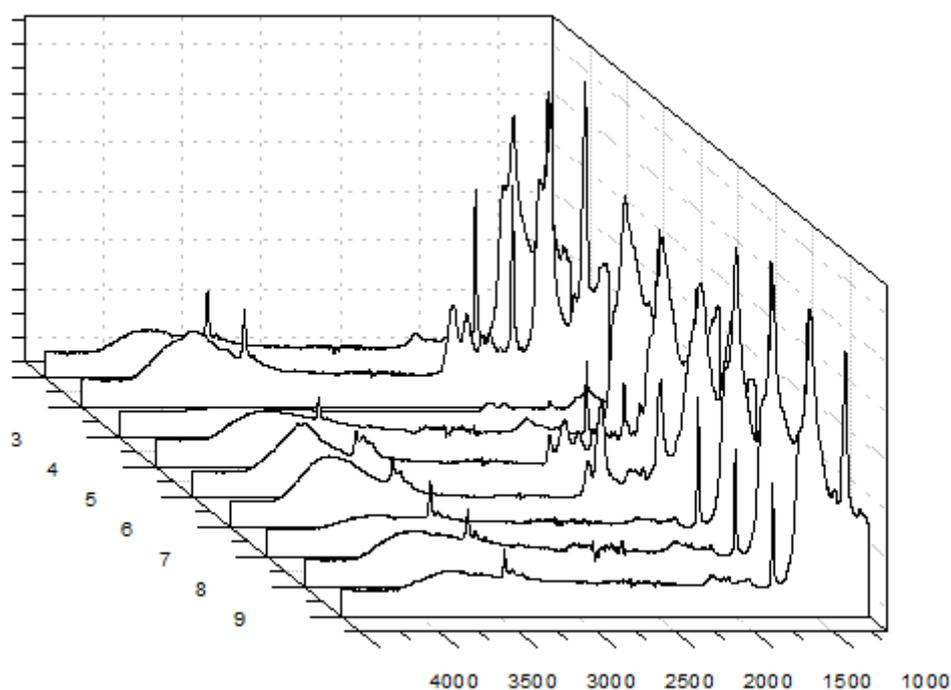
Figura 23: Média dos espectros de absorção no infravermelho, entre 1850 a 650 cm^{-1} , das amostras do grupo tratado com o biovidro do sistema $3\text{CaO.P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$ (grupo G3).



É perceptível que o espectro presente na Figura 23 assemelha-se ao representado na Figura 21 (média dos espectros de absorção das amostras tratadas com o biovidro 45S5[®]). Isto significa que assim como o biovidro 45S5[®], o biovidro do sistema $3\text{CaO.P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$ foi capaz de promover a remineralização da dentina mediante a formação da camada de hidroxiapatitacarbonatada (bandas em 1018 e 1092 cm^{-1}). Observa-se também neste espectro a presença das ligações químicas C-O e Si-O-Si (bandas em 800 e 1260 cm^{-1} , respectivamente). Reitera-se que há concordância entre os resultados encontrados na eletromicrografia do grupo G3 (Figura 15) com o espectro observado no FTIR (Figura 23).

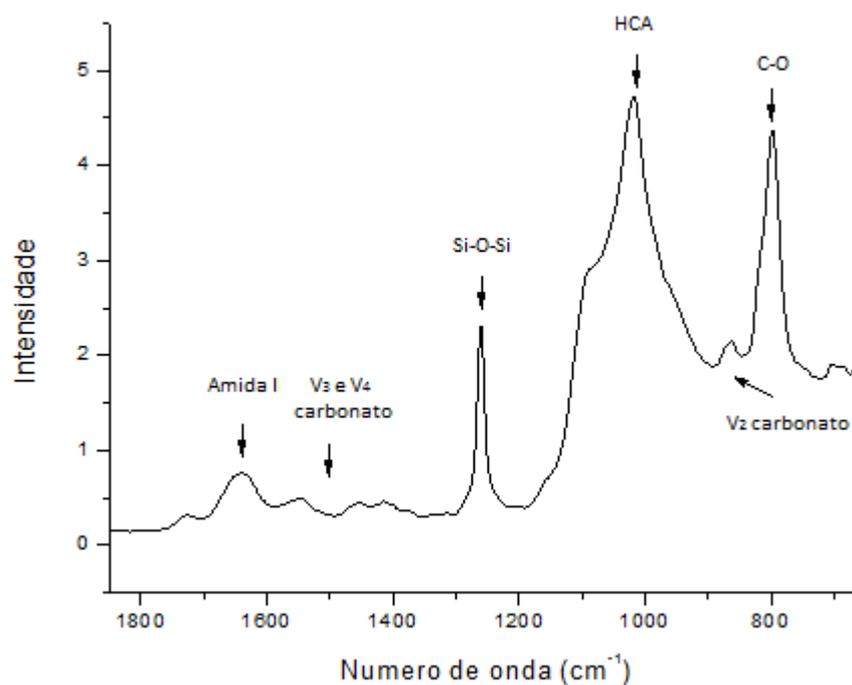
E, por fim, a Figura 24 demonstra os espectros de absorção de todas as amostras de dentina depois de terem sido tratadas com a vitrocerâmica do sistema $3\text{CaO.P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$ (grupo G4).

Figura 24: Espectros de absorção no infravermelho, entre 4000 a 650 cm^{-1} , de todas as amostras de dentina desmineralizada após tratamento com a vitrocerâmica do sistema $3\text{CaO.P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$ (grupo G3).



Assim como para os grupos anteriores, a Figura 25 apresenta a média dos espectros de absorção ilustrados na Figura 20, na região entre 1800 e 650 cm^{-1} .

Figura 25: Média dos espectros de absorção no infravermelho, entre 1850 a 650 cm^{-1} , das amostras do grupo tratado com a vitrocerâmica do sistema $3\text{CaO.P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$ (grupo G4).



Na Figura 25, constata-se que as amostras tratadas com a vitrocerâmica do sistema $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot \text{SiO}_2 \cdot \text{MgO}$ tiveram um recobrimento da superfície da dentina menos efetiva que os demais tratamentos propostos, haja vista as quantidades de material orgânico e de carbonato presentes e que são perceptíveis mediante as intensidades dos picos referentes às bandas em 1640 , 1456 , 1412 e 865 cm^{-1} correspondentes à amida I, carbonatos (bandas ν_3 , ν_4 e ν_2) respectivamente. Além disso, a redução na intensidade dos picos da ligação C-O (800 cm^{-1}), da hidroxiapatita carbonatada (1015 e 1090 cm^{-1}) e da ligação Si-O-Si (1260 cm^{-1}) deixam evidente a menor quantidade de tecido mineralizado, bem como a menor quantidade de vitrocerâmica disponível na superfície da dentina para que a mineralização possa ser promovida. Estes resultados corroboram os encontrados nas imagens de MEV (Figura 16), nas quais diversas amostras exibiram regiões ricas em túbulos dentinários totalmente expostos ou parcialmente ocluídos.

As consolidações dos espectros médios nas regiões entre 1800 cm^{-1} e 1300 cm^{-1} e entre 1800 e 650 cm^{-1} em dois gráficos distintos, para fins de comparação, são apresentadas nas Figuras 26 e 27, respectivamente:

Figura 26: Média dos espectros de absorção no infravermelho, entre 1800 a 1300 cm^{-1} , de todas as amostras do presente estudo, após os tratamentos propostos.

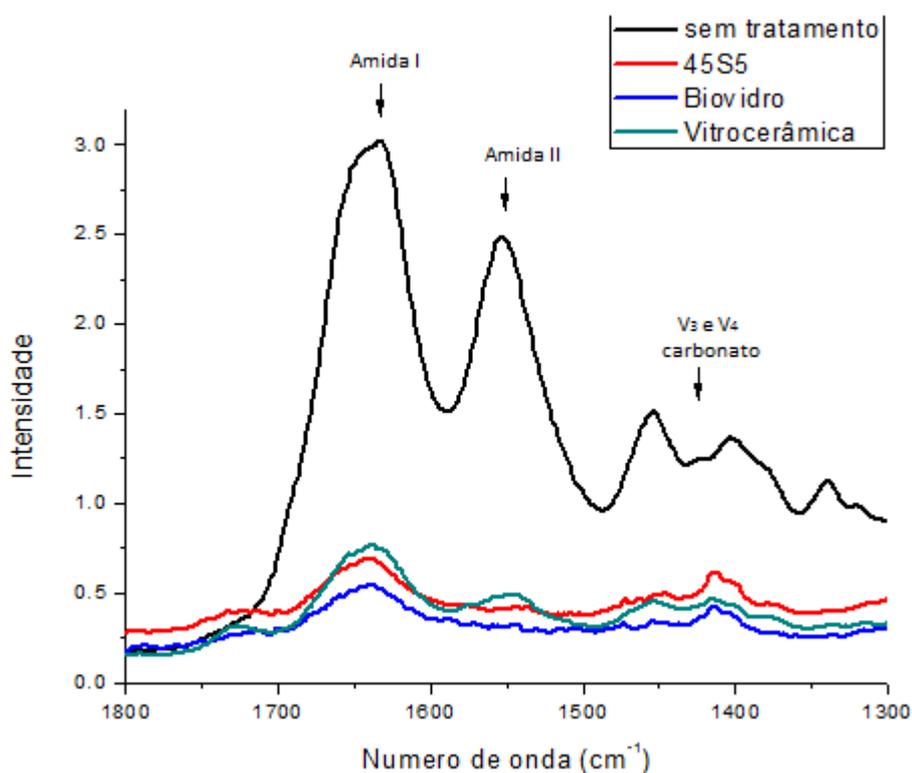
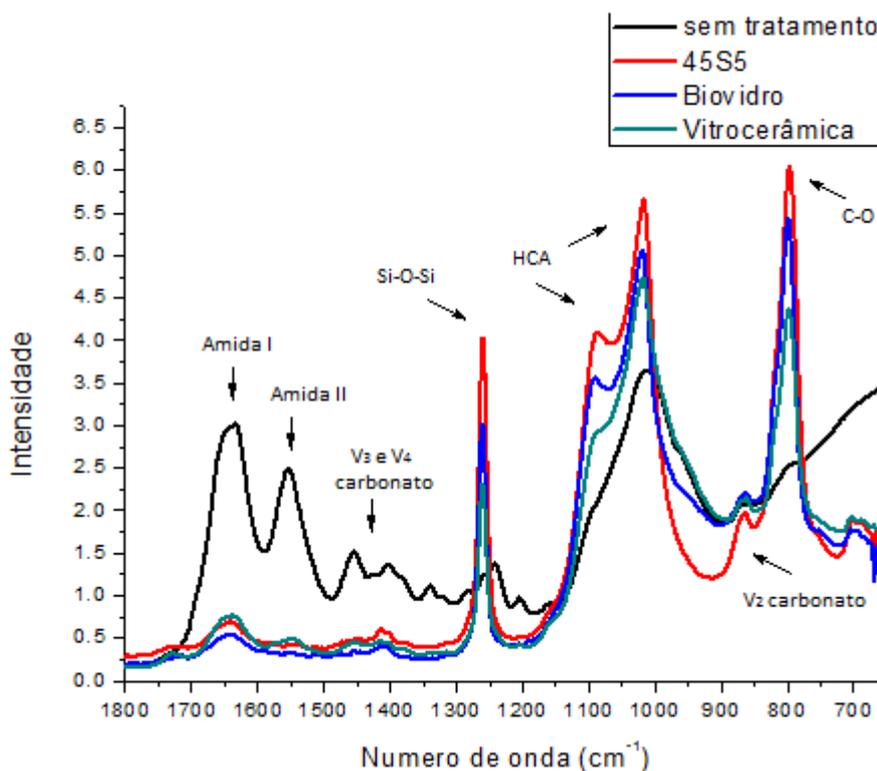


Figura 27: Média dos espectros de absorção no infravermelho, entre 1800 a 650 cm^{-1} , de todas as amostras do presente estudo, após os tratamentos propostos.



Baseando-se no que foi discutido anteriormente e pelo que pode ser observado na Figura 26, verifica-se que as amostras tratadas com a vitrocerâmica (curva verde) apresentaram a maior quantidade de compostos orgânicos entre todos os grupos de tratamento (evidenciada pela maior intensidade dos picos de absorção referentes às amidas I, II e III), o que evidencia a existência de túbulos dentinários expostos, e reforça os resultados encontrados nas imagens de microscopia eletrônica de varredura. Consequentemente, a vitrocerâmica foi o biomaterial que menos promoveu a formação de hidroxiapatitacarbonatada (evidenciada pela menor intensidade dos picos correspondentes à absorção de fosfato, carbonato, Si-O-Si e C-O na Figura 27), uma vez que havia pouca quantidade desse biomaterial disponível sobre a superfície das amostras de dentina para que a remineralização pudesse ocorrer. Há fortes indícios que nos levam a crer que o silicone utilizado para veicular os biomateriais neste estudo, de alguma forma, facilitou o desprendimento da vitrocerâmica da superfície das amostras quando estas ficaram submersas em saliva artificial.

Em contrapartida, tanto o biovidro 45S5[®] quanto o do sistema 3CaO.P₂O₅.-SiO₂-MgO foram bem sucedidos ao promover um bom recobrimento das superfícies das amostras (Figura 26) e formar uma camada de hidroxiapatitacarbonatada que ocasionou a oclusão dos túbulos dentinários. É importante ressaltar que, de acordo com a Figura 27, o 45S5 foi o biomaterial que mais formou hidroxiapatitacarbonatada, haja vista a intensidade deste.

6. CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia empregada e os resultados obtidos neste trabalho, é possível concluir que, entre todos os biomateriais avaliados, o tratamento mais eficiente para hipersensibilidade dentinária é o que fez uso do biovidro 45S5[®], sucedido pelo biovidro do sistema 3CaO.P₂O₅.-SiO₂-MgO e, por último, pela vitrocerâmica do mesmo sistema. Salienta-se, contudo, que os biomateriais do sistema 3CaO.P₂O₅.-SiO₂-MgO são promissores e devem ser investigados com mais profundidade para futuras aplicações clínicas.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora o biovidro e, principalmente, a vitrocerâmica do sistema $3\text{CaO.P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$, não tenham demonstrado um desempenho tão satisfatório quanto o biovidro 45S5 neste Trabalho de Graduação, salienta-se que eles mostraram potencial para este fim. Deixamos aqui como sugestão, para pesquisas futuras, a repetição dos tratamentos com um método mais padronizado de aplicação e o emprego de outro veículo que não seja o óleo de silicone. Além disso, recomenda-se que seja realizada uma investigação mais aprofundada com técnicas mais robustas a respeito da geometria das partículas de vitrocerâmicas.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tirapelli, C., et al., *The effect of a novel crystallised bioactive glass-ceramic powder on dentine hypersensitivity: a long-term clinical study*. J Oral Rehabil, 2011. **38**(4): p. 253-62.
2. Miglani, S., V. Aggarwal, and B. Ahuja, *Dentin hypersensitivity: Recent trends in management*. Journal of Conservative Dentistry : JCD, 2010. **13**(4): p. 218-224.
3. Davari, A.R., E. Ataei, and H. Assarzadeh, *Dentin Hypersensitivity: Etiology, Diagnosis and Treatment; A Literature Review*. Journal of Dentistry, 2013. **14**(3): p. 136-145.
4. Shiau, H.J., *Dentin Hypersensitivity*. Journal of Evidence-Based Dental Practice. **12**(3): p. 220-228.
5. Mantzourani, M. and D. Sharma, *Dentine sensitivity: Past, present and future*. Journal of Dentistry. **41**: p. S3-S17.
6. Splieth, C.H. and A. Tachou, *Epidemiology of dentin hypersensitivity*. Clinical Oral Investigations, 2013. **17**(Suppl 1): p. 3-8.
7. Li, Y., *Innovations for combating dentin hypersensitivity: current state of the art*. Compend Contin Educ Dent, 2012. **33 Spec No 2**: p. 10-6.
8. Bamise, C.T. and T.A. Esan, *Mechanisms and treatment approaches of dentine hypersensitivity: a literature review*. Oral Health Prev Dent, 2011. **9**(4): p. 353-67.
9. Jena, A. and G. Shashirekha, *Comparison of efficacy of three different desensitizing agents for in-office relief of dentin hypersensitivity: A 4 weeks clinical study*. Journal of Conservative Dentistry, 2015. **18**(5): p. 389-393.
10. Lee, B.S., et al., *In vitro study of dentinal tubule occlusion with sol-gel DP-bioglass for treatment of dentin hypersensitivity*. Dent Mater J, 2007. **26**(1): p. 52-61.
11. Curtis, A.R., N.X. West, and B. Su, *Synthesis of nanobioglass and formation of apatite rods to occlude exposed dentine tubules and eliminate hypersensitivity*. Acta Biomater, 2010. **6**(9): p. 3740-6.
12. Zhong, Y., et al., *Effect of a novel bioactive glass-ceramic on dentinal tubule occlusion: an in vitro study*. Aust Dent J, 2015. **60**(1): p. 96-103.
13. Tirapelli, C., et al., *A novel bioactive glass-ceramic for treating dentin hypersensitivity*. Brazilian Oral Research, 2010. **24**: p. 381-387.
14. Siqueira, R.L. and E.D. Zanotto, *Biosilicato®: histórico de uma vitrocerâmica brasileira de elevada bioatividade*. Química Nova, 2011. **34**: p. 1231-1241.
15. Lee, B.S., et al., *In vitro study of dentin hypersensitivity treated by Nd:YAP laser and bioglass*. Dent Mater, 2005. **21**(6): p. 511-9.
16. Lee, B.S., et al., *In vitro study of DP-bioglass paste for treatment of dentin hypersensitivity*. Dent Mater J, 2005. **24**(4): p. 562-9.
17. Farmakis, E.T., et al., *In vitro evaluation of dentin tubule occlusion by Denshield and Neodymium-doped yttrium-aluminum-garnet laser irradiation*. J Endod, 2012. **38**(5): p. 662-6.
18. Bakry, A.S., et al., *Cytotoxicity of 45S5 bioglass paste used for dentine hypersensitivity treatment*. J Dent, 2011. **39**(9): p. 599-603.
19. Bakry, A.S., et al., *CO2 laser improves 45S5 bioglass interaction with dentin*. J Dent Res, 2011. **90**(2): p. 246-50.
20. Bakry, A.S., et al., *The durability of phosphoric acid promoted bioglass-dentin interaction layer*. Dent Mater, 2013. **29**(4): p. 357-64.

21. Hench, L.L., *Chronology of Bioactive Glass Development and Clinical Applications*. New Journal of Glass and Ceramics, 2013. **3**: p. 67-73.
22. Montazerian, M. and E. Dutra Zanotto, *History and trends of bioactive glass-ceramics*. J Biomed Mater Res A, 2016. **104**(5): p. 1231-49.
23. Montazerian, M. and E.D. Zanotto, *Bioactive and inert dental glass-ceramics*. J Biomed Mater Res A, 2016.
24. Daguano, J.K.M.F., et al., *Bioactivity and cytotoxicity of glass and glass-ceramics based on the 3CaO·P2O5–SiO2–MgO system*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2013. **24**(9): p. 2171-2180.
25. Daguano, J.K.M.F., et al., *Effect of partial crystallization on the mechanical properties and cytotoxicity of bioactive glass from the 3CaO·P2O5–SiO2–MgO system*. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 2012. **14**: p. 78-88.
26. Daguano, J.K.M.F., et al., *Development and characterization of 3CaO·P2O5–SiO2–MgO glass-ceramics with different crystallization degree*. Journal of Advanced Ceramics, 2013. **2**(4): p. 378-388.
27. Crivelini, M.M., *Aspecto de imagem de estruturas do dente*. 2016.
28. Jesus Djalma Pécora, R.S.d.S., Danilo M. Zanello Guerisoli., *Como é um dente por dentro?* 1997.
29. Gonçalves, A., *Complexo Dentino-Pulpar*. 2015.
30. Pécora, J.D., *Complexo Dentina-Polpa*. 2004.
31. Pécora, J.D., *Diagnóstico das Pulpopatias*. 2004.
32. Gonçalves, A., *Esmalte*. 2015.
33. Gonçalves, A., *Periodonto de Proteção (Junção Dentogengival)*. 2015.
34. Gonçalves, A., *Periodonto de Inserção (Cemento)*. 2015.
35. Gonçalves, A., *Periodonto de Inserção (Ligamento Periodontal)*. 2015.
36. Gonçalves, A., *Periodonto de Inserção (Osso Alveolar)*. 2015.
37. Farmakis, E.T., et al., *The influence of different power settings of Nd:YAG laser irradiation, bioglass and combination to the occlusion of dentinal tubules*. Photomed Laser Surg, 2013. **31**(2): p. 54-8.
38. Williams, D.F., *On the mechanisms of biocompatibility*. Biomaterials, 2008. **29**(20): p. 2941-2953.
39. Hench, L.L., *Bioceramics: From Concept to Clinic*. Journal of the American Ceramic Society, 1991. **74**(7): p. 1487-1510.
40. Krishnan, V. and T. Lakshmi, *Bioglass: A novel biocompatible innovation*. J Adv Pharm Technol Res, 2013. **4**(2): p. 78-83.
41. Wang, Z., et al., *Dentine remineralization induced by two bioactive glasses developed for air abrasion purposes*. J Dent, 2011. **39**(11): p. 746-56.
42. Bretcanu, O., et al., *Sintering and crystallisation of 45S5 Bioglass® powder*. Journal of the European Ceramic Society, 2009. **29**(16): p. 3299-3306.
43. Srivastava, A.K., *Characterization of ZnO Substituted 45S5 Bioactive Glasses and Glass - Ceramics*. Journal of Materials Science Research, 2012. **1**(2): p. 207-220.
44. Norton, C.B.C.M.G., *Ceramic Materials: Science and Engineering*. 2013.
45. Codarin, G.F., et al., *Analysis of angular reading distortions of photographic images*. Brazilian Journal of Physical Therapy, 2012. **16**: p. 309-313
46. Peitl Filho, O., G.P. LaTorre, and L.L. Hench, *Effect of crystallization on apatite-layer formation of bioactive glass 45S5*. J Biomed Mater Res, 1996. **30**(4): p. 509-14.

9. ANEXO

ANEXO A - Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFABC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFEITOS DA APLICAÇÃO DE BIOVIDROS NO TRATAMENTO DA HIPERSENSIBILIDADE E DA CÂRIE DENTINÁRIA

Pesquisador: Patricia Aparecida da Ana

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 51559815.2.0000.5594

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC - UFABC

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.417.062

Apresentação do Projeto:

Projeto bem apresentado e muito bem fundamentado do ponto de vista metodológico com possibilidade de benefícios significativos.

Objetivo da Pesquisa:

O presente trabalho busca avaliar um novo biovidro e o seu respectivo vitrocerâmico na capacidade de remineralização da dentina humana desmineralizada, assim como verificar se o mesmo material permite a paralisação de lesões de cárie.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os experimentos serão realizados em vitro a partir de dentes provenientes de BioBanco devidamente certificado junto ao CONEP. Os riscos da pesquisa são mínimos para os voluntários que doam mediante circunstâncias diversas seus dentes para o BioBanco. Os riscos em relação à execução experimental são pequenos e referentes a possíveis contaminações relativas à manipulação de material biológico. Todos os cuidados foram devidamente mencionados. Os benefícios são significativos na medida em que proporcionam novos métodos para a paralisação da cárie dentária e remineralização da dentina humana.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa pertinente, muito bem fundamentada metodologicamente e com possibilidade de

Endereço: Avenida dos Estados, 5001, Bloco A, Torre I, 1º andar
 Bairro: Santa Terezinha CEP: 09.210-580
 UF: SP Município: SANTO ANDRE
 Telefone: (11)3356-7632 E-mail: cep@ufabc.edu.br



Continuação do Parecer: 1.417.062

benefícios significativos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de rosto devidamente preenchida. Termo de anuência do BioBanco e TCLE apresentado ao voluntário pelo BioBanco no momento da doação dos dentes devidamente apresentados. Projeto de pesquisa detalhado apresentado. Resumo e informações básicas também apresentados.

Recomendações:

Aprovação

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O pesquisador se compromete a entregar relatórios de pesquisa semestrais para o acompanhamento do projeto. O primeiro relatório deverá ser entregue até o dia 01/09/2016.

Os modelos e a forma de entrega do relatório serão disponibilizados no site cep.ufabc.edu.br

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_619470.pdf	18/11/2015 09:58:33		Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	18/11/2015 09:57:35	Patricia Aparecida da Ana	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_BIOBANCO.pdf	02/11/2015 16:12:50	Patricia Aparecida da Ana	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	02/11/2015 16:12:13	Patricia Aparecida da Ana	Aceito
Outros	termo.pdf	02/11/2015 13:57:20	Patricia Aparecida da Ana	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não



Continuação do Parecer: 1.417.062

SANTO ANDRE, 21 de Fevereiro de 2016

Assinado por:
Andre Mascioli Cravo
(Coordenador)