

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC

TRABALHO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA

Leonardo Josias Messias

**ESTUDO DE FORMAS DE AUMENTAR A RETENÇÃO DO
BIOSILICATO® NA DENTINA DESMINERALIZADA PARA A
REMINERALIZAÇÃO DE LESÕES DE CÁRIE**

SÃO BERNARDO DO CAMPO

2021

LEONARDO JOSIAS MESSIAS

**ESTUDO DE FORMAS DE AUMENTAR A RETENÇÃO DO
BIOSILICATO® NA DENTINA DESMINERALIZADA PARA A
REMINERALIZAÇÃO DE LESÕES DE CÁRIE**

Trabalho de Graduação no curso de Engenharia Biomédica da Universidade Federal do ABC como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Engenharia Biomédica.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Patrícia Ap. da Ana

São Bernardo do Campo

2021

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do ABC
Elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFABC
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Messias, Leonardo Josias

ESTUDO DE FORMAS DE AUMENTAR A RETENÇÃO DO
BIOSILICATO® NA DENTINA DESMINERALIZADA PARA A
REMINEALIZAÇÃO DE LESÕES DE CÁRIE / Leonardo Josias Messias. —
2021.

60 fls.

Orientadora: Patrícia Aparecida Ana

Trabalho de Conclusão de Curso — Universidade Federal do ABC,
Bacharelado em Engenharia Biomédica, São Bernardo do Campo, 2021.

1. Biosilicato. 2. Vitrocerâmico. 3. Cárie. 4. Fotoabsorvedor. 5. Laser. I.
Ana, Patrícia Aparecida. II. Bacharelado em Engenharia Biomédica, 2021.
III. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

FOLHA DE CITAÇÃO À CAPES

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”.

DEDICATÓRIA

*Dedico o presente trabalho à minha mãe, **Vera**, pois sem seu apoio a meus estudos durante todos esses anos, esse trabalho e muitas outras de minhas conquistas acadêmicas com certeza não teriam sido realizados.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora do Trabalho de Graduação, Prof.^a Dr.^a Patrícia Ap. da Ana, por todo o auxílio e a orientação para a preparação do texto, por todas as reuniões que tivemos, por todas as dicas e também pela manipulação do *laser* na etapa segunda etapa do projeto.

À minha orientadora de Iniciação Científica, Prof.^a Dr.^a Juliana Kelmy Macário de Faria Daguano pela oportunidade de realizar esse trabalho incrível e por me orientar em todo o processo. Agradeço também pelas oportunidades que conseguiu para mim, como a de apresentar esse trabalho na XXVII Jornadas de Jovens Pesquisadores da Associação de Universidades Grupo Montevideo – AUGM em 2019.

À Daniela Casimiro de Figueredo por me auxiliar também em todas as etapas do trabalho e me ensinar tudo que eu deveria saber para realizar os procedimentos por conta própria. Agradeço principalmente pela companhia no laboratório, com altos papos sobre séries e livros, e pela parte de cálculos estatísticos do trabalho.

Ao Matheus Del Valle pelas rotinas no MATLAB, e a todo o grupo de estudo pelo auxílio, cuidados e companhia que fizeram a mim enquanto realizava este trabalho: Prof. Dr. Nasser Ali Daghashtanli, Amanda Juraski, Henrique Motta, Graziela Pereira, entre muitos outros.

À equipe técnica da Central Multiusuário da UFABC – SBC: Adrian e Tanil. Agradeço pelo suporte e pela boa vontade em ajudar. Em especial, agradeço ao Adrian por sempre procurar uma forma de simplificar procedimentos e por ter realizado boa parte das aquisições de imagens de MEV que compõem este trabalho.

À Prof.^a Dr.^a Carolina Benetti, pelo treinamento no FTIR.

Ao Laboratório de Materiais Vítreos (LaMaV) da UFSCar pelo fornecimento de Biosilicato®.

À FAPESP (Processo 2017/21887-4), CAPES (projeto PROCAD-CAPES edital 071/2013, 88881.068505/2014-01) e CNPq (INCT # 465763/2014-6 – Photonics National Institute for Science and Technology – INFO) pelo auxílio financeiro.

RESUMO

O presente estudo tem por objetivo a investigação de métodos que aumentem a retenção do Biosilicato®, uma vitrocerâmica altamente bioativa, na dentina desmineralizada, visando-se potencializar a remineralização de lesões incipientes de cárie. A primeira etapa do projeto tratou de determinar um veículo para o Biosilicato®, enquanto a segunda etapa avaliou a interferência da irradiação deste biomaterial com um *laser* de Nd:YAG *Q-switched*. Na primeira etapa, blocos de dentina radicular foram preparados, seguidos da indução de cárie química nas amostras, onde foi feito o tratamento com a vitrocerâmica bioativa em diferentes veículos de aplicação, sendo eles: água destilada, silicone e gel dental sem fluoreto. Foram também realizadas caracterizações, por espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e microscopia eletrônica de varredura (MEV), que mostraram a efetividade do tratamento da desmineralização com o Biosilicato®, indicando também que este material veiculado com a água destilada apresentou os melhores resultados. A segunda etapa do projeto tratou também do preparo de novos blocos de dentina radicular e da indução de cárie química nas amostras, mas desta vez, submetidas a tratamentos associando o Biosilicato® veiculado em água destilada, à irradiação de *laser* com aplicação prévia, ou não, de fotoabsorvedor à base de carvão vegetal ou tinta de sépia. Após análises por FTIR e MEV, observou-se que o grupo tratado com Biosilicato® + *laser* sem a aplicação prévia de fotoabsorvedor foi o que apresentou maior retenção de material sobre a superfície, com indícios de formação de hidroxiapatita carbonatada. Na comparação entre os dois fotoabsorvedores avaliados, evidenciou-se que ambos têm funções parecidas, mas que a tinta de sépia promoveu a formação de uma superfície mais homogênea. Desta forma, concluiu-se que o melhor veículo para a aplicação do Biosilicato® é a água destilada e que a irradiação *laser* pode aumentar a bioatividade e a adsorção do biomaterial, desde que seja efetuada com ausência de fotoabsorvedor.

Palavras-chave: vitrocerâmico; fotoabsorvedor; cárie; *laser* em alta intensidade.

ABSTRACT

This study investigates methods that increase the retention of Biosilicate®, a highly bioactive glass-ceramic, in demineralized dentin, aiming to enhance the remineralization of incipient caries lesions. The first part of the project sought to determine a vehicle for the Biosilicate®, while the second part evaluated the interference of the irradiation on this biomaterial with a Q-switched Nd:YAG laser. In the first part, root dentin blocks were prepared, followed by the induction of chemical caries in the samples, which were treated with the bioactive glass-ceramic in different application vehicles: distilled water, silicone and fluoride-free dental gel. Characterizations were also performed by Fourier Transform Infrared Absorption Spectroscopy (FTIR) and Scanning Electron Microscopy (SEM), which showed the effectiveness of the demineralization treatment with Biosilicate®, also indicating that this material treated with distilled water presented the best results. For the second part of the project new blocks of root dentin were prepared, chemical caries in the samples were again induced, and they were subjected to different treatments. These treatments were made by associating Biosilicate® with distilled water and laser irradiation with previous application, or not, of a photoabsorber based on coal or sepia ink. After analysis by FTIR and SEM, it was observed that the group treated with Biosilicate® + laser without the previous application of a photoabsorber showed the greatest retention of material on the surface, with evidence of formation of carbonated hydroxyapatite. In the comparison between the two photoabsorbers evaluated, it was evidenced that both have similar functions, but the sepia ink promoted the formation of a more homogeneous surface. Thus, it was concluded that the best vehicle for Biosilicate® is distilled water and that laser irradiation can increase the bioactivity and adsorption of the biomaterial, as long as it's made in the absence of a photoabsorber.

Key words: glass-ceramic; photoabsorber; caries; high intensity laser.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS.....	13
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1. Cárie dentária	14
3.2. Biosilicato®	15
3.3. Aplicação de <i>lasers</i> na Odontologia.....	17
3.4. Aplicação de <i>lasers</i> de neodímio (Nd:YAG) na Odontologia.....	20
3.5. Fotoabsorvedores	21
4. METODOLOGIA.....	24
4.1. Delineamento experimental.....	24
4.2. Preparação inicial das amostras de dentina	25
4.3. Obtenção do Biosilicato®	27
4.4. Análise composicional	27
4.5. Indução da lesão de cárie.....	27
4.6. Preparação da solução remineralizadora	28
4.7. Etapa 1 – Veículos do Biosilicato®	29
4.8. Análise da morfologia superficial	29
4.9. Etapa 2 – Interferência da irradiação do <i>laser</i> no Biosilicato®.....	30
4.10. Análise dos dados	31
4.11. Análise estatística.....	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
5.1. Etapa 1 – Veículos do Biosilicato®	33
5.1.1. Análise composicional	33
5.1.2. Análise da morfologia superficial	37
5.2. Etapa 2 – Interferência da irradiação do <i>laser</i> no Biosilicato®.....	39
5.2.1. Análise composicional	39
5.2.2. Análise da morfologia superficial	47
6. CONCLUSÕES.....	52
7. REFERÊNCIAS.....	53
8. ANEXO.....	60

1. INTRODUÇÃO

A incansável busca por melhores condições de tratamentos médicos e odontológicos e a recuperação da saúde e qualidade de vida mais acelerada de indivíduos fazem com que pesquisas na área de biomateriais ocorram de forma crescente e intensa. Essa busca, que de algumas décadas atrás até os dias atuais tem aumentado consideravelmente, traz uma gama de possibilidades e inovações na área da saúde. Neste sentido é possível destacar os materiais bioativos, isto é, aqueles que promovem interação de forma positiva com os tecidos biológicos, possibilitando a recuperação de funções, estímulo de produção celular e a regeneração tecidual (ORÉFICE *et al.*, 2012; JONES, 2015).

No campo destes novos biomateriais, há os vitrocerâmicos, os quais surgiram a partir da cristalização controlada de biovidros, e que possuem bom índice de bioatividade e melhores propriedades mecânicas. Com base nessas propriedades, foi desenvolvida na Universidade Federal de São Carlos - UFSCAR, uma nova vitrocerâmica, o Biosilicato®, com base na composição do já renomado Bioglass 45S5®. Essa vitrocerâmica 100% cristalina é altamente bioativa, ou seja, quando em contato com fluidos fisiológicos promove a formação de hidroxiapatita carbonatada (HCA) no local de sua aplicação. Ainda, é consideravelmente resistente para fins de usinabilidade, facilitando a confecção de implantes; tem módulo elástico próximo ao do osso cortical, o que evita a reabsorção óssea; e quando na forma de partícula, apresenta ausência de arestas cortantes, sendo comprovadamente eficiente para tratamento de hipersensibilidade dentinária (TIRAPELLI *et al.*, 2010; SIQUEIRA *et al.*, 2011).

Na área odontológica, foi observado que o Biosilicato® tem alta compatibilidade aos tecidos dentários e uma boa resposta à regeneração destes. Como exemplo, o uso deste material se mostra como uma excelente alternativa no tratamento de hipersensibilidade dentinária devido ao depósito de HCA na superfície dos túbulos abertos. Resumidamente, na hipersensibilidade dentinária, a dor está relacionada à exposição dos túbulos dentinários a alterações térmicas, mecânicas ou osmóticas. Estas

alterações promovem o rápido deslocamento do fluido que se encontra no interior dos túbulos dentinários, o que promove também a movimentação dos prolongamentos dos odontoblastos. Com isso, tem-se um estímulo à inervação pulpar e a consequente sintomatologia dolorosa. (FARIA; VILELLA, 2020). Estudos prévios sugerem que o tratamento realizado com Biosilicato® pode ser mais duradouro quando comparado a produtos similares do mercado, como o creme dental dessensibilizante Sensodyne® e soluções dessensibilizantes de cálcio e fosfato empregadas profissionalmente. (TIRAPELLI *et al.*, 2010; SIQUEIRA *et al.*, 2011).

Ainda, é possível sugestionar a investigação do emprego de Biosilicato® no tratamento de lesões de cárie, visando a remineralização das lesões incipientes, também chamadas de mancha-branca. A literatura evidencia o potencial do uso de vidros bioativos na remineralização de lesões de cárie incipientes em esmalte e dentina (NARAYANA *et al.*, 2014; WU *et al.*, 2020; SHARDA *et al.*, 2021).

Embora a literatura relate que o uso de vidros e vitrocerâmicos bioativos seja eficiente na redução da hipersensibilidade dentinária, é comprovado que os mesmos podem não obliterar totalmente os túbulos dentinários expostos (LEE *et al.*, 2005); assim, tem sido sugerida a associação destes materiais com a irradiação de *laser* em alta intensidade (LEE *et al.*, 2005; BAKRY *et al.*, 2011; FARMAKIS *et al.*, 2013). Tal associação possibilitaria maior integração destes materiais com a dentina, assim como a manutenção de uma camada mais uniforme de material formado (LEE *et al.*, 2005). Outro estudo reporta que a irradiação *laser* pode favorecer a formação de compostos cristalinos, os quais mantêm melhor estabilidade do material (BRITO, 2014). Assim, a associação dos tratamentos pode propiciar a formação de uma camada de material mais bem retida, favorecendo a remineralização das lesões de cárie, e atuar por um maior período de tempo. Contudo, não há trabalhos na literatura que evidenciam se a camada de material formado após a aplicação de vidros e vitrocerâmicos bioativos mantém-se retida após um período prolongado e se a irradiação *laser* em alta intensidade pode favorecer este processo, tampouco que relatem quais as transformações bioquímicas e morfológicas que a irradiação *laser* pode promover nas vitrocerâmicas como o Biosilicato®.

Neste contexto, é necessário primeiramente ter detalhes muito específicos a respeito do meio utilizado para aplicação do Biosilicato®, isto é, o veículo a ser empregado, considerando que não há na literatura estudos que reportem qual meio poderia favorecer a retenção e a bioatividade do material (TIRAPELLI *et al.*, 2010). Idealmente, sendo estabelecida a rotina de aplicação do biomaterial, espera-se que este resultado seja extrapolado, tanto para o uso doméstico ou em consultório odontológico, possibilitando uma fácil aplicação manual do mesmo.

Dessa forma, espera-se que seja possível investigar a melhor forma de emprego do Biosilicato® para efeito remineralizador da dentina desmineralizada, no caso específico para a remineralização de lesões incipientes de cárie.

2. OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi investigar formas de aumentar a retenção do Biosilicato® sobre a dentina desmineralizada, de forma a se obter um posterior efeito de remineralização de lesões incipientes de cárie. Para atingir o objetivo principal foi necessário dividir o estudo em duas etapas, cujos objetivos principais são:

- Etapa 1 - avaliar veículos do Biosilicato® particulado para aplicação em dentina, sendo eles: água destilada, silicone em gel e gel dental sem fluoreto;
- Etapa 2 - verificar se a radiação *laser* em alta intensidade de pulsos curtos, mais especificamente o *laser* de Nd:YAG *Q-switched*, pode aumentar a retenção do Biosilicato® na dentina. Além disso, determinar uma melhor pasta fotoabsorvedora para o *laser* de Nd:YAG para tal aplicação.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Cárie dentária

A cárie dentária é uma complexa doença multifatorial caracterizada pela perda de mineral localizada no esmalte e/ou na dentina. É uma lesão dependente da presença de biofilme, da dieta e de fatores biológicos, comportamentais e ambientais. Para o surgimento de uma lesão, é necessário que ocorra um desbalanço entre os períodos de desmineralização (saída de minerais do dente para a saliva) e remineralização (entrada de minerais da saliva para o dente) (MACHIULSKIENE *et al.*, 2019).

Tendo em vista que a incidência da cárie é uma das doenças infantis mais prevalentes em todo o mundo (TUNGARE; PARANJPE, 2021), diferentes tratamentos têm surgido com a intenção de amenizar seus efeitos. Alguns deles incluem a remoção completa do tecido acometido seguido de restauração, procedimento comum em países subdesenvolvidos e recomendado apenas para lesões cavitadas (FRENCKEN *et al.*, 1996). Contudo, para lesões não cavitadas, ou seja, as lesões de mancha-branca, recomenda-se o uso de agentes que ativam a remineralização, considerando que tais lesões são passíveis de serem estagnadas e portanto, tornarem-se inativas. Dos agentes remineralizantes, o fluoreto destaca-se por suas diferentes possibilidades de uso (géis acidulados ou não, vernizes, espumas, bochechos, dentifícios com alta ou baixa concentração, etc), alta eficácia e baixo custo (BUZALAF *et al.*, 2011). Contudo, ressalta-se que o fluoreto, depositado sobre os tecidos dentários majoritariamente sob a forma de glóbulos de fluoreto de cálcio, são facilmente perdidos na saliva (TENUTA *et al.*, 2008), o que requer aplicações constantes para manutenção adequada de suas concentrações no meio e garantir a eficácia do tratamento. Considerando que muitas pessoas não têm acesso constante ao consultório odontológico, há ainda a necessidade de opções para garantir uma remineralização eficaz e duradoura, sem a necessidade de múltiplas visitas ao dentista. Técnicas recentes de tratamento de cárie têm sido desenvolvidas com o objetivo de promover uma forma alternativa que não envolve o uso de fluoreto. Algumas alternativas serão discutidas nos tópicos seguintes.

3.2. Biosilicato®

Segundo Filho *et al.* (1996), o Biosilicato® foi obtido através da cristalização do Bioglass 45S5® e não há perda da bioatividade do material mesmo quando submetido à 100% de cristalização. Ainda, no mesmo estudo, foi observado que esse material, após 40 h em exposição a fluidos que simulam condições do corpo, possibilitou a formação de uma camada de HCA espessa e bem estabelecida. Ressalta-se que a HCA é o principal componente dos tecidos duros do corpo humano, como os dentes e os ossos, e o estudo supracitado indicou, portanto, uma possível capacidade do Biosilicato® de promover a regeneração destes tecidos.

Tirapelli (2007) avaliou a eficácia do Biosilicato® no tratamento da hipersensibilidade dentinária, realizando estudos *in vivo* e *in vitro*. O estudo *in vivo* foi realizado por meio de pacientes voluntários, onde o uso do Biosilicato®, aplicado com gel a 1% e misturado à água destilada 10%, foi comparado com produtos de mercado (o dentrífcio dessensibilizante Sensodyne® e o produto Sensi Kill®); e o *in vitro*, foi realizado através da análise e comparação de amostras de dentina. Este estudo constatou que todos os produtos testados foram capazes de diminuir significativamente a dor da hipersensibilidade dentinária, porém, o Biosilicato® associado à água destilada apresentou uma maior redução da dor em um menor período (logo na semana seguinte à aplicação foi observado um valor EVA de hipersensibilidade dentinária quase 3 vezes menor que a semana inicial). Ainda, de acordo com a avaliação por MEV, a mesma combinação apresentou uma superfície uniforme sobre o tecido dentinário.

O Biosilicato® também foi estudado em relação à sua capacidade de neoformação de tecido ósseo. Roriz (2006) realizou uma avaliação histológica de alvéolos dentários de cães preenchidos com Biosilicato®, onde observou que alvéolos tratados com o material bioativo apresentaram uma maior formação de tecido mineralizado do que os que não foram tratados. Ainda, Jabur (2006) estudou, *in vivo*, o efeito de Bioglass 45S5®, Biosilicato® e osso autógeno em defeitos de mandíbulas de cães, comparando os resultados com um grupo controle sem tratamento. Os resultados obtidos foram estatisticamente semelhantes entre os grupos experimentais, indicando

que o biomaterial não favoreceu a reparação óssea nas condições estudadas, apesar de ter se mostrado viável para ser empregado como substituto ósseo. Estudando o efeito do Biosilicato® para osteogênese *in vitro* (formação de ossos fora de um sistema vivo), Moura *et al.* (2007) verificaram que o material bioativo proporcionou um aumento significativo das áreas de tecido calcificadas, e conseqüentemente, o aprimoramento de formação de células osteoblásticas. Brandão *et al.* (2013) realizaram um estudo que mostrou a eficiência do Biosilicato® quando usado para a reparação da cavidade anoftálmica de coelhos, apresentando uma boa compatibilidade indicada pela mínima reação inflamatória.

Vicenti (2018) caracterizou as propriedades do Biosilicato® incorporado a cimentos artificiais de ionômero de vidro modificados por resina, e também avaliou a influência do envelhecimento artificial sobre a resistência de união dos materiais experimentais à dentina, assim como seu potencial remineralizador. Neste trabalho, concluiu-se que a incorporação de Biosilicato® aos cimentos artificiais não resulta em propriedades melhoradas do material, mas houve maior liberação de flúor e maior relação Ca/P em algumas composições, indicando seu potencial de remineralização mesmo quando associado a cimentos comerciais.

Azenha *et al.* (2019) avaliaram o processo de reparo alveolar de ratos ovariectomizados após preenchimento com Biosilicato® por meio de análise clínica e histomorfométrica. Seus resultados mostraram um elevado grau de biocompatibilidade, não se observando resposta inflamatória derivada de sua implantação, que favoreceram a interação do osso com o implante. Ainda, inferiu-se que o Biosilicato® exerceu atividade de estimulação óssea, onde é possível observar uma recuperação acentuada do volume ósseo do 7º ao 14º e do 14º ao 28º dia. Neste sentido, o Biosilicato® se mostrou como um biomaterial adequado para o reparo ósseo, favorecendo a osteocondução. No mesmo ano, Vale (2019) realizou testes *in vivo* com o objetivo de avaliar os efeitos da fotobiomodulação associada a compósitos de Biosilicato® e Espongina no reparo de defeitos ósseos induzidos na calota craniana de ratos, e observou uma degradação inicial no compósito e a presença de osso recém-formado 15 dias depois da cirurgia. Após 45 dias, notou-se que o osso recém-formado já cobria toda a extensão do defeito, e revelou-

se também uma maior degradação do biomaterial, concluindo que o estímulo fornecido pela fotobiomodulação associada ao compósito de Biosilicato® e Espongina aumentou a formação óssea no defeito craniano em ratos. Um estudo semelhante, realizado por Fermino (2019) avaliou o efeito do mesmo *scaffold* de Biosilicato® e Espongina no processo de reparo de defeitos ósseos induzidos em tíbias de ratos. Nesse estudo, percebeu-se, através de análise histopatológica, a presença de tecido de granulação e poucas células inflamatórias no local do defeito ósseo, assim como sinais que sugerem a degradação do Biosilicato®/Espongina em seu centro, concluindo que a combinação proporcionou o crescimento ósseo.

Mais recentemente, Acevedo (2020) avaliou o potencial de obliteração de túbulos dentinários do Biosilicato® e de biovidros experimentais de diferentes composições, *in vitro* em dentina bovina, como tratamento alternativo para hipersensibilidade dentinária. Neste estudo, observou um aumento significativo nos valores de absorbância dos túbulos tratados com o Biosilicato®, que são interpretados como uma maior proliferação celular, evidenciando sua capacidade de acelerar o processo de cicatrização óssea.

3.3. Aplicação de *lasers* na Odontologia

Os primeiros registros da utilização da radiação *laser* na Odontologia são da década de 60, realizados por Stern *et al.* (1966), onde foi reportada a modificação do esmalte pelas irradiações com *laser* de rubi. Observou-se a formação de crateras superficiais, onde o esmalte foi fundido e vitrificado.

Tais efeitos foram observados devido ao intenso aquecimento superficial produzido pela radiação *laser* e, então, a busca por comprimentos de onda e condições de irradiação, tais como ajustes na densidade de potência, densidade de energia, regime de irradiação, largura temporal de pulsos, taxa de repetição, presença ou não de refrigeração, dentre outros ajustes, foram necessários para o desenvolvimento da aplicação do *laser* em alta intensidade para prevenção das lesões de cárie. Atualmente, os *lasers* que podem ser empregados para tal finalidade são os *lasers* de CO₂ (de

comprimentos de onda de 9,6 μm e 10,6 μm), Nd:YAG (1064 nm), Er:YAG (2,94 μm), Er,Cr:YSGG (2,78 μm). Outros como o Argônio, diodo e vapor de cobre também foram estudados, mas com menor repercussão para uso clínico.

Fazendo-se um pequeno resumo histórico, pode-se citar o estudo de Stern *et al.* (1972), os quais observaram, por meio de MEV, que as regiões irradiadas com *laser* de CO₂ expostas ao meio ácido se apresentaram intactas morfológicamente, enquanto as regiões não irradiadas apresentaram características morfológicas do processo de desmineralização, sugerindo que a irradiação do *laser* aumenta a resistência do esmalte dental ao desafio ácido. Anos mais tarde, Featherstone *et al.* (1987) estudando a aplicação do *laser* de CO₂ na superfície de dentes desmineralizados, perceberam que a irradiação do *laser* criou pontos de fusão na superfície das amostras, e que isso provocou uma inibição da progressão da lesão de cárie incipiente. Ainda, foi observado que a força de adesão de uma resina composta à dentina melhorou significativamente. Na década de 90, também estudando o processo de irradiação *laser* na superfície do esmalte dental, Oho e Morioka (1990) evidenciaram que o esmalte irradiado com *laser* de argônio apresenta uma alta birrefringência, o que sugere a formação de “microespaços” no esmalte. Também foi observado que os íons liberados por um ácido na desmineralização tendem a ficar presos nesses microespaços, enquanto esses íons tendem a se difundir nos espaços interprismáticos do esmalte presente nas amostras não-irradiadas.

Harazaki *et al.* (2001) realizaram um estudo com o objetivo de controlar cáries dentais com a aplicação da irradiação do *laser* de neodímio (Nd:YAG) em pacientes que realizavam tratamentos ortodônticos. Em um estudo preliminar, os autores iradiaram um dente extraído com *laser* de Nd:YAG e depois de o deixarem em submerso em ácido láctico, observaram inibição de lesões incipientes de cárie. Ainda, foi realizado um estudo com 20 pacientes durante aproximadamente um ano, que mostrou que a irradiação com *laser* de neodímio também inibe a progressão de lesões de mancha-branca. Ana *et al.* (2005) publicaram um estudo de revisão bibliográfica onde avaliaram se a irradiação com *laser* em alta intensidade (CO₂, Er,YAG, Er,Cr:YSGG e Nd:YAG) é capaz de reduzir a incidência de cáries. Foi observado que a porcentagem de inibição de cáries para todos os *lasers* citados variou de 30 a 97,2% e que a irradiação do *laser*

associada com o fluoreto apresentou os melhores resultados na inibição do desenvolvimento de lesões. Dando continuidade a seus estudos, Ana (2007) estudou a aplicação do *laser* de Er,Cr:YSGG no esmalte dental, com o objetivo de verificar, através de um estudo *in vitro*, a resistência do esmalte à desmineralização e sua capacidade de retenção de flúor. Concluiu-se que a irradiação promoveu uma maior retenção do fluoreto, porém, apresentou resultados estatisticamente semelhantes aos da aplicação direta do fluoreto na resistência à desmineralização.

Mais recentemente, Silva (2010) realizou um estudo com o intuito de comparar a força de adesão de bráquetes de metal e resina ortodôntica à superfície de esmalte dental submetido a três condicionamentos diferentes, sendo um deles com ácido fosfórico a 37%, outro com irradiação *laser* de Er,Cr:YSGG e o último, com uma combinação dos anteriores. Foi observado que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos, concluindo que o *laser* de érbio, nas condições utilizadas, pode ser um substituto ao condicionamento com ácido. Zamataro *et al.* (2013) realizaram estudos *in vitro* e *in situ* com o objetivo de avaliar a combinação da irradiação do *laser* de Er,Cr:YSGG com dentifrício fluoretado em comparação com a direta aplicação do fluoreto sob a forma de gel acidulado. Observou-se que a irradiação do *laser* incrementa a formação de fluoreto de cálcio quando a superfície é irradiada após a aplicação do fluoreto, o que sugere uma redução da desmineralização e um efeito prolongado dessa redução. Pereira *et al.* (2018) avaliaram os efeitos que a irradiação com *laser* de Nd:YAG possui sobre a composição, a cristalinidade e a morfologia na dentina da raiz e verificou os efeitos do *laser* e da aplicação do fluor fosfato acidulado (APF-gel) na erosão da dentina. Através desse estudo, foi observado que o *laser* de Nd:YAG promoveu a redução do carbonato, a formação de fosfato tetracálcico, assim como a fusão e recristalização da superfície da dentina. Além disso, o *laser* diminuiu significativamente a área e a profundidade das lesões de erosão e abrasão, assim como alterou o coeficiente de atenuação óptico quando comparados com os outros grupos (sem tratamento e APF-gel).

Uma revisão sistemática da literatura realizada por Lima *et al.* (2021), mostrou que o *laser* de Er:YAG possui aplicação e relevância em diversas áreas da odontologia como em endodontia, em ortodontia, na odontologia preventiva, no manejo de pacientes

com necessidades especiais e na obtenção de melhores efeitos estéticos, ressaltando que muitos dos procedimentos não necessitam de anestesia. Ainda, os autores reportam que é uma técnica menos invasiva e que permite um melhor quadro recuperatório quando comparado com técnicas tradicionais.

3.4. Aplicação de *lasers* de neodímio (Nd:YAG) na Odontologia

Segundo Stern e Sognaes (1972), o *laser* de Nd:YAG (1064 nm) foi o primeiro *laser* que apresentou sucesso para prevenção de cáries. Tal *laser* se mostrou eficiente em aumentar a resistência ácida do esmalte e, em densidades de energia superiores a 30 J/cm², uma inibição de 90% de dissolução de cálcio foi relatada, indicando seu potencial de prevenir cáries. Kimura *et al.* (1997) investigaram os efeitos da irradiação com *laser* de Nd:YAG na suscetibilidade do esmalte e da dentina radicular a lesões incipientes de cárie. Todos os dentes, com exceção do grupo controle, foram irradiados e submetidos à desmineralização. Foi observado que a profundidade das lesões entre os dois grupos (irradiados e não-irradiados) não foi significativamente diferente, mas a análise morfológica mostrou que as superfícies das amostras apresentavam regiões parcialmente derretidas e, algumas vezes, como túbulos estreitados ou ocluídos.

Hossain *et al.* (2001) investigaram o efeito da irradiação com *laser* de Nd:YAG, sob diferentes potências, na desmineralização do esmalte e da dentina por espectrofotometria, com análise de íons cálcio dissolvidos em solução. A menor concentração de íons cálcio foi encontrada para o grupo que foi irradiado com a maior potência, e a maior concentração desses íons foi encontrada no grupo que não foi irradiado, sugerindo que o tratamento térmico com *laser* de Nd:YAG pode aumentar a resistência à formação artificial semelhante à cárie. Anos mais tarde, Zezell *et al.* (2009) realizaram um estudo clínico em crianças e adolescentes e avaliaram os efeitos do *laser* de Nd:YAG associado com aplicação tópica de fluoreto em gel acidulado. Após 1 ano de avaliação dos voluntários, o experimento mostrou uma redução de 39,2% na incidência de cáries incipientes no grupo irradiado, em comparação com o que não foi irradiado. Foi possível concluir, portanto, que a combinação do *laser* de Nd:YAG com a aplicação

de fluoreto foi mais efetiva no surgimento de lesões incipientes de cárie.

Ana *et al.* (2019) mostraram a ação das terapias de *laser* de alta intensidade (com *lasers* de Er,Cr:YSGG e Nd:YAG *Q-switched*) associada a biomateriais ou não, na prevenção e remineralização de lesões de cárie radicular e observaram que a irradiação do *laser*, após a aplicação do Biosilicato®, diminuiu significativamente os valores do coeficiente de atenuação óptico quando comparados com outros grupos experimentais, indicando que a associação dos dois tratamentos foi mais eficiente na remineralização das lesões do que os tratamentos isolados.

Revisões de literatura sobre o uso do *laser* Nd:YAG como escolha de tratamento da hipersensibilidade dentinária foram realizadas por Brito *et al.* (2019) e Oliveira *et al.* (2020), e os artigos revisados mostraram que tal *laser* apresentou resultados positivos na redução da hipersensibilidade dentinária, eliminando-a por um tempo prolongado, por meio da irradiação direta da dentina exposta. Foi constatado também que o *laser* de Nd:YAG se mostra ainda mais eficaz quando o tratamento é efetuado com outros dessensibilizantes (como o GLUMA® Desensitizer).

3.5. Fotoabsorvedores

Segundo Morioka *et al.* (1984), o *laser* de Nd:YAG no comprimento de onda de 1064 nm é pobremente absorvido pela água e pela hidroxiapatita contidas na dentina. Assim, a energia do *laser* incidente é altamente transmitida para o tecido da polpa do dente, onde estão as terminações nervosas dentais. Porém, tal *laser* é absorvido pela melanina e pela hemoglobina, que são substâncias escuras. A deposição desses pigmentos fotoabsorvedores sobre o esmalte dental aumenta consideravelmente a energia absorvida na superfície do esmalte durante a irradiação do *laser*. Por conta desse motivo, as irradiações dos tecidos duros dentários com *lasers* de Nd:YAG estão geralmente associadas a um fotoabsorvedor, que aumenta a absorção da energia promovida pelo feixe de *laser* na superfície do esmalte dental. Nesse caso, o calor produzido pelo *laser* é absorvido pelo fotoabsorvedor e transmitido para a camada

adjacente da superfície do esmalte, garantindo que um volume de tecido controlado receba o calor (energia) proveniente do *laser*, evitando riscos e danos à polpa do dente (BOARI *et al.*, 2009).

Scabar, Armonia e Saraceni (2005) analisaram morfológicamente, através de MEV, os efeitos do *laser* de Nd:YAG sobre o esmalte dental humano, utilizando dois tipos de fotoabsorvedores: verniz fluoretado e carvão vegetal. As amostras foram divididas em quatro grupos: um que não sofreu irradiação, um que foi irradiado com o *laser* de Nd:YAG sem fotoabsorvedor, outro que foi irradiado utilizando verniz fluoretado como fotoabsorvedor e o último que foi irradiado utilizando carvão vegetal como fotoabsorvedor. As micrografias evidenciaram a ocorrência de mudanças morfológicas no esmalte quando este é irradiado com *laser* de neodímio na presença do fotoabsorvedor, tais como áreas de fusão e ressolidificação. Tais mudanças foram aparentemente mais significativas e uniformes quando se utilizou o carvão vegetal como fotoabsorvedor.

Boari *et al.* (2009) realizaram um estudo com o objetivo de estabelecer um corante como um fotoabsorvente para o *laser* de Nd:YAG. Para isso, foram aplicados quatro corantes (tinta nanquim à prova d'água, óxido de ferro, indicador de cárie e pasta de carvão) antes da irradiação do *laser* e em todos eles, com exceção do indicador de cárie, observou-se derretimento da superfície do esmalte após a irradiação e uma morfologia semelhante na análise por MEV. Dentre os corantes testados, a pasta de carvão foi o único que pôde ser completamente removido, se mostrando como o fotoabsorvente mais vantajoso para irradiação do Nd:YAG.

Gomes *et al.* (2019) avaliaram o uso de um dentifrício escuro (Black is White, Curaprox®) como um novo composto fotoabsorvedor para o *laser* de Nd:YAG, no comprimento de onda de 1064 nm na prevenção da desmineralização do esmalte. Foi possível notar o derretimento na superfície dos grupos irradiados, destacando-se os grupos que empregaram o uso de fotoabsorvedores. Ainda, as concentrações de cálcio e fosfato diminuíram nos grupos irradiados com *laser*, fator que indica a formação de novas fases cristalinas, podendo-se concluir que o dentifrício escuro analisado pode ser

utilizado como fotoabsorvedor na irradiação do *laser* de Nd:YAG para prevenir a desmineralização do esmalte, uma vez que apresenta resultados semelhantes aos encontrados na literatura, com a vantagem de não causar a pigmentação da superfície irradiada. Finalmente, segundo Ana *et al.* (2019), o uso do fotoabsorvedor é necessário para garantir a segurança do tecido pulpar, sendo a pasta de carvão o fotoabsorvedor estudado que apresentou os melhores efeitos quando aplicado em combinação com diferentes tipos de *lasers*, diminuindo a presença de danos térmicos como microfissuras.

Desta forma, embora tenham sido reportadas diferentes opções de substâncias que podem atuar como fotoabsorvedores para o *laser* de Nd:YAG, ressalta-se a necessidade de empregar agentes que sejam facilmente removidos após as irradiações, que não apresentem toxicidade aos tecidos orais, assim como não causem danos estéticos, como manchas, aos dentes irradiados. Neste sentido, é ainda necessária a busca por agentes que preencham todos estes requisitos, principalmente se forem empregados com materiais bioativos, o que motivou a realização deste estudo.

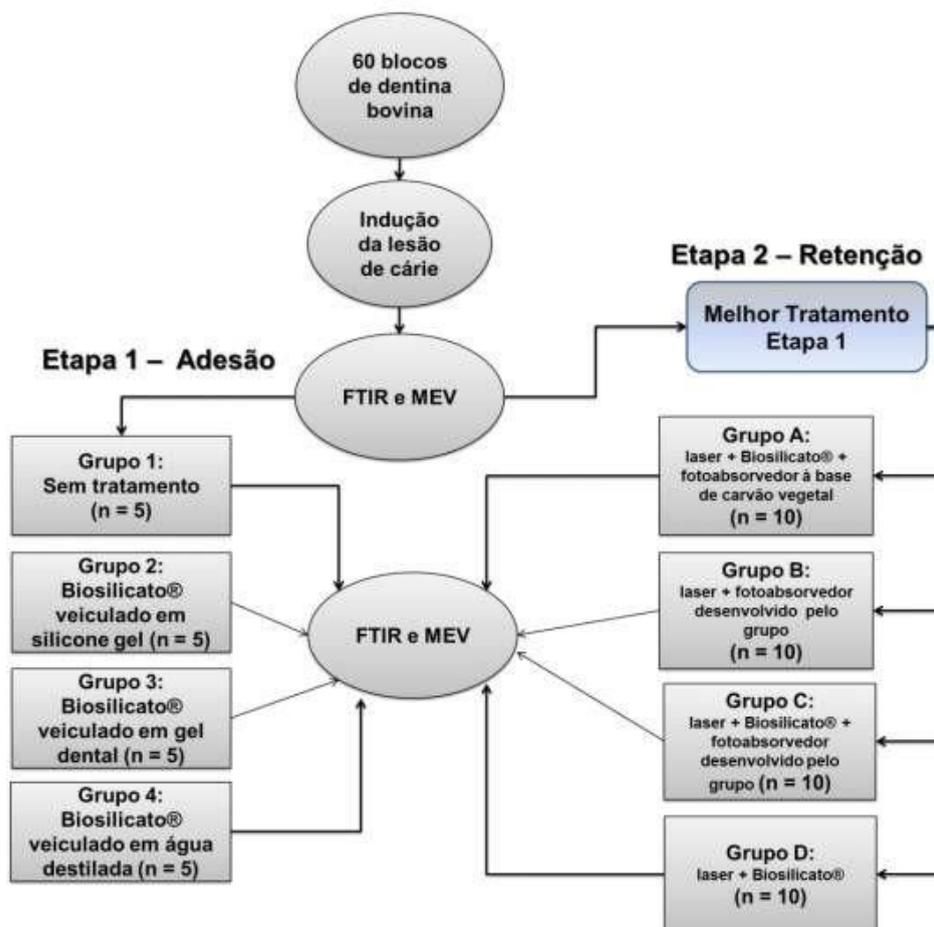
4. METODOLOGIA

4.1. Delineamento experimental

O presente estudo foi dividido em duas etapas experimentais. Para a primeira etapa, que visou determinar um veículo para o Biosilicato® que melhorasse sua retenção na dentina desmineralizada, foram preparados 20 blocos de dentina radicular bovina, os quais foram desmineralizados e tratados com Biosilicato® veiculado em silicone gel, gel dental, água destilada ou sem tratamento. Então, as amostras foram avaliadas composicionalmente, por espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e morfologicamente por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para a segunda etapa experimental, foram preparados 40 blocos de dentina desmineralizada, os quais foram tratados com: A - irradiação *laser* com fotoabsorvedor de carvão seguida da aplicação de Biosilicato® em água destilada; B - irradiação *laser* com fotoabsorvedor de tinta de sépia; C - irradiação *laser* com fotoabsorvedor de tinta de sépia seguida da aplicação de Biosilicato® em água destilada; D – irradiação *laser* sem fotoabsorvedor seguida da aplicação de Biosilicato® em água destilada. Após os tratamentos, as amostras foram avaliadas composicionalmente e morfologicamente conforme etapa anterior.

Para o desenvolvimento do presente projeto, foi seguido o fluxograma de atividades mostrado na página seguinte.

Figura 1: Fluxograma de atividades para o projeto proposto.



Fonte: Leonardo Messias

4.2. Preparação inicial das amostras de dentina

Para a primeira etapa do projeto, foram preparadas 20 amostras de dentina a partir de 10 dentes bovinos, os quais foram escolhidos para este estudo *in vitro* devido à sua facilidade de obtenção e suas similaridades bioquímicas com os dentes humanos (FIGUEREDO, 2019). O uso dos dentes bovinos foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do ABC (CEUA-UFABC), sob número 9614190917 (vide Anexo).

Os dentes foram fixados a uma placa acrílica por intermédio de uma cera pegajosa, e cortados, em baixa rotação, com auxílio de um micromotor de bancada (Beltec LB 2000,

Beltec, Araraquara, Brasil), de maneira a formar pequenas amostras em forma de paralelepípedo. Após realizado o primeiro corte, as amostras foram novamente marcadas, com o auxílio de um lápis, e outros cortes foram realizados, de forma a gerar 20 amostras, a partir dos 10 dentes originais, com 5,0 mm de largura e 5,0 mm de altura.

Posteriormente, as amostras cortadas foram fixadas em tampas de tubo Falcon, também com auxílio de cera pegajosa e lixadas manualmente com uma sequência de lixas de carbetto de silício com granulação de 600 a fim de atingir as dimensões finais de 5,0 x 5,0 x 2,0 mm. As amostras foram lixadas até que sua superfície estivesse espelhada e livre de riscos.

Para remover os resíduos de cera que permaneceram nas amostras após os processos citados, elas foram lavadas em água corrente com detergente aniônico e em seguida submetidas a um banho ultrassônico por três minutos. Ainda, nas amostras em que esses processos não foram suficientes para remover a cera, foi utilizado um aparelho de ultrassom de dentista, para garantir uma limpeza e higienização mais efetiva. É importante destacar que a partir deste procedimento, as amostras não tiveram mais contato direto com as mãos, para evitar o depósito inadequado de resíduos de gordura nelas.

O último processo para a preparação das amostras foi a esmaltação. Nesse processo, foram cortadas etiquetas de dimensões de 3,0 x 3,0 mm, que foram coladas nas amostras. Após isso, as amostras foram pintadas, utilizando esmalte vermelho comum, apenas na região fora da área ocupada pela etiqueta cortada. Esse processo é necessário visto que o futuro processo de desmineralização causa a perda de minerais de toda a amostra, se não controlado. Controlar a área em que a desmineralização age é uma forma efetiva de padronizar cálculos posteriores. É importante ressaltar que durante e após todo esse processo de preparação das amostras, que durou cerca de 2 semanas, todas as amostras foram armazenadas em ambiente úmido e refrigerado, segundo Hara *et al.* (2004) (algodão umedecido com 8 gotas de timol, concentração final de 0,64 g/L, mantidos na geladeira a 4°C).

4.3. Obtenção do Biosilicato®

O Biosilicato® foi fornecido pelo Laboratório de Materiais Vítreos da Universidade Federal de São Carlos (LaMaV-UFSCar), já triturado e em sua forma particulada, possuindo granulometria entre 0,1 e 30 micra, segundo a patente de número PI 0300644-1.

4.4. Análise composicional

Após o preparo inicial das amostras, antes de realizar o processo de desmineralização, foi feita a primeira caracterização composicional das amostras, pelo FTIR Spectrometer Frontier, da PerkinElmer, no modo de reflexão atenuada (ATR). Para a aquisição dos dados, foram feitas 60 varreduras de cada amostra com resolução de 4 cm^{-1} . A faixa dos espectros coletados variou entre 700 a 4000 cm^{-1} . O registro e a conversão dos espectros de absorção foram realizados mediante o programa Spectrum (ZEZELL *et al.*, 2015).

4.5. Indução da lesão de cárie

Para realizar o processo de indução de lesão de cárie nas amostras foi preparada uma solução desmineralizadora, segundo Queiroz (2004). Tal solução foi composta por:

- 0,1650 g de $\text{Ca}(\text{NO}_3)$ (Nitrato de Cálcio $4\text{H}_2\text{O}$ P.A.-A.C.S - Synth);
- 0,1220 g de Na_2HPO_4 (Fosfato de Sódio Bibásico heptahidratado P.A.-A.C.S. - Synth);
- 0,3 mL de solução padrão de fluoreto (Analyser);
- 25 mL de ácido acético glacial (P.A.-A.C.S. – Synth).

Esses reagentes foram pesados e misturados a 0,5 L de água destilada. Tal solução permaneceu em agitação constante por um agitador magnético. Uma vez bem

misturada, a solução foi levada ao pHmetro para realizar o acerto de $\text{pH} = 5,0$. Por último, foram adicionados 0,32 g de Timol (P.A. – Synth) à solução, que foi novamente agitada e misturada pelo agitador. Com a solução pronta, foram separados e numerados 20 potinhos, respectivos para cada amostra, e a cada um deles foram adicionados 18 mL da solução desmineralizadora ($2 \text{ mL}/\text{mm}^2$) junto com as respectivas amostras de dentina. Os potinhos foram guardados em uma estufa a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 32 h (QUEIROZ, 2004). Após esse período, as amostras foram lavadas com água destilada, secas com papel absorvente e voltaram ao ambiente úmido e refrigerado. Após esse processo de desmineralização das amostras, elas passaram pelo segundo processo de caracterização composicional, novamente por FTIR, do mesmo modo já citado no tópico 4.4.

4.6. Preparação da solução remineralizadora

Antes de dar início ao processo de tratamento das amostras lesionadas, foi necessário deixar preparada uma solução remineralizadora. Para tal solução foram necessários os seguintes reagentes, segundo Queiroz (2004):

- 0,7085 g de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Nitrato de Cálcio 4H₂O P.A.-A.C.S - Synth);
- 0,4825 g de Na_2HPO_4 (Fosfato de Sódio Bibásico heptahidratado P.A.-A.C.S. - Synth);
- 24,2283 g de Tris (Hidroximetil aminometano P.A.-A.C.S. – Synth).

O processo de obtenção desta solução foi semelhante ao da solução desmineralizadora, porém, para a saliva artificial foram necessários 1,5 L de água, 0,32 g de timol e o pH foi acertado para 7,0.

4.7. Etapa 1 – Veículos do Biosilicato®

As amostras desmineralizadas foram separadas aleatoriamente em 4 grupos, com 5 amostras em cada grupo, como segue na página seguinte.

- Grupo 1: amostras sem tratamento (grupo controle negativo);
- Grupo 2: amostras tratadas com Biosilicato® veiculado em silicone gel;
- Grupo 3: amostras tratadas com Biosilicato® veiculado em gel base para dentifrício;
- Grupo 4: amostras tratadas com Biosilicato® veiculado em água destilada.

Para essa etapa, inicialmente foram pesados 60 mg de Biosilicato®, que foram divididos em 3 recipientes contendo 20 mg cada. Para todos os grupos tratados, o Biosilicato® foi misturado com os respectivos meios e esfregado com o auxílio de um cotonete na superfície das respectivas amostras durante 30 s cada. Para tratar as amostras de cada grupo, foram utilizadas 200 mg de cada veículo (12 gotas de silicone gel, 3 gotas do gel base para dentifrício e 10 gotas de água destilada) para das 20 mg de Biosilicato®. Posteriormente, as amostras foram enxaguadas individualmente com água destilada por mais 30 s cada (FIGUEREDO, 2019).

Após realizar os tratamentos, todas as amostras foram submetidas ao processo de remineralização. Cada amostra foi submersa individualmente em 20 mL da solução remineralizadora e permaneceu em uma estufa a 37 °C durante o período de 24 h (QUEIROZ, 2004). Então, as amostras passaram pelo processo final de caracterização, novamente por FTIR, do mesmo modo já citado no tópico 4.4.

4.8. Análise da morfologia superficial

A análise na morfologia superficial foi efetuada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) em 1 amostra de cada grupo experimental, em diferentes períodos, a saber: imediatamente após o preparo inicial das amostras, após a desmineralização e

após os tratamentos seguidos de remineralização por 24 h.

Cada uma dessas amostras foi colada com uma dupla fita em um pequeno suporte (*stub*) e então elas foram submetidas ao recobrimento (espessura de 20 nm) com ouro no equipamento Sputtering (Leica EM ACE 200).

Após, o imageamento foi feito com o microscópio eletrônico de varredura (FEI Quanta 250), e imagens foram obtidas das amostras, de vários pontos, com magnificação variando de 500 a 8000x.

4.9. Etapa 2 – Interferência da irradiação do *laser* no Biosilicato®

Para esta etapa, foram preparados 40 blocos de dentina radicular bovina, conforme descrito no item 4.2., e então desmineralizadas, conforme descrito no item 4.5.

Em seguida, as amostras foram aleatoriamente distribuídas em 4 grupos experimentais, a saber:

- **Grupo A:** Biosilicato® + fotoabsorvedor (pó de carvão) + *laser*
- **Grupo B:** Fotoabsorvedor (tinta de sépia) + *laser*
- **Grupo C:** Biosilicato® + fotoabsorvedor (tinta de sépia) + *laser*
- **Grupo D:** Biosilicato® + *laser* (sem fotoabsorvedor).

As irradiações foram efetuadas com *laser* de Nd:YAG *Q-switched* (Quantel, EUA), de comprimento de onda de 1064 nm, largura temporal de pulso de 5 ns, energia por pulso de 280mJ, diâmetro do feixe de 5 mm. A energia por pulso foi monitorada antes da irradiação de cada amostra empregando-se medidor de potência e energia (Coherent, EUA). As amostras foram posicionadas individualmente na frente do feixe e foram mantidas estáticas, a uma distância padronizada de 5 cm, de forma que um único pulso atingisse toda a superfície da amostra de uma única vez. Em cada amostra, foram dados 3 pulsos após aplicação de fotoabsorvedor, conforme cada grupo experimental.

Para o tratamento das amostras dos grupos A, C e D, o Biosilicato® foi veiculado em água destilada, que foi considerada como o meio de melhor adesão para a vitrocerâmica no tecido dental, de acordo com a Etapa 1. Após os tratamentos, as amostras permaneceram na solução remineralizadora por um período de 24 h (TIRAPELLI *et al.* 2010). Ao final deste processo, as amostras foram lavadas delicadamente com água destilada durante 10 s, secas com papel absorvente e mantidas em ambiente fechado, úmido e sob refrigeração, até o momento das análises. Após o tratamento das amostras, elas passaram pelo processo final de caracterização, novamente por FTIR e MEV, do mesmo modo já citado nas etapas 4.4 e 4.8, respectivamente.

4.10. Análise dos dados

Para a análise dos dados de FTIR, foi desenvolvida pelo grupo uma rotina em ambiente MATLAB, na qual, após traçado do *baseline*, foi efetuada a integração das áreas sob as seguintes bandas de absorção, segundo Zezell *et al.* (2010): o modo de vibração correspondente ao estiramento assimétrico ν_3 do fosfato (1181-887 cm^{-1}), superposição das bandas correspondentes à amida I (C=O) e deformação assimétrica ν_2 da água adsorvida (1720-1593 cm^{-1}), superposição de carbonato e amida II (N-H, C-N, entre 1580-1510 cm^{-1}), amida III (1296-1181 cm^{-1}), o modo de vibração correspondente à deformação assimétrica ν_2 do carbonato (887-800 cm^{-1}) e a superposição dos modos de vibração correspondentes ao alongamento ν_3 e flexão ν_4 do carbonato (entre 1510-1300 cm^{-1}). Para a análise semiquantitativa, cada uma das bandas foi normalizada, após o traçado do *baseline*, a partir da área sob a banda do fosfato de maior intensidade (1181-887 cm^{-1}) que, nos estudos de Zezell *et al.* (2015) e Benetti *et al.* (2015), mostrou-se mais estável quando submetido a irradiações.

4.11. Análise estatística

Para a análise estatística da primeira etapa deste estudo, utilizou-se o teste de Shapiro-Wilk para avaliar a homogeneidade e normalidade das amostras. Para a comparação entre as

dentinas hígidas e após a indução de cárie química utilizou-se o teste não-paramétrico de Wilcoxon. Para a comparação entre os grupos de tratamento com o Biosilicato® em diferentes veículos, por sua vez, adotou-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Todos os testes consideraram um nível de significância de 5%.

Para a segunda etapa deste estudo, foi empregado o teste de D'Agostino & Person para avaliação de homogeneidade e normalidade dos dados. Para a comparação entre as dentinas hígidas e após a indução de cárie química, utilizou-se o teste t de Student ou o teste não paramétrico de Wilcoxon, dependendo se os dados apresentavam distribuição normal ou não. De modo similar, na comparação intergrupos "A", "B", "C" e "D" foram utilizados dois testes para grupos independentes: o de ANOVA de uma via com pós-teste de Tukey ou Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. E, por fim, para a comparação entre os dados de um mesmo grupo de tratamento foram empregados dois testes: o de ANOVA de uma via com pós-teste de Tukey ou de Friedman com pós-teste de Dunn. Todos os testes consideraram um nível de significância de 5%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Etapa 1 – Veículos do Biosilicato®

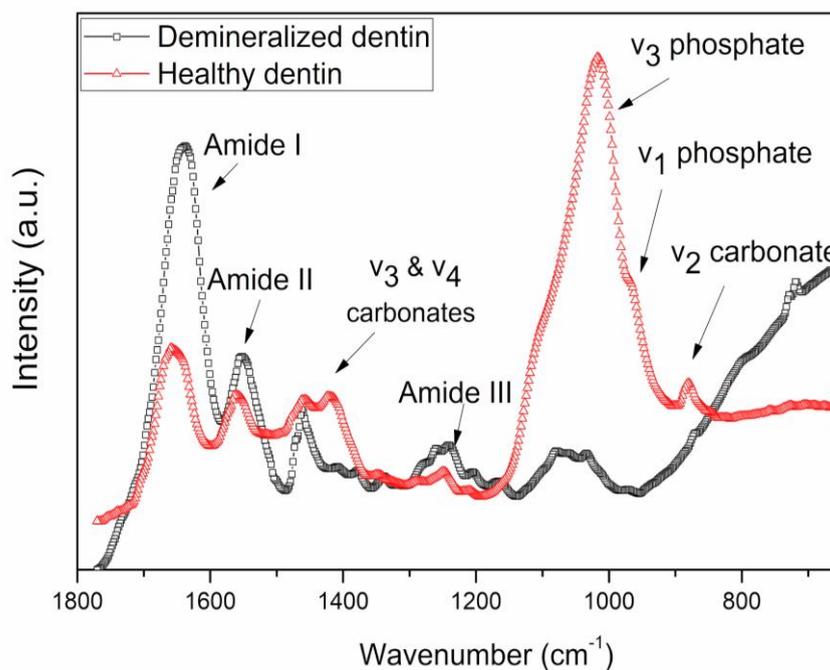
5.1.1. Análise composicional

A dentina é um tecido composto por uma matriz orgânica formada principalmente por colágeno tipo I (bandas de amida I, II e III) e por uma matriz inorgânica de hidroxiapatita carbonatada (bandas de fosfato e carbonato). Para uma dentina hígida, como a dentina das amostras antes de passar pelo processo de desmineralização, o esperado para a técnica de FTIR é um pico correspondente ao modo de vibração ν_3 do fosfato de grande intensidade e picos menos intensos correspondentes às amidas e aos carbonatos (LIMA, 2007). Isso ocorre porque a dentina possui cerca de 70% de material inorgânico (ou seja, hidroxiapatita carbonatada) e de aproximadamente 30% de conteúdo orgânico, composto por colágeno, enzimas e água (BALOGH; FEHRENBACH, 2012).

Já para a dentina desmineralizada, se espera o oposto: picos mais intensos correspondentes às amidas (principalmente a amida I) e água, assim como picos menos intensos para o carbonato e fosfato, como ilustra a Figura 2. Tais alterações são decorrentes do processo de desmineralização que é promovido pela cárie química (GANDOLFI *et al.*, 2018). Durante o processo, nota-se a saída de minerais do tecido, o que implica na perda da hidroxiapatita carbonatada e, portanto, no decréscimo da intensidade dos picos de fosfato e carbonato. Com a saída de minerais, tem-se a exposição do conteúdo orgânico e da trama de colágeno na dentina, e é por esta razão que se nota maior intensidade dos picos das amidas (ANA *et al.*, 2015).

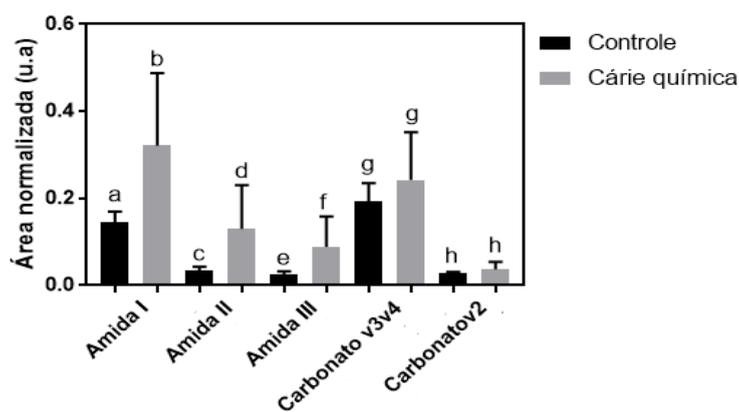
Os resultados da análise estatística das áreas sob as bandas de absorção após normalização pela banda de fosfato do presente estudo (Figura 3) corroboram estudos anteriores (ANA *et al.*, 2015; JURASKI *et al.*, 2021), ao demonstrar diferenças estatisticamente significantes nas bandas de amida I, amida II e amida III (todas com $p < 0,0001$) na comparação entre as amostras hígidas e após desmineralização.

Figura 2: Média dos espectros de ATR-FTIR, na região entre 1800 e 650 cm^{-1} , das amostras de dentina radicular hígida e após desmineralização pelo método químico, por 32 h, com a identificação das principais bandas de absorção.



Fonte: Juraski *et al.* (2021).

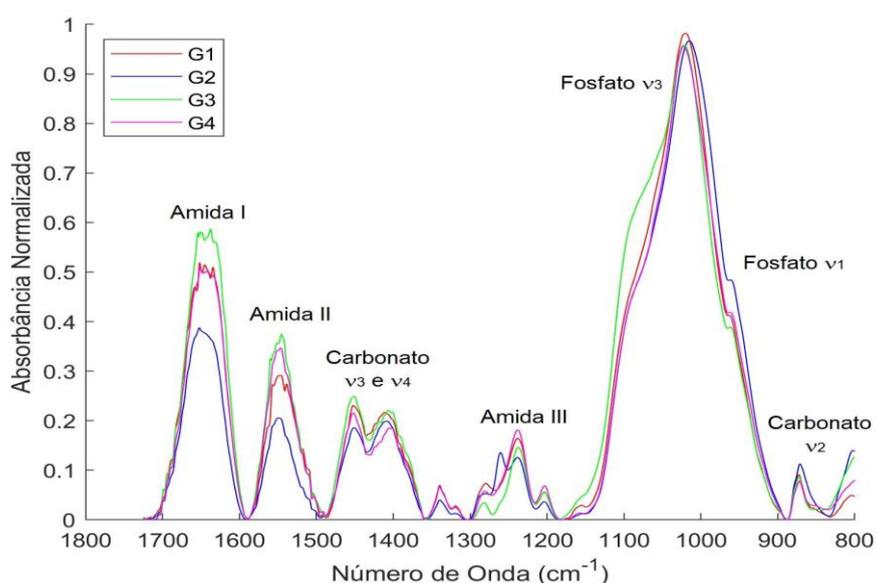
Figura 3: Valores médios, antes e após a indução da cárie química, das áreas normalizadas pela banda de fosfato. As barras de erro representam desvio padrão. Letras diferentes denotam diferenças estatisticamente significantes de acordo com o teste de Wilcoxon, com $\alpha = 0,05$.



Fonte: Leonardo Messias

A partir da Figura 4, é possível observar a manutenção das principais bandas de absorção que compõem a dentina após todos os tratamentos aplicados, ou seja, não houve degradação de nenhum componente da dentina. Nota-se, também, a formação de uma banda em 1270 cm^{-1} em G2, que possivelmente está relacionada ao silicone gel utilizado para a veiculação do Biosilicato®.

Figura 4: Média dos espectros de ATR-FTIR, normalizados pela intensidade da banda de fosfato e compreendidos na região entre 1800 e 700 cm^{-1} , das amostras de dentina radicular e após os tratamentos com Biosilicato® em diferentes veículos, com a identificação das principais bandas de absorção.



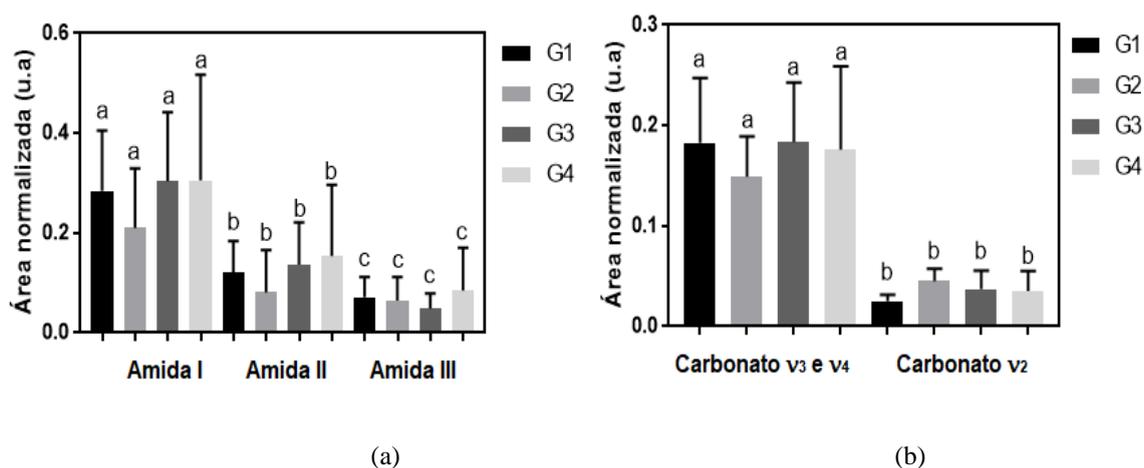
Fonte: Leonardo Messias

Apesar dos tratamentos de remineralização com Biosilicato®, observa-se que ainda há a exposição de material orgânico, tendo em conta a intensidade das bandas de amida I, II e III. Contudo, nota-se um aumento expressivo na proporção da banda correspondente ao modo de vibração v_3 do fosfato ($1181\text{-}887\text{ cm}^{-1}$) relativo às intensidades observadas das amidas, quando comparado com tal proporção observada na dentina desmineralizada (Figura 2). Ainda, nota-se aumento na intensidade do pico correspondente ao modo de vibração v_2 do carbonato ($887\text{-}800\text{ cm}^{-1}$) em comparação com o pico observado na dentina desmineralizada (Figura 2). Estes aspectos evidenciam o recobrimento da dentina com uma camada de biomaterial, provável hidroxiapatita carbonatada. Contudo, este recobrimento ainda é parcial, pois as intensidades das bandas das amidas ainda é compatível com o observado na dentina

desmineralizada. Pela observação da Figura 4, nota-se também um alargamento da banda correspondente ao modo de vibração ν_3 do fosfato no grupo G3 (Biosilicato® veiculado em gel base para dentifrício), o que sugere a conversão do biomaterial em hidroxiapatita carbonatada.

A similaridade entre os espectros médios obtidos para cada tratamento foi corroborada pela análise semiquantitativa, que demonstrou a inexistência de diferenças estatisticamente significativas entre as bandas após os tratamentos ($p > 0,05$, Figura 5). Este fato demonstra que todos os veículos utilizados permitiram o recobrimento da dentina desmineralizada de forma similar, não interferindo na bioatividade do material. Este fato é esperado pois todos os grupos experimentais foram armazenados em saliva artificial por 24 h, o que garante o início da bioatividade do Biosilicato® de acordo com a literatura (TIRAPELLI *et al.* 2010). Além disso, foram empregados veículos inertes e as amostras não foram submetidas a nenhum procedimento químico ou mecânico (por exemplo, agitação) que pudesse interferir na deposição do Biosilicato® sobre as amostras.

Figura 5: Valores médios, após os tratamentos com Biosilicato® em diferentes veículos, das áreas das bandas de: (a) amida e (b) carbonato normalizadas pelo fosfato. As barras de erro representam desvio padrão. Letras diferentes denotam diferenças estatisticamente significantes de acordo com o teste de Kruskal-Wallis, com $\alpha = 0,05$.

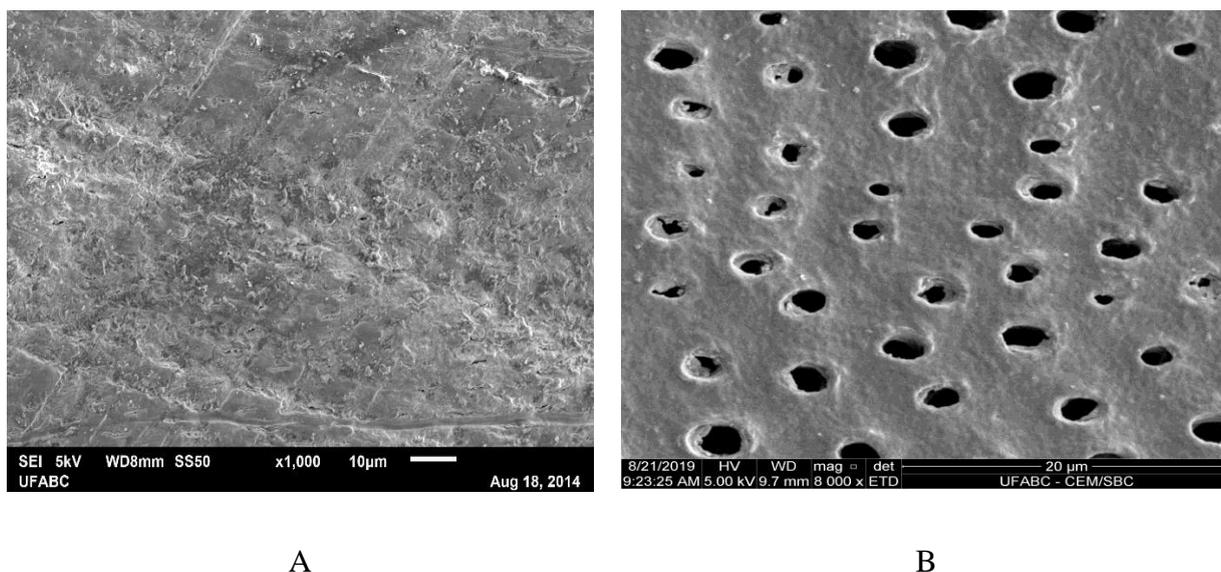


Fonte: Leonardo Messias

5.1.2. Análise da morfologia superficial

Na Figura 6, nota-se a morfologia da dentina radicular imediatamente após o preparo das amostras (A) e depois da desmineralização inicial (B). Em A, observa-se os túbulos dentinários totalmente obliterados por uma camada de esfregaço (*smear layer*), composta por restos de material de lixamento e polimento. Também se observam leves riscos, provenientes do lixamento superficial. Tal aspecto é similar ao encontrado na literatura (PEREIRA *et al.*, 2018). Em B, evidencia-se os túbulos parcialmente ou totalmente abertos, com total eliminação desta camada de esfregaço, e uma superfície mais homogênea entre os túbulos, cujo aspecto também é corroborado pela literatura (ANA *et al.*, 2015) e indica a remoção parcial de mineral, sem formação de cavidades na dentina, o que é compatível com uma lesão incipiente de cárie (QUEIROZ, 2004).

Figura 6: Eletromicrografias de uma amostra de dentina radicular antes (A) e depois (B) da desmineralização inicial. Magnificação original: 1000x e 8000x, respectivamente.



Fonte: Leonardo Messias

A Figura 7A contém uma imagem representativa de uma amostra do grupo G1 (sem tratamento). Observa-se que a amostra de dentina radicular apresenta morfologia com túbulos parcialmente expostos, conforme detalhado anteriormente. A Figura 7B mostra uma imagem representativa do grupo G2 (Biosilicato® veiculado em silicone gel), em que é possível notar a presença de poucos túbulos dentinários expostos e o recobrimento dentina por uma camada

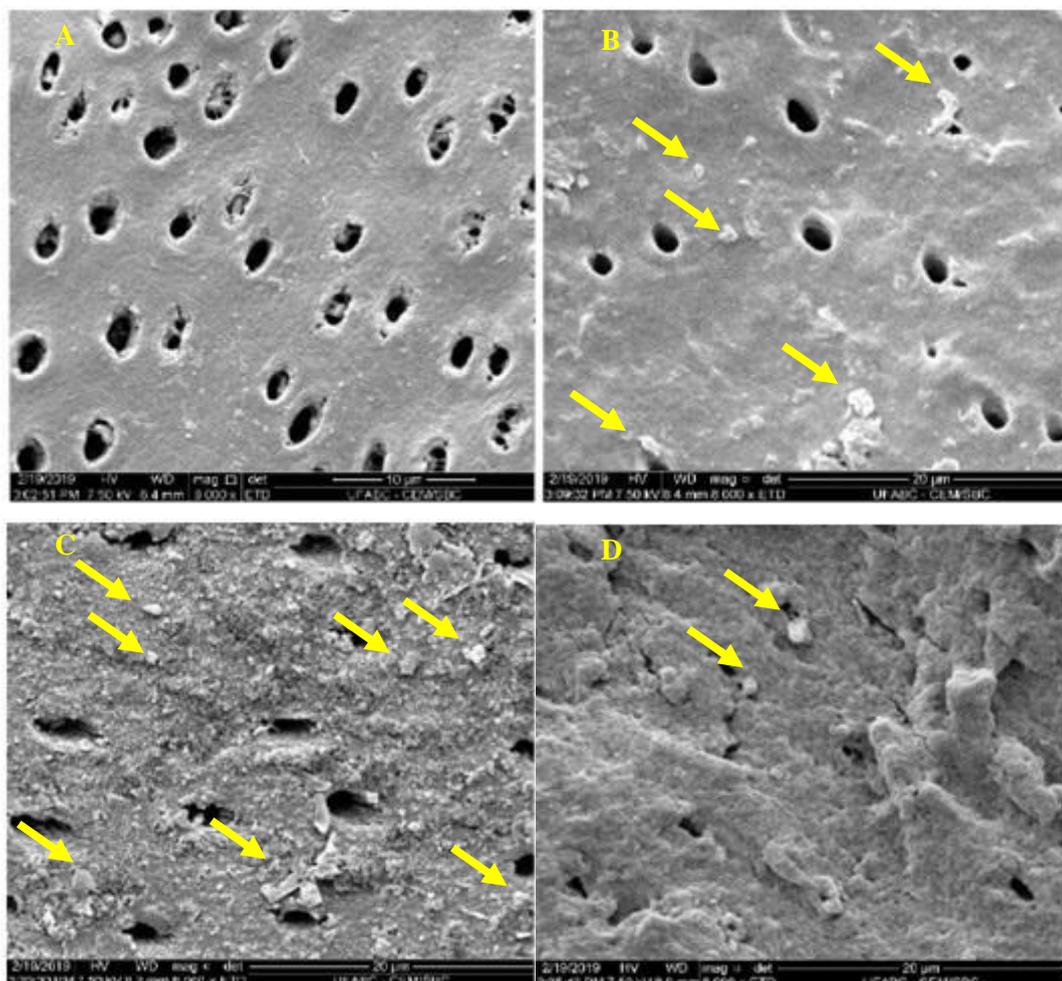
mais homogênea de material, com poucos grânulos dispersos sobre a superfície, correspondentes ao Biosilicato® ainda em sua forma particulada (setas). Estes aglomerados ou partículas correspondem ao Biosilicato® que não sofreu o processo de dissolução que culmina na formação da hidroxiapatita carbonatada (SIQUEIRA; ZANOTTO, 2011).

Na Figura 7C observa-se uma imagem representativa do grupo G3 (Biosilicato® veiculado em gel dental), na qual também nota-se a presença de poucos túbulos dentinários expostos e a presença de uma camada mais irregular e bastante particulada sobre a superfície da dentina. Da mesma forma que observado na imagem 7B, também é possível visualizar a presença de grânulos e aglomerados de partículas sobre a superfície (setas), o que novamente evidencia partículas de biomaterial que não foi dissolvido.

A Figura 7D contém uma imagem representativa de dentina tratada com Biosilicato® veiculado em água destilada (grupo G4), e nota-se túbulos dentinários parcialmente ou totalmente obliterados, e a formação de uma camada mais espessa e irregular, porém com aspecto mais homogêneo em sua totalidade. Ainda, percebe-se poucas partículas não dissolvidas sobre a superfície quando comparada com os demais grupos experimentais (setas). Este aspecto sugere uma maior formação de uma camada na superfície da dentina que pode ser hidroxiapatita carbonatada (TIRAPELLI *et al.* 2010). Dentre as amostras analisadas, esta foi a que apresentou o melhor aspecto morfológico e que favoreceu a bioatividade do Biosilicato® no período de tempo avaliado; por este motivo, a água destilada foi selecionada como o veículo mais adequado para o Biosilicato® e foi empregada na etapa 2 deste estudo.

Tanto os espectros de ATR-FTIR quanto às imagens obtidas por MEV demonstram que, após os tratamentos, as superfícies das dentinas apresentam heterogeneidades, com áreas com túbulos totalmente expostos e outras áreas com túbulos parcialmente obliterados. Por este motivo, sugeriu-se a associação da radiação *laser* para melhorar a adesão de Biosilicato® à dentina.

Figura 7: Eletromicrografias das amostras dos tratamentos G1 (a), G2 (b), G3 (c) e G4 (d). As setas indicam partículas ou aglomerados de Biosilicato®. Magnificação original: 8000x.



Fonte: Leonardo Messias

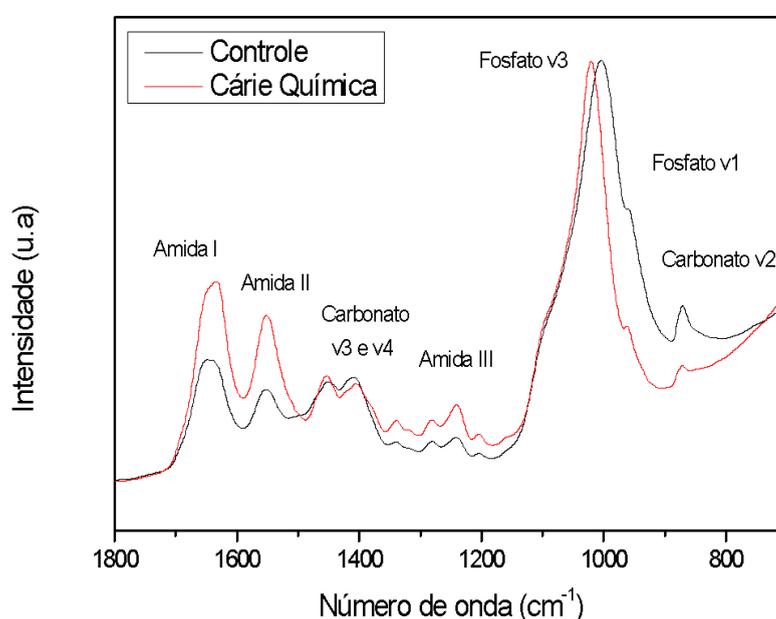
5.2. Etapa 2 – Interferência da irradiação do *laser* no Biosilicato®

5.2.1. Análise composicional

Considerando que, para a Etapa 2, foram preparadas novas amostras, foi efetuada também a análise da desmineralização nestas amostras como uma forma de corroborar os resultados anteriores. Pode-se observar pela Figura 8, que segundo os espectros obtidos por FTIR, o processo de início de desmineralização se repetiu, uma vez que ocorreu a diminuição do tamanho do pico do carbonato ν_2 . Mas, devido ao tempo usado para a desmineralização ser

limitado (32 h), essa diferença de picos não foi tão acentuada. A Figura 8 ainda mostra que há maior intensidade nas bandas relacionadas à matriz orgânica (amidas), bem como o deslocamento da banda de fosfato ν_3 para um número de onda maior, o que corrobora o processo de desmineralização parcial.

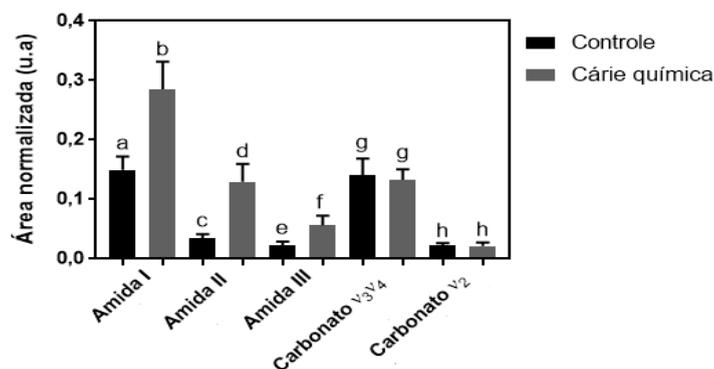
Figura 8: Média dos espectros de ATR-FTIR, na região entre 1800 e 700 cm^{-1} , das amostras de dentina radicular antes (controle) e após a indução de cárie química com a identificação das principais bandas de absorção.



Fonte: Leonardo Messias

Como se pode observar, houve diferença significativa entre as áreas normalizadas relativas de todas as amidas, sendo mais elevadas após a desmineralização (Figura 9). Isso é esperado e confirma que a desmineralização ocorreu, uma vez que esse processo resulta na remoção da parte mineral do tecido com exposição do conteúdo orgânico e água.

Figura 9: Valores médios, com os respectivos valores de desvio padrão, das áreas normalizadas pela banda de fosfato das principais bandas de absorção da dentina antes (controle) e depois da desmineralização (cárie química). Letras diferentes, acima de cada barra, denotam a existência de diferenças estatisticamente significantes segundo o teste t de Student (para as bandas de amida I, amida II, amida III e carbonato ν_3 e ν_4) ou pelo teste de Wilcoxon (para banda de carbonato ν_2), com $\alpha = 0,05$, entre as mesmas bandas de absorção antes e após desmineralização.



Fonte: Leonardo Messias

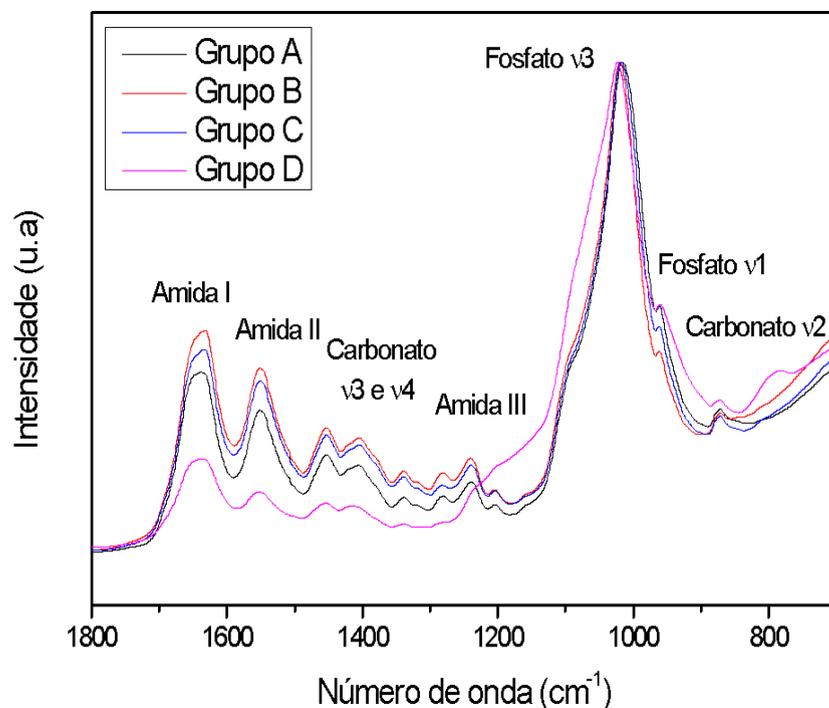
As diferenças entre as bandas de absorção de cada grupo experimental podem ser conferidas na Figura 10, onde destaca-se os picos das amidas menos intensos e o alargamento da banda correspondente ao estiramento assimétrico ν_3 do fosfato para as amostras do Grupo D (tratadas com Biosilicato® seguidas da irradiação *laser* sem fotoabsorvedor). Ainda, observa-se na Figura 10, que as intensidades dos picos das três amidas para o Grupo D apresentaram valores menores que para os demais grupos experimentais. Tais resultados podem ser corroborados pela Figura 11. Considerando que os espectros apresentados na Figura 10 estão normalizados pela intensidade da banda de ν_3 fosfato, pode-se inferir que um maior recobrimento da matriz orgânica exposta da dentina desmineralizada foi conferido no grupo D (Biosilicato® + *laser* sem fotoabsorvedor), ao passo que o menor recobrimento se deu no grupo B. Isso é esperado pois, no grupo B não há biomaterial e, portanto, tem-se toda a matriz orgânica exposta tal como a dentina após a desmineralização. No grupo D, em contrapartida, há uma grande quantidade de biomaterial retido sobre a superfície pois não houve aplicação de fotoabsorvedor previamente às irradiações, o que diminuiu o efeito térmico da irradiação *laser* na superfície e evitou a evaporação ou ablação do biomaterial. Tal fato será corroborado nas análises morfológicas, descritas adiante.

Também no grupo D nota-se o alargamento da banda de ν_3 fosfato, além de aumento na intensidade das bandas localizadas em 1200 cm^{-1} e 800 cm^{-1} , o que sugere uma maior conversão do Biosilicato® em hidroxiapatita carbonatada pela ação térmica da irradiação do *laser*. Este fato foi sugerido anteriormente por Pereira (2019), que reportou o aparecimento da fase de fosfato de sódio e cálcio após irradiação do Biosilicato® pelo *laser*; tal fase intensifica a formação de hidroxiapatita carbonatada pelo Biosilicato®. Contudo, apenas análises por difração de raios X rasantes poderão comprovar de fato a melhora da bioatividade do Biosilicato® induzida por *laser*.

Nos grupos experimentais A (Biosilicato® + pó de carvão + *laser*) e C (Biosilicato® + tinta de sépia + *laser*), nota-se similar recobrimento da dentina desmineralizada e nenhum indício de formação de hidroxiapatita carbonatada. As irradiações de ambos os grupos foram efetuadas com fotoabsorvedor e, mesmo que sejam fotoabsorvedores diferentes, ambos possuem água em sua composição. Embora, segundo Semak, Gerakis e Shneider (2019), o valor do coeficiente de absorção óptico da água para o comprimento de onda de 1064 nm (emitido pelo *laser* usado neste estudo) seja baixo ($0,14\text{ cm}^{-1}$), a alta potência pico atingida durante as irradiações pode ter aquecido e evaporado a água presente nestes fotoabsorvedores, o que diminuiu o efeito térmico sobre o Biosilicato® quando comparado com o grupo D, onde as irradiações foram efetuadas sem fotoabsorvedor. Tais resultados também corroboram o evidenciado por Pereira (2019), a qual demonstrou, por difração de raios X, que não houve formação de fase de fosfato de sódio e cálcio quando o Biosilicato® foi irradiado com *laser* com tinta de sépia como fotoabsorvedor.

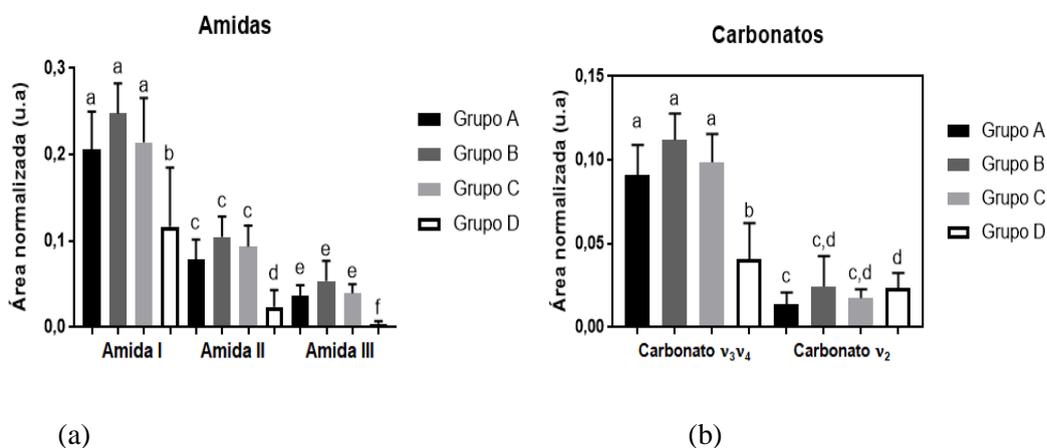
Contudo, também é possível notar, pela Figura 10, que o recobrimento efetuado pelos grupos A e C é maior que o notado para o grupo B (sem Biosilicato®), o que implica em dizer que restou um pouco do biomaterial sobre a dentina nestes 2 grupos, embora não tenha sido observada diferença significativa na análise das áreas sob as bandas de absorção (Figura 11). Esta ausência de diferença estatística pode ser explicada pela normalização espectral efetuada, a qual desconsidera as diferenças de intensidade relacionadas ao pico ν_3 fosfato. Sugere-se, em um estudo futuro, que a análise espectral seja efetuada por normalização vetorial.

Figura 10: Média dos espectros de ATR-FTIR, na região entre 1800 e 700 cm^{-1} , das amostras de dentina radicular após os diferentes tratamentos propostos, com a identificação das principais bandas de absorção.



Fonte: Leonardo Messias

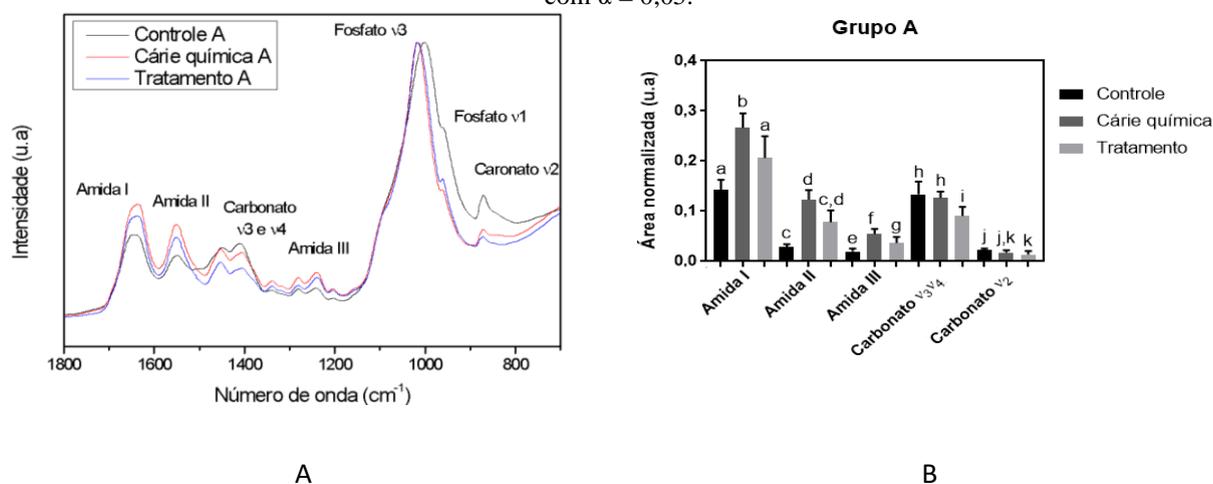
Figura 11: Valores médios e de desvio padrão das áreas normalizadas pela banda de fosfato das bandas: (a) de amida (I, II e III); e (b) carbonato (nos modos de vibração ν_2 , ν_3 e ν_4) da dentina após diferentes tratamentos. Letras diferentes, acima de cada barra, denotam a existência de diferenças estatisticamente significantes segundo o teste ANOVA de uma via com pós-teste de Tukey (para as bandas de amida I e II; carbonato ν_3 e ν_4), teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn (para a banda de amida III e carbonato ν_2), com $\alpha = 0,05$.



Fonte: Leonardo Messias

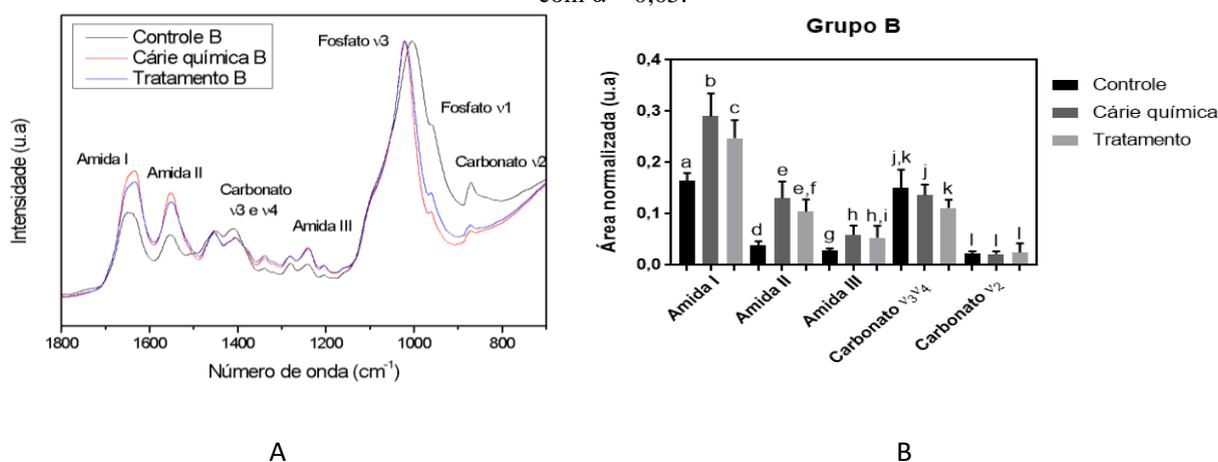
As Figuras 12, 13, 14 e 15 ilustram os espectros médios observados, e as respectivas análises estatísticas das áreas normalizadas sob as principais bandas de absorção, para os Grupos A, B, C e D, respectivamente, em todas as situações do projeto: antes da cárie química (desmineralização), após a cárie química e após os tratamentos.

Figura 12: A - Média dos espectros de ATR-FTIR, na região entre 1800 e 700 cm^{-1} , das amostras de dentina do Grupo A nas diferentes situações em que foram analisadas. B - Valores médios, com os respectivos valores de desvio padrão, das áreas normalizadas pela banda de fosfato das principais bandas de absorção das amostras do grupo A. Letras diferentes, acima de cada barra, denotam a existência de diferenças estatisticamente significantes, com $\alpha = 0,05$.



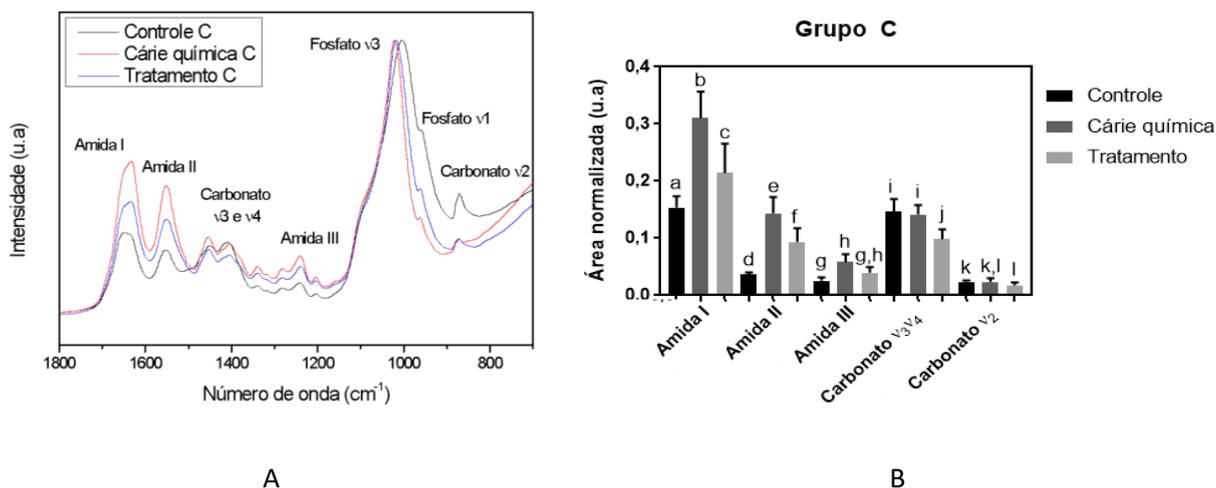
Fonte: Leonardo Messias

Figura 13: A - Média dos espectros de ATR-FTIR, na região entre 1800 e 700 cm^{-1} , das amostras de dentina do Grupo B nas diferentes situações em que foram analisadas. B - Valores médios, com os respectivos valores de desvio padrão, das áreas normalizadas pela banda de fosfato das principais bandas de absorção das amostras do grupo B. Letras diferentes, acima de cada barra, denotam a existência de diferenças estatisticamente significantes, com $\alpha = 0,05$.



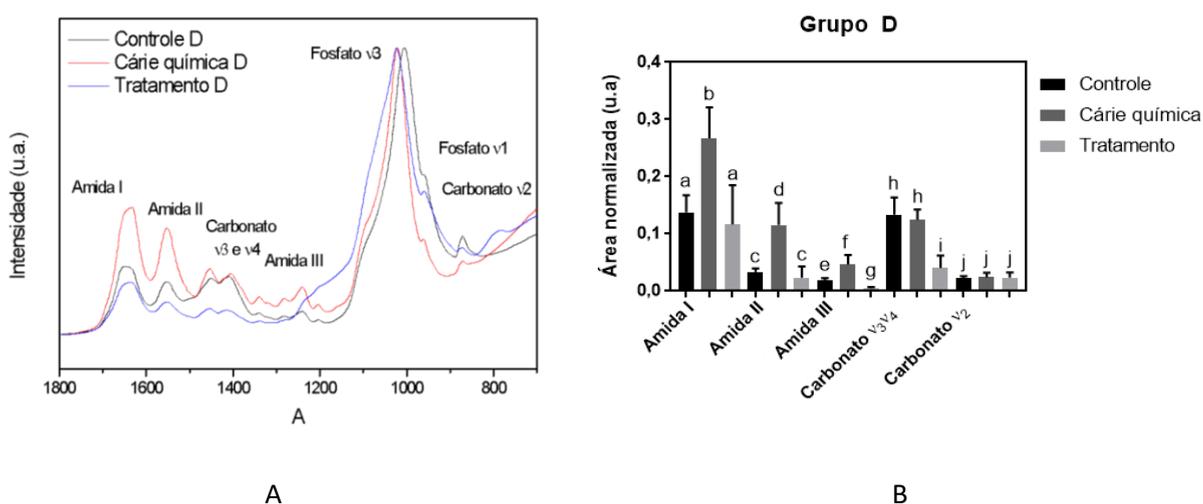
Fonte: Leonardo Messias

Figura 14: A - Média dos espectros de ATR-FTIR, na região entre 1800 e 700 cm^{-1} , das amostras de dentina do Grupo C nas diferentes situações em que foram analisadas. B - Valores médios, com os respectivos valores de desvio padrão, das áreas normalizadas pela banda de fosfato das principais bandas de absorção das amostras do grupo C. Letras diferentes, acima de cada barra, denotam a existência de diferenças estatisticamente significantes, com $\alpha = 0,05$.



Fonte: Leonardo Messias

Figura 15: A - Média dos espectros de ATR-FTIR, na região entre 1800 e 700 cm^{-1} , das amostras de dentina do Grupo D nas diferentes situações em que foram analisadas. B - Valores médios, com os respectivos valores de desvio padrão, das áreas normalizadas pela banda de fosfato das principais bandas de absorção das amostras do grupo D. Letras diferentes, acima de cada barra, denotam a existência de diferenças estatisticamente significantes, com $\alpha = 0,05$.



Fonte: Leonardo Messias

Comparando as Figuras 12, 13, 14 e 15, percebe-se que em todos os grupos ocorreu um maior recobrimento do tecido dental após os tratamentos, observada pela diferença significativa na comparação entre as intensidades relativas das bandas referentes ao conteúdo orgânico da dentina, principalmente da Amida I, nas amostras com cárie química e após os tratamentos. Ainda, comparando tais figuras, observa-se que o único grupo experimental que apresentou diferenças estatisticamente significativas para os picos das amidas I, II e III simultaneamente, em comparação entre os períodos antes e após os tratamentos, foi o Grupo D (tratado com Biosilicato® seguido da irradiação *laser* sem aplicação de fotoabsorvedor), o que sugere que o recobrimento da dentina pode ter sido mais efetivo neste grupo experimental, o que pode se refletir em uma maior remineralização do tecido.

Embora não tenha havido aplicação de Biosilicato® no grupo B, observa-se também uma diminuição na intensidade relativa das amidas no tratamento com *laser* após aplicação de tinta de sépia como fotoabsorvedor. Este fato se deve à ação térmica exercida pela irradiação e corrobora a literatura, que relata que temperaturas acima de 100 °C resultam em evaporação de água e carbonato, e também degradação da matriz orgânica (FOWLER; KURODA, 1986). No presente estudo, nota-se que tais alterações composicionais são superficiais, dada a baixa densidade de energia empregada quando comparada com estudos anteriores (ANTUNES; DE ROSSI; ZECELL, 2006).

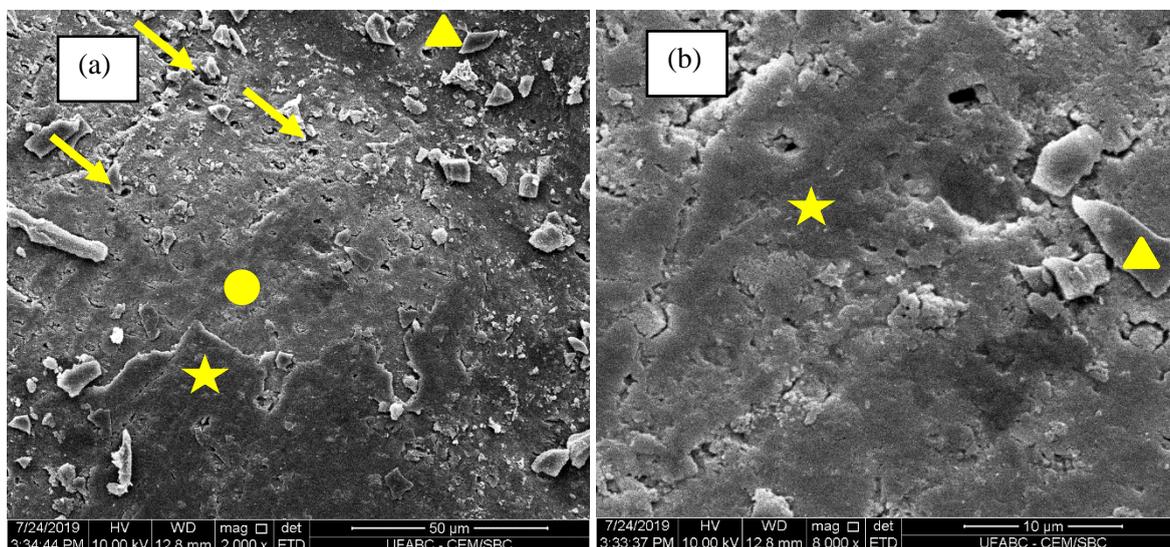
Desta forma, ao confrontar-se estes achados com os mostrados na Figura 11, ressalta-se novamente que apenas o grupo D foi o que apresentou um maior recobrimento da dentina desmineralizada. Vale a pena ressaltar que, para se ter evidências específicas da conversão do Biosilicato® em hidroxiapatita carbonatada, idealmente deve ser analisada a região espectral entre 450 cm^{-1} a 900 cm^{-1} , a qual contém as bandas específicas de conversão, e consequente bioatividade, do biomaterial: em 475 cm^{-1} , correspondente ao siloxano (Si-O-Si, biomaterial não convertido), em 562 cm^{-1} (correspondendo ao modo de flexão ν_4 do fosfato, banda 1 do tripleto), 600 cm^{-1} (correspondendo ao modo de flexão ν_4 do fosfato, banda 2 do tripleto), 807 cm^{-1} e 868 cm^{-1} (correspondendo ao alongamento ν_2 do carbonato, que é indicativo da substituição dos tipos A e B na apatita carbonatada e/ou sobreposição da banda referente ao alongamento do Si-O-Si do biomaterial) e 958 cm^{-1} (correspondendo ao modo de alongamento simétrico não degenerado de ν_1 de fosfato). A análise de carbonato mostrada aqui é apenas

parcial, considerando que se trata de uma análise de proporção em relação ao pico mais intenso de fosfato. Mais uma vez, reforça-se a necessidade de análise vetorial adicional, assim como análise na região complementar do espectro de FTIR.

5.2.2. Análise da morfologia superficial

Na Figura 16, referente ao tratamento do Grupo A (Biosilicato® + carvão + *laser*), é observada superfície não homogênea com presença de Biosilicato® particulado ou parcialmente derretido. Tais partículas também podem ser oriundas do pó de carvão, e uma análise de EDS (Energy dispersive X-ray spectroscopy) pode ser útil em tal identificação no futuro. Nota-se também a presença de regiões com túbulos dentinários parcialmente abertos (setas) decorrente da ausência do Biosilicato®, assim como regiões com formação de camada espessa de biomaterial (estrelas) que recobre todos os túbulos, presença de cristais maiores (triângulos), e superfície nítida de derretimento do material com aspecto de lava (círculo). Estes aspectos sugerem que o efeito térmico da irradiação *laser* promoveu a ejeção de parte do biomaterial, que expôs os túbulos dentinários, além de derretê-lo nos outros locais de maior aquecimento. Este grande aquecimento, como dito anteriormente, pode ter sido potencializado pela aplicação da pasta de pó de carvão, a qual restringiu os fótons sobre a superfície, ejetando a pasta e conseqüentemente parte do biomaterial.

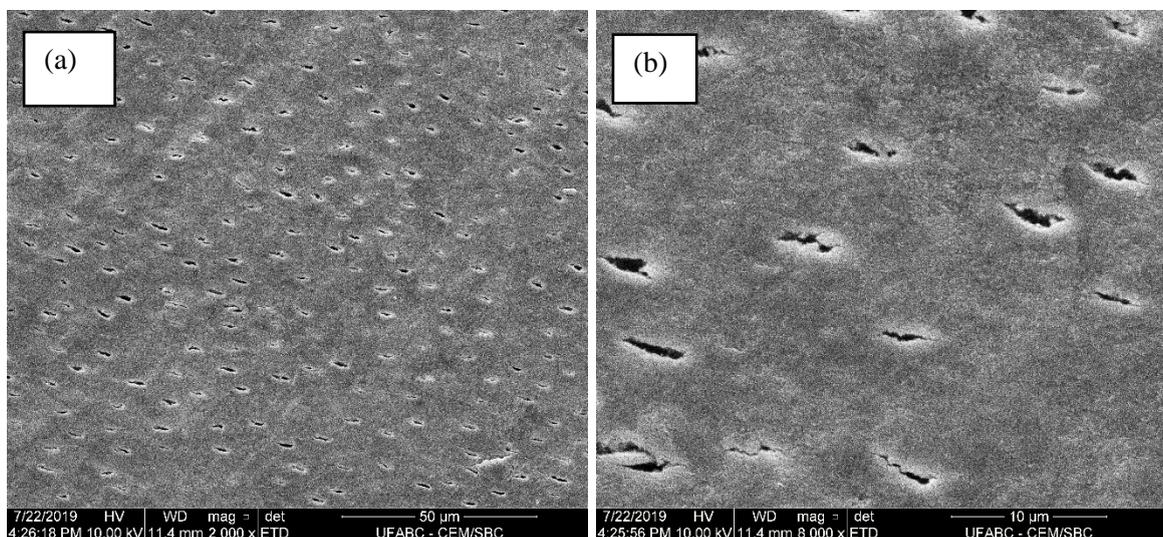
Figura 16: Eletromicrografias representativas das amostras do Grupo A - Biosilicato® + Fotoabsorvedor (carvão) + *laser*. Magnificação original: (a) 2000x, (b) 8000x. Setas = túbulos dentinários expostos; estrelas = biomaterial em maior espessura; círculo = aspecto sugestivo de derretimento do material; triângulos = partículas de biomaterial.



Fonte: Leonardo Messias

Na Figura 17, referente ao tratamento do Grupo B (tinta de sépia + *laser*), observa-se uma superfície com túbulos quase totalmente obliterados, provavelmente decorrente de fusão da superfície da dentina, porém sem aspecto de glaze. Além disso, é nítida a presença de cristalitos, oriundos provavelmente da reorganização da hidroxiapatita carbonatada da dentina decorrente da ação térmica das irradiações. Além da evaporação de água e carbonato e desnaturação do conteúdo orgânico dos tecidos duros, elevações de temperatura próximas de 1000 °C podem ocasionar a formação de novas fases cristalinas, além de aumentar o tamanho dos cristais de hidroxiapatita (PEREIRA *et al.*, 2018). Considerando o aspecto morfológico observado neste estudo, sugere-se que tais temperaturas podem ter sido atingidas e, portanto, estes cristalitos podem ser oriundos de tais transformações cristalográficas. Uma análise de difração de raios X rasantes pode confirmar tais alterações no futuro.

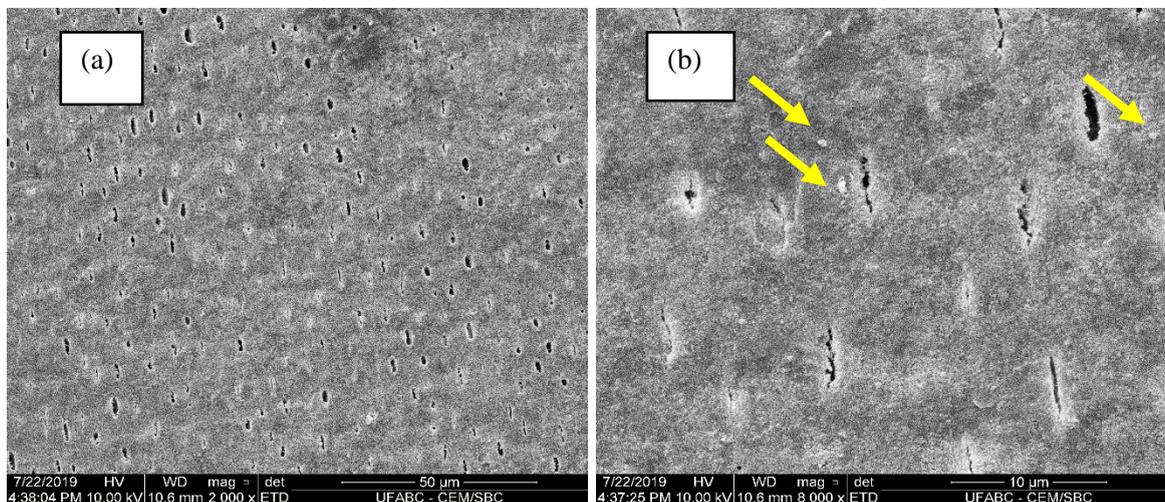
Figura 17: Eletromicrografias das amostras do tratamento do Grupo B – Fotoabsorvedor (tinta de sépia) + *laser*. Nota-se a presença evidente dos túbulos dentinários ainda expostos. Magnificação original: (a) 2000x, (b) 8000x.



Fonte: Leonardo Messias

Na Figura 18, referente ao tratamento do Grupo C (Biosilicato® + tinta de sépia + *laser*), observa-se a formação de uma superfície mais regular, com aspecto sugestivo de maior aquecimento do biomaterial, além de áreas de túbulos dentinários parcialmente ou totalmente obliterados e presença de alguns cristaltos (setas). Estes achados sugerem que o fotoabsorvedor tinta de sépia promoveu uma distribuição de calor, decorrente das irradiações, de forma mais uniforme que a pasta de carvão, justamente por ser composta de um material fluido e homogêneo. Embora tenha promovido esta uniformidade, nota-se que parte do biomaterial também foi ejetada, culminando na retenção de uma camada aparentemente mais fina e com exposição de parte dos túbulos dentinários. Isso refletiu em uma alteração composicional similar às observadas nos grupos A e B. Provavelmente, um maior tempo de exposição à saliva artificial seria necessário para que fosse evidenciada uma ação mais efetiva do biomaterial.

Figura 18: Eletromicrografias das amostras do tratamento do Grupo C - Biosilicato® + Fotoabsorvedor (tinta de sépia) + *laser*. Magnificação original: (a) 2000x, (b) 8000x. As setas indicam a presença da cristalitas sobre a superfície.

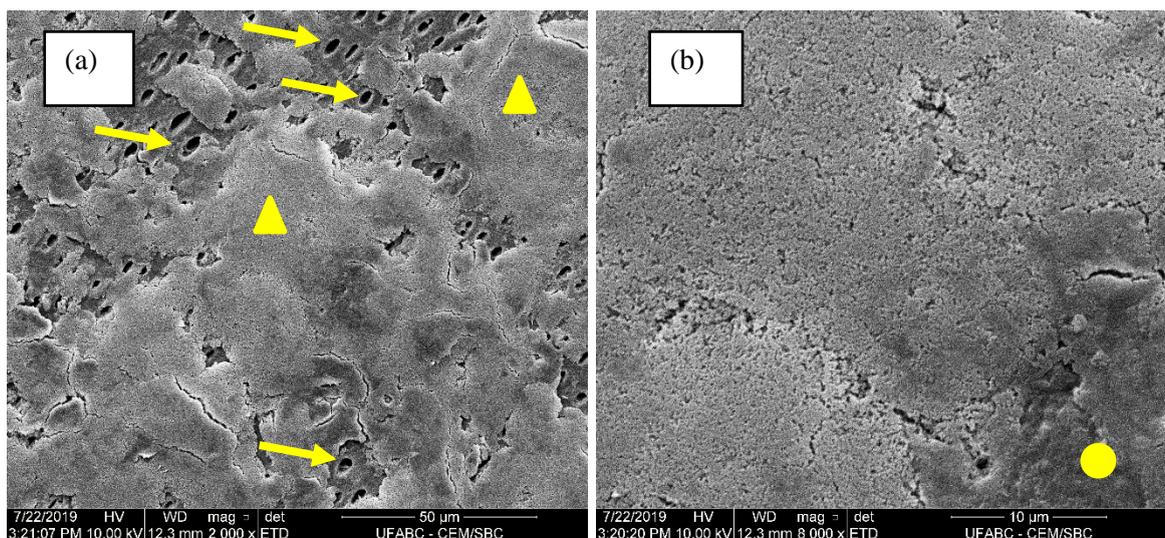


Fonte: Leonardo Messias

Na Figura 19, referente ao tratamento do Grupo D (Biosilicato® + *laser* sem fotoabsorvedor), é notado um aspecto irregular, com regiões de amolecimento do Biosilicato® (círculo), que parece ser de menor quantidade que o observado no Grupo A. Ainda, nota-se a obliteração de túbulos em algumas regiões (triângulos), enquanto em outras nota-se a exposição total dos túbulos abertos (setas). Nota-se também a formação de aglomerados espessos, porém há áreas de destacamento do material fundido e exposição dos túbulos totalmente abertos. Estes achados condizem com os resultados evidenciados na análise de FTIR quando foi observada uma significativa redução nas intensidades relativas dos picos correspondentes ao conteúdo orgânico da dentina, ou seja, das amidas e da água adsorvida. Deste modo, pode-se inferir que os resultados de FTIR corroboram que houve um maior recobrimento da dentina pelo biomaterial, o qual se tornou mais adsorvido ao tecido pela ação térmica do *laser*, mas não necessariamente isso se reflete em maior atividade de remineralização. Ainda, evidencia-se novamente que a ausência de fotoabsorvedor permitiu a maior geração de calor no Biosilicato® em si, que foi mais modificado pela ação térmica do *laser* quando comparado com os demais grupos experimentais. Conforme dito anteriormente, para avaliar a remineralização, outras análises adicionais se fazem necessárias, tais como avaliar a conversão de Biosilicato® em hidroxiapatita carbonatada por meio das análises dos

picos que se encontram entre 450 cm^{-1} a 900 cm^{-1} , assim como avaliar a remineralização por meio de testes do substrato, tais como micro dureza seccional, microscopia de polarização ou micro tomografia. Estas são as sugestões para ensaios futuros.

Figura 19: Eletromicrografias das amostras do tratamento do Grupo D - Biosilicato® + *laser*. Os Triângulos = regiões de obliteração total dos túbulos; Setas = regiões de exposição total dos túbulos; Círculo = região de amolecimento do Biosilicato®. Magnificação original: (a) 2000x, (b) 8000x



Fonte: Leonardo Messias

6. CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia empregada e os resultados obtidos neste estudo, foi possível concluir que:

1 – Dos veículos avaliados, a água destilada promoveu a formação de uma superfície menos heterogênea e com obliteração parcial de túbulos dentinários, o que favorece a retenção do Biosilicato®; portanto, é considerada o melhor veículo para a aplicação deste biomaterial;

2 - Todos os tratamentos obtiveram êxito em diminuir a exposição do conteúdo orgânico do tecido dental, identificada aqui por meio de um recobrimento da dentina desmineralizada. O grupo tratado com Biosilicato® + *laser* sem a aplicação prévia de fotoabsorvedor foi o mais eficiente neste processo;

3 – Na associação da irradiação com *laser* de Nd:YAG *Q-switched* com o Biosilicato®, a melhor alternativa é efetuar as irradiações sem fotoabsorvedor. Contudo, na comparação entre a tinta de sépia e a pasta de pó de carvão, a tinta de sépia promoveu a formação de uma superfície mais regular, com efeitos composicionais similares à pasta de pó de carvão, que é o padrão ouro da literatura. Portanto, a tinta de sépia pode ser considerada como um substituto promissor para esta finalidade.

Finalmente, o presente estudo foi publicado na revista Brazilian Journal of Health Review, no ano de 2020. O link para a leitura do artigo está apresentado nos Anexos do presente trabalho.

7. REFERÊNCIAS

ACEVEDO, L. F. A. **Avaliação das propriedades biológicas e físicas de biovidros experimentais para o tratamento da hipersensibilidade dentinária cervical: estudo in vitro e in vivo.** 2020. Tese (Doutorado em Odontologia) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2020.

ANA, P. A. *et al.* Lasers Effects on Enamel for Caries Prevention. **Laser Phys**, São Paulo. v. 16, p. 865-875, 2005.

ANA, P. A. **Estudo in vitro da resistência à desmineralização e da retenção de flúor em esmalte dental irradiado com laser de Er, Cr:YSGG.** 2007. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear - Materiais) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

ANA, P.A. *et al.* Characterization of caries progression on dentin irradiation with Nd:YAG laser by FTIR spectroscopy and fluorescence imaging. **SPIE Biophotonics South America**, Rio de Janeiro. Proceedings of SPIE, 2015. v. 9531. p. 95312Z-1-95312Z-10, 2015.

ANA, P. A. *et al.* Advances in the prevention and monitoring of root dentin demineralization using lasers, **2019 SBFoton International Optics and Photonics Conference (SBFoton IOPC)**, São Paulo, p. 1-6, 2019.

ANTUNES, A., DE ROSSI, W., ZECELL, D. M. Spectroscopic alterations on enamel and dentin after nanosecond Nd:YAG laser irradiation. **Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy**, v. 64, n. 5, p. 1142–1146, 2006.

AZENHA, M. R. *et al.* Alveolar Bone Repair in Ovariectomized Rats with Crystallized Biosilicate. Histomorphometric Analysis. **Int. J. Odontostomat**, Temuco, v. 13, n. 2, p. 162-171, 2019.

BAKRY, A. S. *et al.* CO2 Laser Improves 45S5 Bioglass Interaction with Dentin. **Journal of Dental Research**, v. 90, n. 2, p. 246–250, 2011.

BALOGH, M. B.; FEHRENBACH, M. J. A. **Anatomia, Histologia e Embriologia dos Dentes e das Estruturas Ofaciais.** Rio de Janeiro. 3ª ed: Elsevier, 2012.

BENETTI, C. *et al.* Mid-Infrared Spectroscopy Analysis of the Effects of Erbium, Chromium: Yttrium-Scandium-Gallium-Garnet (Er, Cr:YSGG) Laser Irradiation on Bone Mineral and Organic Components. **Applied Spectroscopy**, v. 69, n. 12, p. 1496-1504, 2015.

BRANDÃO, S. M. *et al.* Análise da biocompatibilidade de cones de biovidro e biovitrocerâmico (Biosilicato®) em cavidade eviscerada de coelho. **Rev. bras.oftalmol**, Rio de Janeiro, v. 72, n. 1, p. 21-25, 2013.

BRITO, A. M. M. **Efeitos químicos-estruturais promovidos pelo laser de Nd:YAG, associado ou não ao fluoreto, quando empregado para prevenção da progressão de lesões de cárie radicular.** Dissertação (Mestrado em Biotecnociência) - Universidade Federal do ABC, Santo André, 2014.

BRITO, R. S. *et al.* USO DO LASER ND:YAG PARA TRATAMENTO DE HIPERSENSIBILIDADE DENTÁRIA. **Jornada Odontológica dos Acadêmicos da Católica**, Quixadá, v. 5, 2019.

BOARI, H.G.D.; ANA, P.A.; EDUARDO, C.P.; POWELL, G.L.; ZECELL, D.M. Absorption and thermal study of dental enamel when irradiated with Nd:YAG laser with the aim of caries prevention. **Laser Physics**, v. 19, n. 7, p. 1463-1469, 2009.

BUALAF, M. A. R. *et al.* Mechanisms of Action of Fluoride for Caries Control. **Monographs in Oral Science**, v. 22, p. 97–114, 2011. doi:10.1159/000325151.

CHU, C. H. *et al.* Promoting Caries Arrest in Children with Silver Diamine Fluoride: A Review. **Oral Health Prev Dent**, v. 6, p. 315-321, 2008.

FARIA, G. J. M.; VILLELA, L. C. ETIOLOGIA E TRATAMENTO DA HIPERSENSIBILIDADE DENTINÁRIA EM DENTES COM LESÕES CERVICAIS NÃO CARIOSAS. **Rev. biociênc.**, Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté, Taubaté, v. 6, n. 1, p. 21-27, 2020.

FARMAKIS, E. T. R. *et al.* The influence of different power settings of Nd:YAG laser irradiation, bioglass and combination to the occlusion of dentinal tubules. **Photomedicine and laser surgery**, Athens, v. 31, n. 2, p. 54-58, 2013.

FEATHERSTONE, J. D. B. *et al.* A mechanism for dental caries based on chemical processes and diffusion phenomena during in-vitro caries simulation on human tooth enamel. **Archives of Oral Biology**, v. 24, n. 2, 1979, p. 101-112, 1979.

FERMINO, B. P. D. **Efeito do scaffold de biosilicato®/espongina no reparo de defeitos em tíbias de ratos.** 2019. Dissertação (Mestrado em Bioprodutos e Bioprocessos) - Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2019.

FIGUEREDO, D. C. **EFEITOS DA ASSOCIAÇÃO DO BIOSILICATO® E LASER EM ALTA INTENSIDADE NA PARALISAÇÃO DA CÁRIE DE RADIAÇÃO.** 2019. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Universidade Federal do ABC, São Paulo, 2019.

FILHO, O. P. *et al.* Effect of crystallization on apatite-layer formation of bioactive glass 45S5. **J. Biomed. Mater. Res.**, v. 30, p. 509-514, 1996.

FOWLER, B. O., KURODA, S. Changes in heated and in laser-irradiated human tooth enamel and their probable effects on solubility. **Calcified tissue international**, v. 38, n. 4, p. 197–208, 1986.

FRENCKEN, J. E. *et al.* Atraumatic Restorative Treatment (ART): Rationale, Technique, and Development. **Journal of Public Health Dentistry**, v. 56, n. 3, p. 135-163, 1996.

GANDOLFI, M. G. *et al.* Demineralization, Collagen Modification and Remineralization Degree of Human Dentin after EDTA and Citric Acid Treatments. **Materials**, Basel, v. 12, p. 25, 2018.

GILLAM, D. G. *et al.* The effects of a novel Bioglass® dentifrice on dentine sensitivity: a scanning electron microscopy investigation. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 29, p. 305-313, 2002.

GOMES, G. V. *et al.* Avaliação de fotoabsorvedores na irradiação com laser de Nd:YAG na prevenção de erosão dental. **Brazilian Oral Research**, 2019.

GUPTA, N. *et al.* Radiation-induced dental caries, prevention and treatment - A systematic review. **National journal of maxillofacial surgery**, v. 6, n. 2, p. 160-166, 2015.

HARA, A. T. *et al.* Influence of the mineral content and morphological pattern of artificial root caries lesion on composite resin bond strength. **European Journal of Oral Sciences**, v. 112, n. 1, p. 67-72, 2004.

HARAZAKI, M. *et al.* The Nd-YAG Laser is Useful in Prevention of Dental Caries During Orthodontic Treatment. **The Bulletin of Tokyo Dental College**, v. 42, p. 79-86, 2001.

HORST, J. A. *et al.* UCSF Protocol for Caries Arrest Using Silver Diamine Fluoride: Rationale, Indications, and Consent. **J Calif Dent Assoc**, v. 44, p. 16-28, 2016.

HOSSAIN, M. *et al.* Effect of Pulsed Nd:YAG Laser Irradiation on Acid Demineralization of Enamel and Dentin. **Journal of clinical laser medicine & surgery**. v. 19, p. 105-108, 2001.

JABUR, R. O. **Avaliação clínica, histológica e histomorfométrica do reparo de defeitos ósseos criados em mandíbula de cães preenchidos com Biovidro 45S5 ou Biosilicato® após a colocação de implantes osseointegráveis.** 2008. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

JONES, J. R. Review of bioactive glass: From Hench to hybrids. **Acta Biomater**, Londres, v. 9. n. 1, p. 4457-4486, 2015.

JURASKI, A. de C. *et al.* Effect of a whitlockite glass-ceramic on the occlusion of dentinal tubules for dentin hypersensitivity treatment. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. e19610313161, 2021.

KIMURA, Y. *et al.* Effects of nanosecond pulsed Nd:YAG laser irradiation on dentin resistance to artificial caries-like lesions. **Lasers Surg. Med.**, v. 20, p. 15-21, 1997.

LEE, B. S. *et al.* In vitro study of dentin hypersensitivity treated by ND:YAP laser and bioglass. **Dental materials**: official publication of the Academy of Dental Materials, Taipei, v. 21, n. 6, p. 511-519, 2005.

LIMA, G. B. B. *et al.* The use of Er: YAG laser in Dentistry: integrative review. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. e9310313063, 2021.

LIMA, J. E. O. Cárie dentária: um novo conceito. **Rev. Dent. Press Ortodon. Ortop. Facial**, Maringá, v. 12, n. 6, p. 119-130, 2007.

LIMA, K. M. M. *et al.* **Avaliação da deformação relativa de phantoms de ágar por meio da elastografia quase-estática (free hand)**. XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica - CBEB 2014. Uberlândia, Minas Gerais, 2014.

MACHIULSKIENE, V., G. *et al.* Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. **Caries Research** v. 50, p. 7-14, 2019. doi:10.1159/000503309

MORIOKA, T. *et al.* Effect of beam absorptive mediators on an acid-resistance of surface enamel by Nd:YAG laser irradiation. **J Dent Health**, v. 34, p. 40-44, 1984.

MOURA, J. *et al.* In vitro osteogenesis on a highly bioactive glass-ceramic (Biosilicate®). **J. Biomed. Mater. Res.**, v. 82, p. 545-557, 2007.

NARAYANA, S. S. *et al.* Remineralization efficiency of bioactive glass on artificially induced carious lesion an in-vitro study. **Journal of the Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry**, Annamalai Nagar, v. 32, n. 1, p. 19-25, 2014.

OHO, T.; MORIOKA, T. A possible mechanism of acquired acid resistance of human dental enamel by laser irradiation. **Caries Res**, v. 24, n. 2, p. 86-92, 1990.

OLIVEIRA, S. *et al.* Utilização e eficácia do laser ND:YAG no tratamento da hipersensibilidade dentinária: uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Development**. v. 6, p. 16872-16890, 2020.

ORÉFICE, R. L.; PEREIRA, M. M.; MANSUR, H. S. **Biomateriais: Fundamentos e Aplicações**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

PEREIRA, D. L. et al. Variation on Molecular Structure, Crystallinity, and Optical Properties of Dentin Due to Nd:YAG Laser and Fluoride Aimed at Tooth Erosion Prevention. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 2, p. 433, 2018.

PEREIRA, G. S. **Caracterização e avaliação do Biosilicato associado a laser de Nd:YAG para prevenção da cárie radicular**. 2019. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Universidade Federal do ABC, São Bernardo do Campo, 2019.

QUEIROZ, C.S. Modelos de estudos *in vitro* para avaliar o efeito do fluoreto na desmineralização e remineralização do esmalte e dentina. Tese (Doutorado em Cariologia). 2004. **Faculdade de Odontologia da Unicamp**, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2004.

RORIZ, V. M. **Avaliação clínica, histológica e histomorfométrica de alvéolos dentários de cães preenchidos com biovidro ou biosilicato®, que posteriormente receberam implantes osseointegráveis**. 2006. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

SCABAR, L. F., ARMONIA, P. L., SARACENI, C. H. C. Estudo morfológico através de microscopia eletrônica de varredura do esmalte dental humano irradiado com laser de Nd:YAG utilizando o verniz fluoretado e o carvão vegetal como fotoabsorvedores. **Rev Inst Ciênc Saúde**, v. 23, n. 2, p. 127-32, 2005.

SEMAK, V. V.; GERAKIS, A.; SHNEIDER, M. N. Measurement of temperature dependent absorption coefficient of water at 1064 nm wavelength. **AIP Advances**, v. 9, n. 8, p. 085016, 2019.

SHARDA, S. *et al.* Remineralization potential and caries preventive efficacy of CPP-ACP/Xylitol/Ozone/Bioactive glass and topical fluoride combined therapy versus fluoride mono-therapy - a systematic review and meta-analysis. **Acta odontologica Scandinavica**, v. 79, n. 6, p 402–417. <https://doi.org/10.1080/00016357.2020.1869827>

SILVA, V. L. **Estudo “in vitro” comparativo da força de adesão na colagem de acessórios ortodônticos após o condicionamento do esmalte com ácido, laser Er,Cr:YSGG e laser mais ácido**. 2010. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

SIQUEIRA, R. L.; ZANOTTO, E. D. Biosilicato®: histórico de uma vitrocerâmica brasileira de elevada bioatividade. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 34, n. 7, p. 1231-1241, 2011.

STERN, R. H. *et al.* Laser effect on in vitro enamel permeability and solubility. **The Journal of the American Dental Association**, v. 73, n. 4, p. 838-843, 1966.

STERN, R. H. *et al.* Lased Enamel: Ultrastructural Observations of Pulsed Carbon Dioxide Laser Effects. **Journal of Dental Research**, v. 51, n. 2, p. 455-460, 1972.

STERN, R. H.; SOGNAES, R. F. Laser Inhibition of Dental Caries Suggested by First Tests in Vivo. **The Journal of the American Dental Association**, v. 85, n. 5, p. 1087-1090, 1972.

TENUTA, L. M. *et al.* Fluoride release from CaF₂ and enamel demineralization. **Journal of Dental Research**, v. 87, p. 1032-1036, 2008. doi: 10.1177/154405910808701105.

TIRAPELLI, C. **Avaliação da eficácia de um biomaterial e conhecidos agentes dessensibilizantes no tratamento da hipersensibilidade dentinária: Estudo in vitro e in vivo.** Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

TIRAPELLI, C. *et al.* A novel bioactive glass-ceramic for treating dentin hypersensitivity. **Brazilian Oral Research**, São Paulo, v. 24, n. 4, p. 381-387, 2010.

TUNGARE, S., PARANJPE, A. G. Early Childhood Caries. **StatPearls**, Treasure Island, 2021.

VALE, G. C. A. **Efeitos da fotobiomodulação associada a compósitos de esponjina extraídas de esponjas marinhas e BIOSILICATO® durante o processo de reparo ósseo.** 2019. Trabalho de conclusão de curso de graduação (Fisioterapia) - Instituto de Saúde e Sociedade (ISS), Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Santos, 2019.

VINCENTI, S. A. F. **Caracterização e resistência adesiva de cimentos de ionômero de vidro modificados por resina incorporados com vitrocerâmica bioativa.** 2018. Tese (Doutorado em Reabilitação Oral) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

WU Q. *et al.* Remineralising effect of 45S5 bioactive glass on artificial caries in dentine. **BMC Oral Health**. v. 20, n. 1, p. 49, 2020. doi:10.1186/s12903-020-1038-4

ZAMATARO, C. B. *et al.* Influence of Er, Cr: YSGG Laser on CaF₂-like products formation because of professional acidulated fluoride or to domestic dentifrice application. **Microsc. Res. Tech.**, v. 76, p. 704-713, 2013.

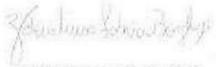
ZEZELL, D. M. *et al.* Nd:YAG laser in caries prevention: A clinical trial. **Lasers Surg. Med.**, v. 41, p. 31-35, 2009.

ZEZELL D. M., *et al.* Compositional and crystallographic changes on enamel when irradiated by Nd:YAG or Er,Cr:YSGG lasers and its resistance to demineralization when associated with fluoride. **SPIE**, v. 7549, p. 75490G-1-75490G-12, 2010.

ZEZELL, D. M. *et al.* FTIR Spectroscopy Revealing the Effects of Laser and Ionizing Radiation on Biological Hard Tissues. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, p. 2571-2582, 2015.

8. ANEXO

A - Parecer da Comissão de Ética em Uso de Animais da UFABC

	MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO Fundação Universidade Federal do ABC Comissão de Ética em Uso de Animais	
		Santo André, 08 de novembro de 2017 CEUAx N 9614190917
<p>lmo(a). Sr(a). Responsável: Juliana Keimny Macário Barboza Daguano Área: Centro De Engenharia, Modelagem E Ciências Sociais Aplicadas - Ceacs</p> <p>Título do projeto: "Efeitos da associação do Biosilicato® e laser em alta intensidade na paralisação da cárie de radiação".</p> <p style="text-align: center;">Parecer Consubstanciado da CEUA UFABC</p> <p>A Comissão de Ética no Uso de Animais da Fundação Universidade Federal do ABC, na reunião de 06/11/2017, ANALISOU e APROVOU o protocolo de estudo acima referenciado. A partir desta data, é dever do pesquisador:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Comunicar toda e qualquer alteração do protocolo. 2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do protocolo. 3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes. 		
		
Valéria Lima Fabrício Borghesi Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais Fundação Universidade Federal do ABC	Profa. Dra. Renata Simões Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais Fundação Universidade Federal do ABC	
Avenida dos Estados, 5001 - CEP 09230-900 Santo André/SP - tel: 55 (11) 3356-7631 / fax: Horário de atendimento: 2ª a 6ª das 10h às 12h e 13h às 16h. - e-mail: ceua@ufabc.edu.br CEUA N 9614190917		

B – Link do artigo publicado

<https://www.brazilianjournals.com/index.php/BJHR/article/view/21503>