

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA - MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CLÍNICA INTEGRADA**

ANA CLÁUDIA DALMOLIN

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA DO COMPLEXO
DENTINO-PULPAR EM MODELO DE RECESSÃO GENGIVAL COM DIFERENTES
FORMULAÇÕES DE BIOVIDROS NANOPARTICULADOS PARA A
OBLITERAÇÃO DE TÚBULOS DENTINÁRIOS – ESTUDO EM RATOS**

PONTA GROSSA

2018

ANA CLÁUDIA DALMOLIN

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA DO COMPLEXO
DENTINO-PULPAR EM MODELO DE RECESSÃO GENGIVAL COM DIFERENTES
FORMULAÇÕES DE BIOVIDROS NANOPARTICULADOS PARA A
OBLITERAÇÃO DE TÚBULOS DENTINÁRIOS – ESTUDO EM RATOS**

Dissertação apresentada como pré-requisito parcial para obtenção do título de mestre em Odontologia pela Universidade Estadual de Ponta Grossa, no curso de Mestrado em Odontologia - Área de Concentração: Clínica Integrada. Linha de Pesquisa: Etiologia, Diagnóstico e Tratamento das Doenças Bucais.

Orientador: Prof. Dr. Fábio André dos Santos
Coorientadora: Prof^a. Dra. Márcia Thaís Pochapski

PONTA GROSSA

2018

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

D148 Dalmolin, Ana Cláudia
Avaliação histológica e
imuno-histoquímica do complexo
dentino-pulpar em modelo de recessão
gingival com diferentes formulações de
biovidros nanoparticulados para a
obliteração de túbulos dentinários -
estudo em ratos/ Ana Cláudia Dalmolin.
134f.

Dissertação (Mestrado em Odontologia -
Área de Concentração: Clínica Integrada),
Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Fábio André dos
Santos.

Coorientadora: Prof^a Dr^a Márcia Thaís
Pochapski.

1.Sensibilidade da dentina. 2.Materiais
biocompatíveis. 3.Retração gengival.
4.Polpa dentária. 5.Inflamação. I.Santos,
Fábio André dos. II. Pochapski, Márcia
Thaís. III. Universidade Estadual de Ponta
Grossa. Mestrado em Odontologia. IV. T.

CDD: 617.6

ANA CLÁUDIA DALMOLIN

Avaliação histológica e imuno-histoquímica do complexo dentino-pulpar em modelo de recessão gengival com diferentes formulações de biovidros nanoparticulados para a obliteração de túbulos dentinários - estudo em ratos.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Stricto sensu em Odontologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração em Clínica Integrada, linha de pesquisa de Etiologia, Diagnóstico e Tratamento das doenças bucais.

Ponta Grossa, 22 de fevereiro de 2018.

Prof. Dr. Humberto Osvaldo Schwartz Filho
Universidade Federal do Paraná

Profª. Drª. Vanessa Migliorini Urban
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Prof. Dr. Fábio André dos Santos
Universidade Estadual de Ponta Grossa

DADOS CURRICULARES

ANA CLÁUDIA DALMOLIN

NASCIMENTO

06.01.1992

Renascença, Paraná – Brasil

FILIAÇÃO

Juscirlei Maria Strada Dalmolin

Joel Antonio Dalmolin

2009 – 2013

Curso de Graduação em Odontologia,
Universidade Estadual de Ponta Grossa
(UEPG)

Ponta Grossa, Paraná – Brasil

2014 – 2016

Curso de Pós-Graduação em Ortodontia,
Universidade Estadual de Ponta Grossa
(UEPG), nível de Especialização – *Lato sensu*.

2016 – 2018

Curso de Pós-Graduação em
Odontologia, Universidade Estadual de
Ponta Grossa (UEPG), nível de
Mestrado em Odontologia – Área de
Concentração em Clínica Integrada.

Dedico a minha família, em especial aos meus amados pais, Juscirlei e Joel, que trabalham incansavelmente para que suas filhas possam buscar felicidade e realização através da oportunidade de opção.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me proteger e guiar, dando-me forças para perseverar.

Ao programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela oportunidade de cursar o Mestrado.

Ao Professor Doutor Fábio André dos Santos, orientador que idealizou este trabalho e, com paciência e dedicação, orientou sua execução. Também permitiu minha participação em pesquisas desenvolvidas em paralelo, sempre disponível para o debate de dúvidas bem fundamentadas, auxiliando-me em meu crescimento acadêmico.

À Professora Doutora Márcia Thaís Pochapski, coorientadora que auxiliou na orientação deste e de outros trabalhos desenvolvidos ao longo do curso de Mestrado, bem como, bondosamente, tornou possível minha participação nos estágios docentes, sejam voluntários ou não.

Ao Professor Doutor Eduardo Bauml Campagnoli, que com muita paciência auxiliou inúmeras vezes na padronização da técnica imuno-histoquímica, bem como acolheu-me durante meu estágio docente, além de ter contribuído valiosamente durante a banca de qualificação.

Aos Professores Doutor César Augusto Galvão Arrais e Doutor Eduardo Bauml Campagnoli, que bondosamente concederam reagentes imuno-histoquímicos das suas pesquisas.

Ao Professor Doutor José Rosa Gomes, que foi meu primeiro orientador, ainda na época da graduação, quando fiz iniciação científica. Responsável por acolher-me nos meus primeiros passos na pesquisa, sua paciência foi incentivo para que eu voltasse ao meio acadêmico com intenção de iniciar o curso de Mestrado. Também se mostrou solidário, auxiliando-me em minhas dúvidas no presente trabalho, quanto à delicada técnica imuno-histoquímica.

Aos professores participantes das bancas dos exames de Qualificação, Professores Doutora Shelon Cristina Souza Bandeca, e Doutor Eduardo Bauml Campagnoli, e de Defesa, Professores Doutora Vanessa Migliorini Urban e Doutor Humberto Osvaldo Schwartz Filho, pelas suas importantes contribuições às melhorias deste trabalho.

Aos professores suplentes das bancas dos exames de Qualificação, Professores Doutores Nara Hellen Campanha Bombarda, e Doutor Giovanni Marino Favero, e de Defesa, Professores Doutora Reila Tainá Mendes, e Doutor César Augusto Galvão Arrais, pela sua disponibilidade em contribuir.

Às colegas do Doutorado participantes do mesmo projeto de pesquisa, Letícia Antonelo Campos, e Luisa Fernanda Alegria Acevedo, que trabalharam juntamente no desenvolvimento dos experimentos, auxiliando enormemente nas fases iniciais e intermediárias deste estudo.

Às colegas do Doutorado, Evelyn Lopez Soares, Letícia Antonelo Campos, Luisa Fernanda Alegria Acevedo, e Mariane Aparecida Savi Sanson, e aos colegas de Mestrado, Daniela Hüller, Gustavo Simão Moraes, e Leomar Emanuel Almeida Mecca, que contribuíram para meu crescimento profissional e pessoal, participando neste e em demais trabalhos executados em paralelo.

À mestranda do programa de Ciências da Saúde Maiara Mikuska Cordeiro, que compartilhou reagentes utilizados na técnica imuno-histoquímica.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia por auxiliar no processo de formação de todos os alunos.

Aos funcionários da UEPG, por auxiliarem na rotina laboratorial.

À Fernanda Castro e à Júlia Rossi, que auxiliaram meu aprendizado, principalmente quanto ao manejo de animais laboratoriais.

À Adrielly Renata Rosa, colega da graduação, que na época de iniciação científica, com muita maturidade, dividia comigo os aprendizados e pesares dos principiantes, embora não tenha participado diretamente nesta fase de mestrado.

À Adrian Camargo Amaral Jorge Araújo e à Camila Thomaz dos Santos, colegas da graduação, e mestres, por estarem presentes de algum modo durante todo o processo.

Ao Dr. Luís Renato, que tem me acompanhado nos últimos meses, sendo pontual e efetivo nas sessões de *coaching*.

A toda minha família, especialmente aos meus pais, que apoiaram minha empreitada no Mestrado, mesmo que esta decisão parecesse não fazer sentido, sobretudo nos momentos em que a distância se tornava duradoura demais para ter coerência.

À CAPES e ao CNPq pela ajuda financeira.

“Para desenvolver nosso potencial, é preciso se expor, se lançar em ambientes onde não sabemos o que fazer, onde não existem somente certezas.”

Jacob Pétry

RESUMO

DALMOLIN, A. C. **Avaliação histológica e imuno-histoquímica do complexo dentino-pulpar em modelo de recessão gengival com diferentes formulações de biovidros nanoparticulados para a obliteração de túbulos dentinários – estudo em ratos**. Ponta Grossa, 2018. 134 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia). Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2018.

A hipersensibilidade dentinária cervical (HSDC) ocorre devido à exposição dentinária da região cervical por fatores como perda de minerais do esmalte ou da própria dentina, ou por recessão gengival. A exposição dos túbulos dentinários, conforme a teoria hidrodinâmica, facilita a transmissão de estímulos desde a superfície dentinária até a polpa. Os biovidros são biomateriais que inicialmente foram desenvolvidos para reparo e regeneração óssea, e que passaram a ser empregados também no tratamento da HSDC. Considerando a falta de compreensão quanto a condição pulpar, e a lacuna existente entre os biomateriais e a eficácia no tratamento, foi proposta a utilização de um modelo *in vivo* em ratos, em que, através da exposição dentinária cervical, pudesse demonstrar o processo neuroinflamatório no tecido pulpar, bem como testar e avaliar os efeitos de duas formulações de biovidros experimentais para a obliteração de túbulos dentinários. Desta forma, foram utilizados 29 ratos Wistar machos, os quais receberam cirurgias de indução de recessão gengival, com instalação de dispositivo de permanência temporária, assim promovendo a manutenção da condição de túbulos dentinários cervicais expostos. Prosseguiu-se com a aplicação dos tratamentos de acordo com os grupos de estudo: Naive (N) - sem recessão gengival e sem tratamento; Sham (S) – com recessão gengival e sem tratamento; Verniz cavitário (V) - recessão gengival e tratamento com verniz cavitário; Biosilicato® (BV-BS) - recessão gengival e tratamento com Biosilicato®; Biovidro de estrôncio (BV-Sr) - recessão gengival e tratamento com biovidro de estrôncio; Biovidro de potássio (BV-K) - recessão gengival e tratamento com biovidro de potássio. Os tratamentos foram aplicados sobre a superfície dentinária exposta dos primeiros molares superiores esquerdos, a cada 4 dias durante 28 dias, totalizando 7 aplicações. Realizou-se processamento histológico das hemimaxilas esquerda e direita, com posterior coloração de hematoxilina e eosina (HE) para avaliar alterações no complexo dentino-pulpar, além de coloração imuno-histoquímica (IHQ) para identificação de substância P (SP). Os resultados apontaram que não houve diferenças significativas ($p>0,05$, teste de Kruskal-Wallis) entre os grupos, considerando os critérios para alterações dentino-pulpaes; tampouco foram observadas diferenças na imuno-marcação para SP. Concluiu-se que não há alterações no complexo dentino-pulpar ou aumento de substância P em dentes com exposição radicular e túbulos expostos em ratos. Nas condições em que foram aplicados, os biovidros experimentais não são capazes de causar danos na polpa dental. No entanto, sugere-se a continuidade das pesquisas, com a avaliação de outros parâmetros no modelo animal para a melhor compreensão do mecanismo da HSDC.

Palavras-chave: Sensibilidade da Dentina. Materiais Biocompatíveis. Retração Gengival. Polpa Dentária. Inflamação. Substância P.

ABSTRACT

DALMOLIN, A. C. **Histological and immunohistochemical evaluation of the dentin-pulp complex in a gingival recession model with different formulations of nanoparticulate bioglass for obliteration of dentinal tubules – study in rats.** Ponta Grossa, 2018. 134 f. Master Thesis (Master Degree in Dentistry). State University of Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2018.

Cervical dentin hypersensitivity (CDH) occurs due to dentin exposure of the teeth's cervical region by factors such as loss in enamel or dentin minerals, or gingival recession. Dentin tubules exposure, according to the hydrodynamic theory, facilitates the transmission of stimuli from the dentin surface to the pulp. Bioactive glasses are biomaterials that were initially developed for bone repair and regeneration, but they could also be used for CDH treatment. There is no understanding about pulp conditions when dentin is exposed, neither about the efficacy of biomaterials used to CDH treatment. It was proposed an *in vivo* model of cervical dentin exposure in rats. This *in vivo* model demonstrates the pulp neuroinflammatory process and tests the efficacy of Biosilicate® and of two others experimental formulations of bioglasses in dentinal tubules obliteration. Thus, 29 male Wistar rats were submitted to exposure of the dentinal tubules, through gingival recession surgery. A temporary device was installed to keep the dentinal tubules exposure. Then, the treatments were applied over the exposed dentin surface of the upper left first molars every 4 days during a 28 days period, with the total of 7 applications. The treatments were applied according to the study groups: Naive (N) – no recession and no treatment; Sham (S) – recession but no treatment; Cavity varnish (V) – gingival recession and treatment with varnish; Biosilicate® (BV-BS) – gingival recession and treatment with Biosilicate®; Strontium bioglass (BV-Sr) – gingival recession and treatment with strontium bioglass; Potassium bioglass (BV-K) – gingival recession and treatment with potassium bioglass. The dentin-pulp complex changes and investigation of substance P (SP) were evaluated through hematoxylin and eosin (HE) and immunohistochemical (IHC) stainings after histological processing and paraffin sectioning of the left and right hemi-maxillae. The results showed that there were no significant differences ($p>0.05$, Kruskal-Wallis test) among the groups considering the conditions of the dentin-pulp complex. No differences were observed in immunostaining for SP. It was concluded that teeth with cervical root exposition and opened tubules in rats do not have changes in the dentin-pulp complex or in the pattern of immunotracing for SP. Experimental bioactive glasses are not capable of causing damage to the dental pulp under the conditions in which it was applied. Nevertheless, new animal model studies could be conducted using others histological and immunohistochemical parameters in order to understand the mechanisms of the CDH.

Keywords: Dentin Sensitivity. Biocompatible Materials. Gingival Recession. Dental Pulp. Inflammation. Substance P.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	- Esquema dos componentes dentinários. Adaptado de Berman, 1984	37
FIGURA 2	- Esquema da inervação intradental. Adaptado de Närhi e colaboradores, 2016	39
FIGURA 3	- Esquema mostrando a distribuição das fibras interdentais do tipo A e do tipo C. Adaptado de Närhi e colaboradores, 2016	40
FIGURA 4	- Possíveis mecanismos neurogênicos envolvidos no processo de sensibilidade dentinária cervical. Adaptado de Närhi e colaboradores, 2016	43
FIGURA 5	- Representação esquemática, em blocos de dentina, dos campos receptivos de fibras nervosa intradentais. Adaptado de Närhi e colaboradores, 2016	43
FIGURA 6	- Diagrama que relaciona a composição do biovidro com sua capacidade de aderir ao tecido ósseo. Adaptado de Hench, 2006	64
FIGURA 7	- Representação esquemática da mineralização das estruturas colágenas presentes na dentina. Adaptado de Fernando e colaboradores, 2017	66
FIGURA 8	- Procedimento cirúrgico de exposição da dentina radicular e indução da recessão gengival, e instalação de dispositivo metálico para manutenção da recessão obtida durante o período experimental	76
FIGURA 9	- Acompanhamento da recessão após remoção do dispositivo metálico	78
FIGURA 10	- Fluxograma dos procedimentos experimentais	80
FIGURA 11	- Aplicação dos biovidros	81
FIGURA 12	- Corte histológico de dente controle, indicando as regiões da polpa coronária	85
FIGURA 13	- Polpa coronária mésio-cervical de dente controle	87
FIGURA 14	- Polpa coronária mésio-cervical de dente controle, durante a mensuração da área ocupada por vasos sanguíneos	88
FIGURA 15	- Gráfico com representação ilustrativa dos pesos médios (g) dos ratos, por grupo, ao longo dos diferentes momentos do experimento	91
FIGURA 16	- Gráfico de Bland-Altman	93
FIGURA 17	- Distribuições da frequência percentual dos escores de infiltrado inflamatório, na comparação intragrupos (dente controle e dente teste)	94

FIGURA 18	- Média e intervalo de confiança (95%) dos valores dos escores de infiltrado inflamatório, na comparação intergrupos	94
FIGURA 19	- Região representativa de infiltrado inflamatório de escore 0, ou seja, “nenhuma ou poucas células inflamatórias na área pulpar”	95
FIGURA 20	- Região representativa de infiltrado inflamatório de escore 1, ou seja, “leve infiltrado de células inflamatórias”	95
FIGURA 21	- Região representativa de infiltrado inflamatório de escore 2, ou seja, “moderado infiltrado de células inflamatórias”	96
FIGURA 22	- Região representativa de infiltrado inflamatório de escore 3, ou seja, “severo infiltrado de células inflamatórias”	96
FIGURA 23	- Distribuições da frequência percentual dos escores das características do tecido pulpar, na comparação intragrupos (dente controle e dente teste)	97
FIGURA 24	- Média e intervalo de confiança (95%) dos valores dos escores das características do tecido pulpar, na comparação intergrupos	98
FIGURA 25	- Região representativa de características do tecido pulpar de escore 0, ou seja, “não há mudanças detectáveis na estrutura dos tecidos moles da polpa”	98
FIGURA 26	- Região representativa de características do tecido pulpar de escore 1, ou seja, “tecido pulpar fibrosado”	99
FIGURA 27	- Região representativa de características do tecido pulpar de escore 2, ou seja, “algum nível de necrose do tecido pulpar”	99
FIGURA 28	- Distribuições da frequência percentual dos escores da condição da camada de odontoblastos, na comparação intragrupos (dente controle e dente teste)	100
FIGURA 29	- Média e intervalo de confiança (95%) dos valores dos escores das alterações na condição da camada de odontoblastos, na comparação intergrupos	101
FIGURA 30	- Região representativa da condição da camada de odontoblastos de escore 0, ou seja, “camada de odontoblastos intacta”	101
FIGURA 31	- Região representativa da condição da camada de odontoblastos de escore 1, ou seja, “camada de odontoblastos desorganizada”	102
FIGURA 32	- Região representativa da condição da camada de odontoblastos de escore 2, ou seja, “camada de odontoblastos rompida”	102
FIGURA 33	- Distribuições da frequência percentual dos escores da resposta dos tecidos dentinários, na comparação intragrupos (dente controle e dente teste)	103

FIGURA 34	- Média e intervalo de confiança (95%) dos valores dos escores da resposta dos tecidos dentinários, na comparação intergrupos	104
FIGURA 35	- Média e erro padrão da área ocupada por vasos sanguíneos na comparação intragrupos (dente controle e dente teste)	105
FIGURA 36	- Média e erro padrão da área ocupada por vasos sanguíneos na comparação intergrupos	105
FIGURA 37	- Região representativa de pouca vascularização	106
FIGURA 38	- Região representativa de proliferação de vasos sanguíneos	106
FIGURA 39	- Fotomicroscopias de cortes teciduais da polpa dentária do primeiro molar superior esquerdo submetidos à técnica de imuno-histoquímica para substância P (SP)	108

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1	- Classificação por escores para o infiltrado inflamatório, características do tecido pulpar, condição da camada de odontoblastos, e resposta dos tecidos dentinários	87
----------	---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE	Enzima conversora de angiotensina
ADA	<i>American Dental Association</i>
AmF	Fluoreto de amina
AMPc	Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico
BSA	<i>Bovine serum albumin</i>
BV-BS	Grupo Biosilicato® - Biosilicate® group
BV-K	Grupo biovidro de potássio - Potassium bioglass group
BV-Sr	Grupo biovidro de estrôncio - Strontium bioglass group
Ca ²⁺	Íon de cálcio
CaCO ₃	Carbonato de cálcio
CaF ₂	Fluoreto de cálcio
CaO	Óxido de cálcio
CCI	Coeficiente de correlação intraclasse
CDH	Cervical dentin hypersensitivity
CEUA	Comissão de Ética em Uso de Animais
CGRP	Peptídeo relacionado com o gene da calcitonina
CIV	Cimento de ionômero de vidro
CO ₂	Dióxido de carbono
CrNi	Liga de aço contendo alto teor de níquel e de cromo
CX	Momento da cirurgia de recessão gengival, seguida de instalação do dispositivo metálico
DAB	<i>3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride</i>
DEMa	Departamento de Engenharia de Materiais
E	Momento da eutanásia
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
Er,CR:YSGG	<i>Erbium, chromium: yttrium-scandium-gallium-garnet laser</i>
Er:YAG	<i>Erbium-doped yttrium aluminium garnet laser</i>
FAp	Fluorapatita
GaAlAs	Laser de arseneto de gálio e alumínio
GPCR	Receptor acoplado à proteína G
H ⁺	Íon de hidrogênio
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio

H ₃ O ⁺	Íon hidrônio
HA	Hidroxiapatita
HCA	Hidroxicarbonato apatita
HD	Hipersensibilidade dentinária
HE	Coloração de hematoxilina e eosina - hematoxylin and eosin staining
HEMA	Monômero hidroxietilmetracrilato
HeNe	Laser de hélio-neônio
HRP	<i>Horseradish peroxidase</i>
HSDC	Hipersensibilidade dentinária cervical
IC	Intervalo de confiança
IgG ₁	Imunoglobulina G, subclasse 1
IHC	Immunohistochemical staining
IHQ	Coloração imuno-histoquímica
JCE	Junção cimento-esmalte
K ⁺	Íon potássio
K ₂ CO ₃	Carbonato de potássio
LAMAV	Laboratório de Materiais Vítreatos
Laser	<i>Light amplification by the stimulated emission of radiation</i>
LCNC	Lesão cervical não-cariosa
MEV	Microscópio eletrônico de varredura
MFP	Monofluorofosfato de sódio
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
N	Grupo Naive - Naive group
Na ⁺	Íon de sódio
Na ₂ CO ₃	Carbonato de sódio
Na ₂ O	Óxido de sódio
NaCl	Cloreto de sódio
NAEVI	Núcleo Avançado de Estudos da Vida
NaF	Fluoreto de sódio
Nd:YAG	<i>Neodymium-doped yttrium aluminium garnet laser</i>
NEP	Neuropeptidase neutra
NGF	Fator de crescimento nervoso

NK ₁	Neurocinina 1
NK ₂	Neurocinina 2
NK ₃	Neurocinina 3
NK-A	Neurocinina A
NK-B	Neurocinina B
NPK	Neuropeptídeo K
NPY	Neuropeptídeo Y
P ₂ O ₅	Pentóxido de difósforo
P ₂ O ₅	Pentóxido de fósforo
PBS	<i>Phosphate-buffered-saline</i>
PCS	Profundidade clínica de sondagem
pH	Potencial hidrogeniônico
PKA	Proteína quinase A, ou proteína quinase dependente do AMPc
PKC	Proteína quinase C
PMSE	Primeiro molar superior esquerdo
PO ₄ ³⁻	Íon fosfato
PPT-A	Pré-protaquicinina-A
S	Grupo Sham -Sham group
SDR	Síndrome do dente rachado
SiO ₂	Dióxido de silício, ou sílica
SNC	Sistema nervoso central
SNED	Sistema neuroendócrino difuso
SnF ₂	Fluoreto de estanho
SNP	Sistema nervoso periférico
SP	Substância P - Substance P
SrCO ₃	Carbonato de estrôncio
SrO	Óxido de estrôncio
T1	Momento da remoção do dispositivo metálico, seguido da aplicação do primeiro tratamento (dia 0 - zero)
T2	Momento da aplicação do segundo tratamento (dia 4)
T3	Momento da aplicação do terceiro tratamento (dia 8)
T4	Momento da aplicação do quarto tratamento (dia 12)
T5	Momento da aplicação do quinto tratamento (dia 16)

T6	Momento da aplicação do sexto tratamento (dia 20)
T7	Momento da aplicação do sétimo tratamento (dia 24)
TRPV1	Receptor de potencial transitório, subtipo valinóide 1
UEPG	Universidade Estadual de Ponta Grossa
UFSCar	Universidade Federal de São Carlos
V	Grupo Verniz cavitário - Cavity varnish group
VIP	Peptídeo vasoativo intestinal

LISTA DE SÍMBOLOS

®	Registrado
<	Menor que
p	Valor de p – Probabilidade de significância estatística
%	Porcentagem
μm	Micrômetro
δ	Delta
β	Beta
α	Alfa
γ	Gama
ppm	Partes por milhão
°C	Grau Celsius
cm	Centímetro
mm	Milímetro
mg	Miligrama
Kg	Kilograma
mL	Mililitro
g	Grama
n°	Número
pol.	Polegadas
min	Minuto
s	Segundo
M	Molar
=	Igual a

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	REVISÃO DE LITERATURA	26
2.1	HIPERSENSIBILIDADE DENTINÁRIA CERVICAL (HSDC)	26
2.1.1	Definição, características e sintomatologia	26
2.1.2	Epidemiologia da HSDC	27
2.1.3	Fatores predisponentes e causais da HSDC	29
2.1.3.1	Perda de estrutura mineralizada	29
2.1.3.1.1	Erosão	30
2.1.3.1.2	Abrasão	30
2.1.3.1.3	Abfração	31
2.1.3.2	Recessão gengival	31
2.1.4	Diagnóstico	33
2.1.5	Mecanismos neurofisiológicos	34
2.1.5.1	Teoria do transdutor	34
2.1.5.2	Teoria da modulação	34
2.1.5.3	Teoria do portão para controle da dor e vibração	35
2.1.5.4	Teoria hidrodinâmica	35
2.1.5.5	Anatomia nervosa pulpar	38
2.1.5.6	Inflamação neurogênica	42
2.1.5.7	Substância P (SP): descoberta da molécula, suas ações no organismo, e associação com a inflamação neurogênica	44
2.1.5.8	Substância P (SP): sensibilização periférica e associação com a dor de origem dentária	47
2.1.6	Manejo e tratamentos	49
2.1.6.1	Agentes obliteradores dos túbulos dentinários	51
2.1.6.1.1	Oxalatos	52
2.1.6.1.2	Agentes adesivos, selantes, resinas e cimento de ionômero de vidro (CIV)	53
2.1.6.1.3	Fluoretos	54
2.1.6.1.4	Sais de estanho	55
2.1.6.1.5	Vernizes	56
2.1.6.1.6	Glutaraldeído	56
2.1.6.1.7	Sais de estrôncio	57

2.1.6.1.8	Compostos de cálcio	58
2.1.6.2	Agentes de ação neural (dessensibilizantes)	58
2.1.6.2.1	Sais de potássio	58
2.1.6.2.2	Laserterapia	59
2.1.6.2.3	Corticosteróides	60
2.1.6.3	Agentes de ação mista	60
2.1.6.3.1	Iontoforese	60
2.1.6.3.2	Dentifrícios dessensibilizantes	61
2.1.6.3.2.1	Dentifrícios contendo arginina	62
2.1.6.4	Cirurgia periodontal	62
2.2	BIOVIDROS	63
2.2.1	Surgimento	63
2.2.2	Aplicabilidade na HSDC	65
3	PROPOSIÇÃO	70
3.1	OBJETIVOS GERAIS	70
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	70
4	MATERIAIS E MÉTODOS	71
4.1	ANIMAIS	71
4.2	BIOVIDROS EXPERIMENTAIS	71
4.3	DELINEAMENTO E PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	73
4.3.1	Grupos experimentais	73
4.3.2	Anestesia	74
4.3.3	Exposição da dentina radicular e desafio ácido	74
4.3.4	Tratamento para obliteração dos túbulos dentinários	79
4.3.5	Eutanásia e obtenção das amostras maxilares	81
4.4	PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	81
4.4.1	Processamento histológico	81
4.4.2	Microtomia	82
4.4.3	Coloração com hematoxilina e eosina-floxina (HE)	83
4.4.4	Técnica imuno-histoquímica (IHQ) para o neuropeptídeo Substância P (SP)	83
4.5	ANÁLISE DAS AMOSTRAS	84
4.5.1	Análise dos pesos dos animais	84

4.5.2	Obtenção das imagens em HE e análise histopatológica dos tecidos pulpare	84
4.5.3	Análise imuno-histoquímica da expressão do neuropeptídeo Substância P (SP) nos tecidos pulpare	88
4.5.4	Reprodutibilidade intraexaminador	89
4.5.5	Análise estatística dos resultados	89
5	RESULTADOS	91
5.1	PESOS DOS ANIMAIS	91
5.2	REPRODUTIBILIDADE INTRAEXAMINADOR	92
5.3	RESULTADOS DAS ANÁLISES HISTOPATOLÓGICAS DOS TECIDOS PULPARES ..	93
5.3.1	Infiltrado inflamatório	93
5.3.2	Características do tecido pulpar	97
5.3.3	Condição da camada de odontoblastos	100
5.3.4	Resposta dos tecidos dentinários	103
5.3.5	Alterações vasculares	104
5.4	RESULTADOS DA EXPRESSÃO DO NEUROPEPTÍDEO SUBSTÂNCIA P (SP) NOS TECIDOS PULPARES	107
6	DISCUSSÃO	109
7	CONCLUSÃO	117
	REFERÊNCIAS	118
	ANEXO A - Aprovação da CEUA 039/2015	134

1 INTRODUÇÃO

A hipersensibilidade dentinária (HD) é considerada uma doença bucal e é caracterizada por dor aguda, localizada e de curta duração, a qual não pode ser atribuída a nenhum outro tipo de defeito ou patologia dentária.^{1,2} Quando a HD ocorre devido à perda de integridade da região cervical, pode ser denominada de “hipersensibilidade dentinária cervical” (HSDC).³

O processo doloroso característico da HSDC inicia-se por conta da exposição dentinária, na qual ocorre a exposição de túbulos dentinários abertos. Tal condição torna a percepção de estímulos comuns e não nocivos como algo capaz de gerar dor. Estes estímulos compreendem agentes térmicos (frio ou quente), evaporativos, osmóticos, táteis, químicos, elétricos e bacterianos.^{1,3-13}

A epidemiologia da HSDC apresenta dados com extrema variabilidade, indo de 3 a 98% de prevalência na população.¹⁴ Tais dados são considerados um reflexo das diferenças no diagnóstico, e da forma de seleção de indivíduos para compor as amostras das diferentes pesquisas.^{5,8,14,15} Os dados para prevalência de faixa etária também não são congruentes, apontando desde 18 a 59 anos.^{7,16,17} Além disso, os resultados apontam variações nos dentes mais acometidos, variando entre incisivos, pré-molares e molares.¹⁸⁻²⁴ Porém, acredita-se no aumento da prevalência da HSDC com o passar dos anos, devido à odontologia preventiva promover um maior tempo de permanência dos dentes em boca, com cuidados profissionais e domiciliares que são potencialmente capazes de gerar exposição dentinária.⁸

Muitas teorias já tentaram explicar os mecanismos neurofisiológicos envolvidos no processo de HSDC, sendo a teoria hidrodinâmica, descrita por Brännström, a mais aceita atualmente. Esta teoria considera a movimentação dos fluídos presentes nos túbulos dentinários como consequência dos estímulos não nocivos e como responsável pela deformação dos odontoblastos e/ou de seus prolongamentos, o que ativa os mecanorreceptores das terminações nervosas pulpares, resultando no processo doloroso.^{1,25,26}

Apesar dos estímulos não serem nocivos, e geralmente serem de baixa intensidade, são capazes de causar dor. Acredita-se que isso ocorra devido a diminuição do limiar de dor, a qual pode ser explicada por dois fatores. O primeiro seria devido à exposição dos túbulos dentinários, o que facilita a transmissão do

estímulo doloroso. E o segundo fator seria devido ao tecido pulpar que pode encontrar-se inflamado nos dentes com dentina exposta.²⁷

O processo de inflamação pulpar, teoricamente, seria capaz de induzir o aumento das ramificações das terminações nervosas, expandindo, assim, a densidade da inervação na polpa. Isto seria responsável por uma maior liberação de mediadores inflamatórios e de neuropeptídeos, como a substância P (SP), o que sensibilizaria as terminações dos nociceptores.²⁸ No entanto, evidências *in vivo* de tais alterações ainda são escassas na literatura.

Os tratamentos atualmente disponíveis para HSDC são conduzidos a fim de diminuir a movimentação do fluído dentinário, bloquear a resposta nervosa pulpar, ou ambos. Agentes dessensibilizantes seriam capazes de interromper a ativação neural e a transmissão dolorosa, exemplo são os produtos contendo sais de potássio e a aplicação de lasers de baixa intensidade. A diminuição da movimentação dos fluídos pode se dar pela indução da formação de *smear layer* ou pelo bloqueio dos túbulos, o que pode ser conseguido com adesivos dentinários, cloreto de estrôncio, oxalatos, precipitantes de proteínas, e materiais com sílica ou cálcio.¹ Contudo, apesar dos muitos estudos sobre HSDC e da existência de uma grande variedade de substâncias, sejam elas obliteradoras ou dessensibilizadoras, ainda não há uma conduta universalmente adotada ou de alta confiabilidade para o tratamento da HSDC.^{2,8,29-31}

Neste contexto, biomateriais, que inicialmente foram desenvolvidos para serem aplicados em terapias de outras doenças, podem ser adaptados ou a sua formulação revista, a fim de extrair propriedades interessantes para a HSDC. Dentre os biomateriais atualmente em estudo para o tratamento da HSDC estão os biovidros.³²⁻³⁴

Os biovidros foram desenvolvidos para aplicação em tecido ósseo, sendo que a sua capacidade de liberar íons e promover a formação de hidroxiapatita permite a sua excelente aderência química às fibras colágenas do osso, além de promover reparo e regeneração tecidual. A aplicação dos biovidros tem sido alcançada através de pastas e estruturas-base para reparo e regeneração óssea e na cobertura de implantes.^{35,36}

Ainda que os biovidros tenham sido desenvolvidos para originariamente estimular a formação óssea, a similaridade entre osso e dentina permite que os biovidros também sejam úteis no tratamento da HSDC, através da formação de uma camada de apatita. Esta empregabilidade dos biovidros tem sido evidenciada através

da sua utilização em dentifrícios e procedimentos de polimento dentário.^{35,37-39} Contudo, os biovidros disponíveis possuem efetividade limitada quando do seu uso em HSDC,³⁷ sendo que estudos têm indicado que, apesar de promover alguma oclusão dos túbulos, as formulações atuais são facilmente deslocadas, tendo a literatura apontado como necessária a utilização de concentrações mais altas de biovidro em veículos de formulações mais apropriadas.³⁹

Assim sendo, e considerando que existem dúvidas sobre o mecanismo pelo qual a HSDC se estabelece, principalmente quanto ao processo de inflamação em tecido pulpar e às substâncias neurogênicas envolvidas; e que ainda não foi possível encontrar um tratamento suficientemente efetivo para a HSDC, tanto em eficácia quanto em durabilidade; os objetivos deste estudo são avaliar o efeito *in vivo* do Biosilicato® e de duas formulações experimentais distintas de biovidros, quanto aos seus efeitos em tecido pulpar, no concernente às características de inflamação tecidual e à liberação do neuropeptídeo substância P.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HIPERSENSIBILIDADE DENTINÁRIA CERVICAL (HSDC)

2.1.1 Definição, características e sintomatologia

A hipersensibilidade dentinária (HD), também referida como hipersensibilidade dentária ou sensibilidade dentinária, pode receber determinadas terminologias associadas com a sua localização, como a adição dos termos “radicular”, “cementária” ou “cervical”.^{8,40} O termo hipersensibilidade dentinária cervical (HSDC), portanto, refere-se àquela que se origina devido a alterações na integridade da região cervical.³

A HSDC, apesar de ter sido definida como uma síndrome dolorosa, pois englobaria um conjunto de sintomas e de sinais que seriam suficientes para caracterizá-la,⁸ a definição mais aceita é aquela proposta por Holland e colaboradores, em 1997,² e modificada em 2003 pelo *Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity*.¹ A definição diz: “A hipersensibilidade dentinária é caracterizada pela dor aguda, localizada, de curta duração (segundos ou minutos), que não pode ser atribuída a nenhum outro tipo de defeito ou patologia dentária.”^{1,2}

Em 2003, o *Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity* modificou o termo “patologia”, que aparece nas publicações anteriores sobre HSDC, substituindo-o pelo termo “doença”.^{1,12} Esta pequena modificação dá à HSDC uma terminologia clínica, auxiliando na sua diferenciação como entidade clínica distinta.¹² Além desta modificação, o *Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity*, na mesma publicação, enfatiza que esta definição desafia os cirurgiões-dentistas a pensarem em outras causas potenciais para a dor (ou seja, considerar outras hipóteses diagnósticas), que podem estar associadas à hipersensibilidade, uma vez que são diversas as condições que compartilham dos mesmos sintomas, sendo o diagnóstico diferencial essencial.¹

A HSDC trata-se de um problema comum, desconfortável aos pacientes durante as situações cotidianas de alimentação e escovação.³⁰ Clinicamente, os sintomas mais frequentemente relatados pelo paciente é dor após o toque, principalmente ao escovar, ao mastigar ou beber alimentos frios/quentes e/ou adocicados.^{1-3,5-11,13}

A sensação dolorosa inicia-se a partir da dentina exposta, em resposta a estímulos não nocivos, os quais podem ser táteis (mecânicos), térmicos, evaporativos, osmóticos (por exemplo, açúcar, ácido, sal), químicos, elétricos e/ou bacterianos.^{1,3,5-13}

É importante destacar que nem todo dente com dentina exposta apresenta HSDC. Estudos com microscopia eletrônica demonstraram que, geralmente, a dentina exposta que está associada com a HSDC apresenta túbulos abertos em maior número e em maior diâmetro, ou seja, a exposição dentinária não é determinante para desenvolver HSDC.⁴ O que faz com que estímulos comuns sejam percebidos de forma exacerbada pelo paciente são túbulos dentinários abertos, com dissolução da dentina peritubular e consequente exposição desde o meio bucal até a polpa.^{3,5,6,8,27}

2.1.2 Epidemiologia da HSDC

Os dados epidemiológicos para a HSDC na população adulta são muito variados.^{5,8,14} Estudos de revisões de literatura apontam a prevalência da HSDC entre 8 e 57%,⁸ entre 4 e 74%,⁵ e entre 3 e 98%.¹⁴ Toda essa variabilidade nos dados pode ser explicada devido aos diferentes métodos diagnósticos utilizados nos diversos estudos^{5,8,14,15} e aos diferentes critérios de seleção de indivíduos para compor as amostras.^{5,14,15}

Indivíduos diagnosticados com doença periodontal,^{5,8} recessão gengival,^{5,7} erosão dentária,¹⁴ fumantes com doença periodontal,⁵ ou indivíduos que realizaram clareamento dental domiciliar^{7,18} compõem os grupos que apresentaram maior prevalência para a hipersensibilidade dentinária.

Alguns estudos indicam haver associações ou correlações positivas entre a hipersensibilidade dentinária e condições ou situações bucais, como o tratamento de doenças periodontais,^{14,18,19} a existência de doença periodontal ativa,²³ escovação exagerada (seja em quantidade e/ou em intensidade de força),^{14,23,41} bruxismo,⁴¹ refluxo gastroesofágico,^{18,41} alimentação ácida,¹⁸ tratamento ortodôntico,¹⁸ e perda de estrutura dentária em região cervical.^{18,20}

A recessão gengival foi considerada determinante para a hipersensibilidade dentinária em estudo de revisão de Costa e colaboradores (2014).²² Contudo, Kamal e colaboradores (2014)⁴² estudaram a associação entre a hipersensibilidade dentinária e diferentes níveis de recessão gengival (leve, moderada e severa), e

encontraram associação para a recessão gengival leve, concluindo que o aumento da recessão gengival não significa um aumento na incidência da hipersensibilidade dentinária.

Os dados para prevalência de faixa etária também apresentam discrepâncias. Há estudos que apontam a faixa etária entre 20 e 49 anos como a mais prevalente para as mulheres, e entre 40 e 59 anos para os homens.¹⁹ Outros estudos apontam as faixas etárias de 18 a 44 anos,⁷ de 21 a 30 anos,¹⁸ de 30 a 40 anos,¹⁴ ou de 50 a 59 anos,^{16,17} como a mais prevalente considerando ambos os gêneros.

O perfil de pacientes que mais sofre com a hipersensibilidade, segundo os estudos epidemiológicos, são pacientes mulheres,^{7,14,17,18,22,41} jovens, fumantes, de bom nível educacional, e/ou que já receberam algum tipo de tratamento periodontal.²²

Os dentes mais acometidos também divergem entre os pesquisadores. Algumas pesquisas apontam os incisivos¹⁸⁻²¹ e pré-molares^{19,22-24} como sendo aqueles acometidos com maior frequência, e os molares apresentariam a menor frequência;¹⁹ porém, há trabalhos que apontam os molares como os dentes mais frequentes para a hipersensibilidade,^{22,23} enquanto os incisivos seriam os menos comumente acometidos.²³ A região posterior esquerda,⁴¹ os dentes superiores e as faces vestibulares¹⁴ também foram citadas como as regiões mais comuns. Provavelmente, a localização da hipersensibilidade dentinária pode ter alguma relação com a forma como ocorre a exposição da dentina, por exemplo, se através de processos erosivos, abrasivos, e/ou pela recessão gengival. Todos estes aspectos possuem também um fator individual que precisa ser levado em consideração ao interpretar estes dados.

Os pacientes pesquisados nestes estudos epidemiológicos geralmente são previamente selecionados a partir de um questionário. As respostas autorreferidas no questionário demonstram uma prevalência maior para a hipersensibilidade do que aquelas encontradas pelos avaliadores após exame intrabucal.^{8,17-19}

A média de dentes acometida por pacientes variou entre dados indicando de 2 a 3 dentes,²² e indicando média de 3,5 dentes por paciente.⁷

Observou-se que a minoria dos pacientes com hipersensibilidade procura por auxílio profissional, ou mesmo utilizar dentifrícios destinados à diminuição da hipersensibilidade dentinária.^{16,19,23}

Os principais fatores citados, pelos pacientes participantes dos estudos epidemiológicos, como responsáveis por iniciar o processo doloroso característico da

hipersensibilidade dentinária foram: estímulo frio (ou gelado),^{12,17,21,24,41,43} seguido pelos estímulos químicos das comidas ácidas, principalmente frutas,^{12,17} comidas doces e raramente pelas salgadas.¹² A dor desencadeada por causas mecânicas envolve a fricção da região sensível com a unha, ou com as cerdas da escova de dentes durante a escovação. O ar ambiente pode ser um gatilho, devido à desidratação que promove durante a respiração (principalmente no inverno, também por estar associado com baixas temperaturas), ou durante a aplicação do jato de ar da seringa tríplice odontológica.¹²

Acredita-se num aumento na prevalência da HSDC com o passar dos anos, devido à tendência preventiva da odontologia proporcionar a um maior número de pessoas a permanência de seus dentes em boca, com aumento da exposição de dentina devido aos procedimentos de cuidados domiciliares, bem como os periodontais, como sessões de raspagens periódicas ao longo da vida dos indivíduos.⁸

2.1.3 Fatores predisponentes e causais da HSDC

A literatura, em alguns estudos epidemiológicos ou de revisão, destaca alguns fatores que predispõem à HSDC; eles são variados e podem ocorrer de forma isolada ou associada.^{8,29} Tais fatores incluem: problemas crônicos de escovação, traumas oclusais, doenças ou cirurgias periodontais, consequências após adequado tratamento periodontal, mau posicionamento dos dentes, hábitos parafuncionais, a própria idade, osso alveolar de extensão limitada, biotipo leptoprósopo, excessivos procedimentos de clareamento dental, e perdas de estrutura dentária devido à, principalmente, abrasão, erosão, abfração, atrito, e bruxismo.^{3,29,30}

A exposição dos túbulos dentinários na região cervical é a causa da HSDC, e pode ocorrer devido à perda de esmalte e/ou do cemento na região cervical,^{1,3,8,30} ou devido à recessão gengival,^{1,3,30} levando à exposição de túbulos dentinários abertos, que comunicam a cavidade bucal com a polpa.¹

De forma esquemática, podemos agrupar os fatores causais conforme segue.

2.1.3.1 Perda de estrutura mineralizada

A perda de estrutura mineralizada na região cervical caracteriza as lesões cervicais não cariosas (LCNC), as quais possuem etiologia multifatorial. A aparência

clínica da LCNC depende do tipo e da severidade dos fatores etiológicos envolvidos, os quais podem incluir desgaste devido à função dentária anormal e/ou à maloclusão e desgastes patológicos. Tais situações corresponderiam à erosão, abrasão e abfração.⁴⁴

2.1.3.1.1 Erosão

Erosão é o processo de perda de estrutura dentária devido à dissolução da mesma por ácidos não provenientes do biofilme bacteriano, de origem intrínseca, ou seja, ácidos gástricos, ou de origem extrínseca, que podem ser provenientes da dieta ou do ambiente. Os ácidos intrínsecos que provocam a erosão chegam até a cavidade bucal devido ao refluxo gástrico, proveniente de condições patológicas como, por exemplo, hérnia de hiato, alcoolismo e bulimia.⁸ Nestas situações é típico o surgimento de lesões do tipo perimólise (superfícies linguais dos dentes ântero-superiores com perda de estrutura até o limite gengival), e também a perda de estrutura nas faces oclusal e vestibular dos dentes póstero-inferiores. Estas superfícies ganham um aspecto liso e brilhante.⁸

A erosão ácida extrínseca associada à dieta inclui bebidas ácidas, como vinho e bebidas gaseificadas, frutas cítricas, vitamina C, dentre outros. Uma alimentação predominantemente ácida é capaz de desmineralizar os tecidos dentários, removendo cálcio destas estruturas, bem como fazer a remoção da *smear layer*. Os fatores ambientais que podem colaborar com a erosão incluem o baixo pH da água de piscinas de natação, o uso impróprio de substâncias utilizadas para o clareamento dental, e alguns enxaguantes bucais comercializados com baixo pH.⁸

2.1.3.1.2 Abrasão

A abrasão causa lesão por desgaste na superfície do dente devido ao atrito com materiais não dentários, por exemplo, a própria escovação, o uso de dentifrícios compostos por partículas de carga abrasivas, ou hábitos parafuncionais, como mordiscar objetos.⁸

As cargas abrasivas dos dentifrícios promovem perda de estrutura dentária, mas também levariam à formação de *smear layer*, o que teoricamente seria capaz de causar alguma obliteração de túbulos, e consequente redução da sensibilidade. No

entanto, os dentifrícios também contêm elementos detergentes, os quais removeriam essa *smear layer*, promovendo, então, abertura dos túbulos dentinários. Mesmo que ocorra certa aderência de depósitos provenientes dos dentifrícios, estes deslocar-se-iam facilmente.¹

Evidências têm apontado que o esmalte da região cervical vestibular é perdido devido à combinação da abrasão com a erosão, o esmalte seria resistente à abrasão por escovação, se de forma isolada; porém, a escovação associada com a ação de ácidos na superfície do esmalte tem efeito abrasivo.^{1,45}

2.1.3.1.3 Abfração

As forças mastigatórias e o estresse provocado por maloclusões são considerados os principais causadores da abfração.⁴⁴ Acredita-se que, na abfração, ocorra certa flexão na região cervical do dente, facilitada pela estrutura de esmalte mais fina nesta região.^{44,46} Isto ocorre devido a forças compressivas oclusais e a forças de tração, e resulta em microfraturas dos cristais de hidroxiapatita do esmalte, com consequente aumento da fadiga em dentina, e deformação da estrutura dentária, provocando lesões em formato de “V” na região cervical.^{3,44,47,48}

No entanto, estudos têm demonstrado que o trauma oclusal isoladamente não seria capaz de explicar completamente o desenvolvimento das lesões de abfração, mas que seria resultado da combinação com processos erosivos, abrasivos, e mesmo associado ao atrito oclusal.³

2.1.3.2 Recessão gengival

A recessão gengival é considerada a causa mais comum de exposição de dentina radicular e de HSDC. É caracterizada pelo deslocamento da margem gengival apicalmente à junção cimento-esmalte (JCE), expondo o cimento da superfície radicular, o qual, uma vez exposto é rapidamente perdido.^{1,3,49}

O desenvolvimento da recessão gengival é multifatorial e inclui situações como tábua óssea alveolar pouco espessa, presença de periodontite e o seu tratamento, deiscência e fenestração de osso alveolar vestibular ou lingual, trauma, tratamento ortodôntico, uso de *piercing* bucal, injúria auto-infringida, tratamentos

protéticos traumáticos à gengiva queratinizada, escovação traumática,^{3,50} e perda óssea horizontal associado à osteoporose.^{3,51}

A recessão gengival tem como fatores predisponentes: a escovação excessiva em quantidade e/ou força (ou ainda, com movimentos não indicados); processos patológicos, como a gengivite ulcerativa necrosante aguda; injúrias auto-infringidas e; procedimentos periodontais.^{1,3}

A recessão gengival ocorre tanto em periodonto saudável como patológico, e tanto em indivíduos com padrão de higiene alto como baixo.^{3,50} A doença periodontal e o seu tratamento promovem uma remodelação óssea compensatória ao redor do dente, que ocorre após a destruição dos tecidos de suporte, e leva ao reposicionamento apical do tecido gengival.³ Este reposicionamento pode afetar as regiões vestibular, lingual e/ou interdental,^{3,52} e pode ocorrer durante a fase de doença ativa, mas normalmente é mais comum após o tratamento, ou durante a fase de manutenção.³ Fatores como biotipo gengival, anatomia do osso subjacente, hábitos de higiene prejudiciais podem influenciar no momento e na quantidade de movimentação apical dos tecidos gengivais nestes pacientes.³

A hipersensibilidade é um quadro comum em aproximadamente 50% dos pacientes que passam pelo procedimento de raspagem e alisamento radicular.^{3,53} Sendo que fumantes possuem maior risco de desenvolver a recessão gengival, quando associado à doença periodontal.^{3,54,55}

A prevalência de hipersensibilidade dentinária radicular nos pacientes periodontais é considerada muito alta, uma vez que os tratamentos periodontais (cirúrgicos ou não) podem ter como consequência a retração gengival, a qual leva à exposição da dentina radicular, facilitando, portanto, a etiologia da hipersensibilidade nestes pacientes.^{56,57} Além disso, uma das reclamações mais comuns dos pacientes periodontais é justamente a hipersensibilidade,^{58,59} que pode ser iniciada ou aumentada, persistindo por vários dias após o procedimento de instrumentação periodontal,⁵⁷ fazendo com que o paciente evite o tratamento. Profissionais também podem hesitar no momento de tocar com o instrumento de raspagem na dentina exposta, a fim de evitar causar dor no paciente, interferindo, assim, na qualidade do tratamento periodontal.⁶⁰

Em indivíduos com saúde periodontal, a recessão gengival geralmente acontece associada a ciclos de escovação mais longos, nos quais se emprega mais força, principalmente na região vestibular, e também pode estar associada a uma

maior frequência de escovação ao longo do dia.^{3,61–64} Os índices de biofilme nas superfícies dentárias próximas a sítios de recessão são mais baixos, o que sugere uma relação inversa entre acúmulo de biofilme e recessão gengival.^{3,65} Nestes casos, a escovação excessiva, em frequência e/ou força, seria responsável por traumatizar os tecidos gengivais, o que levaria à recessão, e à consequente hipersensibilidade dentinária.^{3,40,66,67}

2.1.4 Diagnóstico

O diagnóstico da hipersensibilidade dentinária normalmente envolve mais de um fator. Os métodos mais comuns adotados são: ouvir as queixas dos pacientes; realizar o exame intrabucal; aplicação de jato de ar; aplicação de água gelada; e considerar as informações do paciente após perguntas direcionadas feitas pelo profissional.³⁰

A maioria dos profissionais, durante o exame clínico inicial de seus pacientes, não realiza técnicas ou manobras de rastreamento específicas para a HSDC, a não ser que esteja dentre as queixas do paciente. Além disso, poucos profissionais consideram corretamente os diagnósticos diferenciais durante o processo semiológico, embora, por definição, a detecção da HSDC dependa de um diagnóstico de exclusão.¹

Dentre as patologias ou condições dentárias que apresentam sintomas de dor similares àqueles da HSDC, como dor aguda e de curta duração, podemos listar algumas que são essenciais a serem consideradas e/ou investigadas durante o diagnóstico diferencial: trinca ou fratura em esmalte com exposição da dentina; restaurações fraturadas; resposta pulpar a lesões cáries e ao tratamento restaurador; restaurações com excesso oclusal, causando trauma de oclusão; síndrome do dente rachado (SDR), mais frequente em dentes amplamente restaurados; sulco palatogengival e outras invaginações do esmalte; restaurações com infiltração; lesões cáries; e clareamento em dente vital.⁶⁸

Para o *Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity* (2003),¹ a HSDC deveria ser investigada durante o exame clínico de todos os pacientes dentados, a fim de evitar subdiagnóstico e subtratamento desta condição. Este processo diagnóstico deveria iniciar buscando informações do paciente para dor ou sensibilidade aguda, do tipo “agulhada/facada”. Caso o paciente afirme positivamente, o profissional deve prosseguir solicitando que o paciente descreva a dor e identifique os estímulos que a

iniciam, também identificar se o paciente deseja realizar algum tratamento, investigar detalhadamente a dieta (em busca de alimentos ou bebidas ácidas em excesso), e se há refluxo gastroesofágico e/ou histórico de vômitos excessivos.¹

Existe, ainda, um fator importante a ser considerado durante o diagnóstico, trata-se da variabilidade com que a HSDC se apresenta para cada indivíduo, o que dificulta a quantificação da mesma. Alguns podem indicar dor, mas que não afeta sua qualidade de vida, enquanto outros podem solicitar intervenção, a fim de obter alívio da dor.¹ Não apenas o componente subjetivo da dor influencia neste aspecto, mas também os fatores causais e predisponentes, os dentes acometidos, as intervenções odontológicas prévias, dentre outros. Assim, a percepção do paciente sobre o problema sempre deve ser levada em consideração durante o processo diagnóstico e de tratamento.¹

2.1.5 Mecanismos neurofisiológicos

A origem da dor dentária na HSDC, apesar de ser o foco de muitos pesquisadores, ainda não tem o seu mecanismo completamente elucidado.^{3,25,69} Existem diversas teorias que tentam explicar tal mecanismo, dentre elas as quatro principais são: a teoria do transdutor, da modulação, do portão para controle da dor e vibração, e a hidrodinâmica.^{25,70}

2.1.5.1 Teoria do transdutor

A teoria do transdutor considera que existe uma relação praticamente do tipo sináptica entre as terminações nervosas sensoriais e os processos odontoblásticos. Existindo sinapse entre estes dois elementos, ocorre uma facilitação da transmissão das sensações dentinárias. Neste caso, substâncias neurotransmissoras, como a acetilcolina, por exemplo, estariam presentes nesta área dos processos odontoblásticos e da pré-dentina.²⁵

2.1.5.2 Teoria da modulação

Já a teoria da modulação consiste na ideia de que um estímulo irritante não nocivo sobre a dentina seria capaz de promover injúrias nos odontoblastos e, conseqüentemente, estes passariam a liberar diversos agentes neurotransmissores,

bem como a produzir aminas e proteínas responsáveis pela dor e pela vasoativação.^{25,71} Essas substâncias seriam capazes de modular o potencial de ação das fibras nervosas devido ao aumento dos níveis de AMPc (adenosina 3',5'-monofosfato cíclico) através dos receptores de membrana adenilato ciclase.^{25,72}

2.1.5.3 Teoria do portão para controle da dor e vibração

A teoria do portão para controle da dor e vibração diz que as vibrações que ocorrem como estímulo, por exemplo, quando de um preparo cavitário, ativam as fibras nervosas presentes na polpa. As fibras mielinizadas maiores tendem a adaptar-se ao estímulo, já as fibras C menores são ativadas pelo estímulo e não se adaptam a ele.

Assim, o chamado “portão de dor” de baixa intensidade das fibras maiores está fechado, e o “portão de dor” de alta intensidade das fibras menores está aberto. O “portão de dor” pode ser aberto por alguns estímulos, como a ansiedade, e podem ser fechados por estímulos de distração, como a estimulação gengival ou a “áudio-analgesia”. Porém, a teoria do portão de dor não consegue explicar completamente como a resposta de dor da dentina é transmitida e percebida pelas terminações nervosas da polpa, apenas explica como as respostas dolorosas podem ser interpretadas de um modo geral.²⁵

2.1.5.4 Teoria hidrodinâmica

A teoria hidrodinâmica partiu de estudos da década de 1920, nos quais pesquisadores observaram a existência de um fluído intersticial na dentina e na polpa, dando a ele o nome de “linfa dental”. Foi postulado que o fluxo do fluído poderia estar direcionado tanto para fora quanto para dentro, a depender das variações de pressão ao redor dos tecidos.^{25,73} Na década de 1960, estudos apontaram que o tal fluído linfático pulpar era contínuo com o fluído dos túbulos dentinários. Estes estudos sobre movimentação de fluídos tubulares deram, portanto, as bases para a teoria hidrodinâmica proposta por Brännström em publicação de 1963, e melhor explorada em publicações subsequentes.^{1,25,26} Segundo esta teoria, a “dentalgia” não é, necessariamente, resultado de mudanças locais da pressão intrapulpar, mas sim de um estímulo capaz de causar alterações na movimentação dos fluídos dentro dos

túbulos dentinários, com consequente deformação dos odontoblastos e/ou de seus processos e indução da dor via ativação de mecanorreceptores presentes nas terminações nervosas pulpares.^{25,26}

Apesar de nenhuma das teorias apresentadas explicar completamente o fenômeno,³⁰ a mais aceita é a teoria hidrodinâmica, que diz respeito à movimentação de fluido no interior dos túbulos dentinários.^{3-6,8,13,28,69,74} Acredita-se que independentemente do tipo de estímulo inicial, qualquer sensação pulpar ou dentinária é interpretada apenas como dor, não existindo nos receptores das terminações nervosas especializações em calor, frio, estímulo elétrico, osmótico, químico ou desidratação.²⁵

Segundo a teoria hidrodinâmica, o líquido, ou fluido, existente no interior dos túbulos, movimenta-se rapidamente quando ocorre um estímulo, devido a fortes forças de capilaridade. E, através da consequente mudança de pressão, sensibiliza as terminações nervosas presentes nos túbulos dentinários e no complexo dentino-pulpar, ativando mecanorreceptores (nociceptores capazes de serem sensibilizados pelo estímulo mecânico, como o de pressão, por exemplo), levando à descarga neural (estimulação nervosa), com consequente sensação dolorosa.^{4-6,8,74,75}

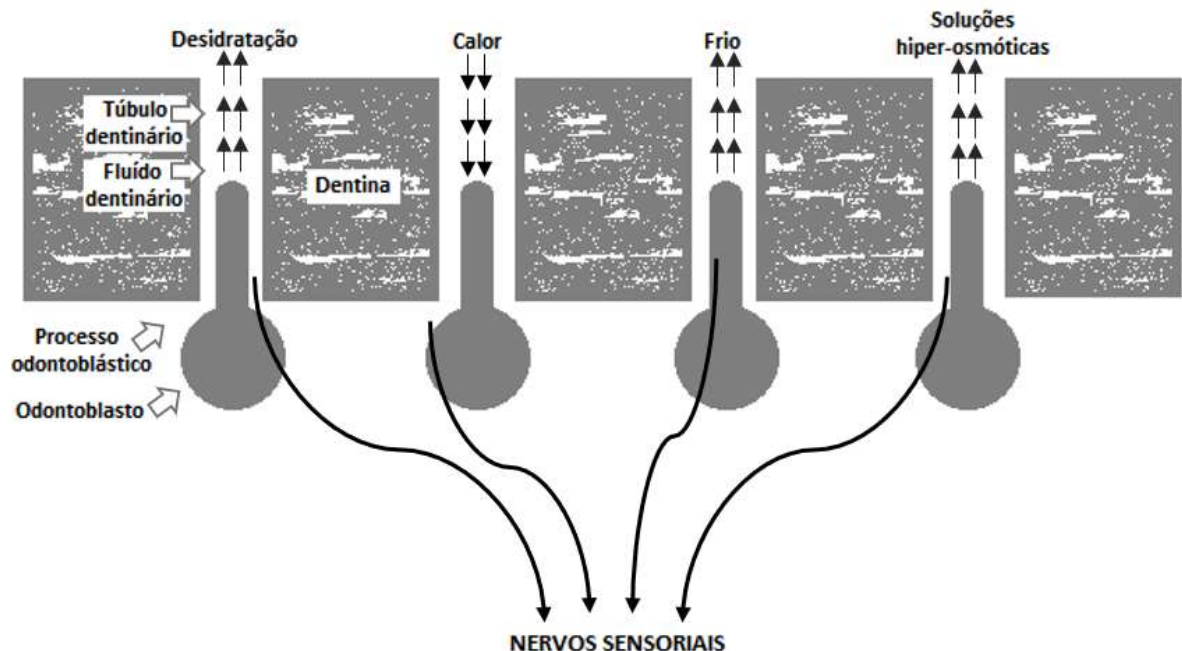
A capilaridade, força capilar, ou ação capilar, é a propriedade dos fluidos de movimentarem-se em estruturas tubulares finas (como os túbulos dentinários), independentemente da força gravitacional, mas dependente do diâmetro dos tubos. Ou seja, quanto menor o diâmetro do tubo, maior a força/pressão capilar envolvida^{76,77}. Há evidências de que quanto maior a pressão e a taxa de movimentação dos fluidos, maior é a resposta das fibras nervosas pulpares.^{8,78}

Acreditava-se, inicialmente, que os odontoblastos e seus prolongamentos eram responsáveis pela transmissão do estímulo de forma direta às fibras nervosas. Porém, os prolongamentos dos odontoblastos adentram apenas uma curta distância nos túbulos dentinários. Além disso, a movimentação de fluidos de forma rápida como ocorre poderia lesionar estes prolongamentos, causando uma inflamação neurogênica pulpar localizada.^{8,79}

Na condição de hipersensibilidade, acredita-se que apesar dos processos odontoblásticos ainda estarem presentes no interior dos túbulos dentinários, eles não se estendem em direção à superfície dentária, mas ficam próximos à polpa. Uma coluna de líquido é que se apresenta até a região mais superficial, devido às forças de capilaridade. Também ocorre uma pressão gradiente direcionada a partir da polpa,

fazendo com que o líquido passe por através da abertura superficial dos túbulos. Quando da dessecação da dentina, por jatos de ar, papéis absorventes, ou soluções desidratantes, o fluído pode movimentar-se numa velocidade de 2 a 3 mm/s.^{27,77} Dentre as soluções desidratantes, podemos exemplificar com soluções hiperosmóticas de sacarose ou cloreto de cálcio. Nestes casos, o resultado é a dor dentinária.⁷⁷ Acredita-se que estímulos frios provocariam sensação dolorosa mais intensa e mais rápida do que quentes, devido ao sentido de movimentação dos fluídos provocada por cada um destes estímulos, ou seja, o frio levaria os fluídos dentinários em direção ao exterior, e o calor em direção ao interior da polpa (ver Figura 1)^{8,78}

FIGURA 1. Esquema dos componentes dentinários



Fonte: Adaptado de Berman, 1984.²⁵

Após a aplicação de diferentes estímulos (desidratação, calor, frio, ou soluções hiper-esmóticas), ocorrerá subsequentemente movimentação do fluído dentinário dentro dos túbulos, e consequente agitação dos prolongamentos odontoblásticos, os quais estão associados aos nervos sensoriais. Esta é a base da teoria hidrodinâmica descrita por Brännstrom.

Mesmo estímulos muito leves seriam capazes de promover essa movimentação de fluído dentro dos túbulos e causar dor.²⁷ Isto poderia ser explicado pelo limiar de dor estar diminuído na polpa com dentina exposta, devido à inflamação pulpar, e também pela transmissão facilitada de estímulo doloroso, condição associada aos túbulos dentinários expostos.²⁷

Um maior número, um maior diâmetro e uma maior abertura dos túbulos dentinários permite maior movimentação do fluído, resultando em sensação dolorosa

mais intensa, características que acompanham os túbulos dentinários de dentes com hipersensibilidade.^{6,8,65,80}

Segundo a lei de Poiseuille, que diz que o fluxo de fluido é proporcional à quarta potência do raio, diferenças no diâmetro dos túbulos indicariam que dentes com hipersensibilidade teriam mais fluxo de fluido do que dentes não sensíveis. Considerando o número de túbulos abertos e o aumento do diâmetro destes, é possível calcular que dentes sensíveis possuem aproximadamente 100 vezes mais movimentação de fluídos do que os não-sensíveis.¹

Considerando isso, observamos que há aumento da hipersensibilidade de acordo com a profundidade de desgaste na superfície dentária, pois o número de túbulos aumenta conforme direcionamo-nos à polpa.¹ No entanto, a literatura não demonstra evidências para possíveis diferenças de hipersensibilidade dentinária entre a porção coronária e a porção radicular, apesar das características estruturais distintas (disposição e diâmetro dos túbulos) destas duas regiões da dentina.³

A dentina exposta pode apresentar-se com certo grau de desmineralização devido aos alimentos e bebidas ácidos e/ou devido à ação do biofilme.²⁷ A microbiota bucal pode favorecer com que microrganismos passem a estabelecer-se dentro dos túbulos, nas regiões mais superficiais.⁸¹ Além disso, sobre a dentina exposta pode ocorrer a formação de uma *smear layer*. No entanto, pesquisas demonstraram que essa *smear layer* possui uma estrutura fina e provavelmente não muito calcificada.⁸² E, portanto, não seria capaz de causar obliteração suficiente para proteger o dente dos gatilhos que provocam a HSDC.

Assim, observamos que o número e a largura de túbulos dentinários expostos e abertos seriam proporcionais ao aumento da transmissão de estímulos e consequente resposta dolorosa.^{4,8}

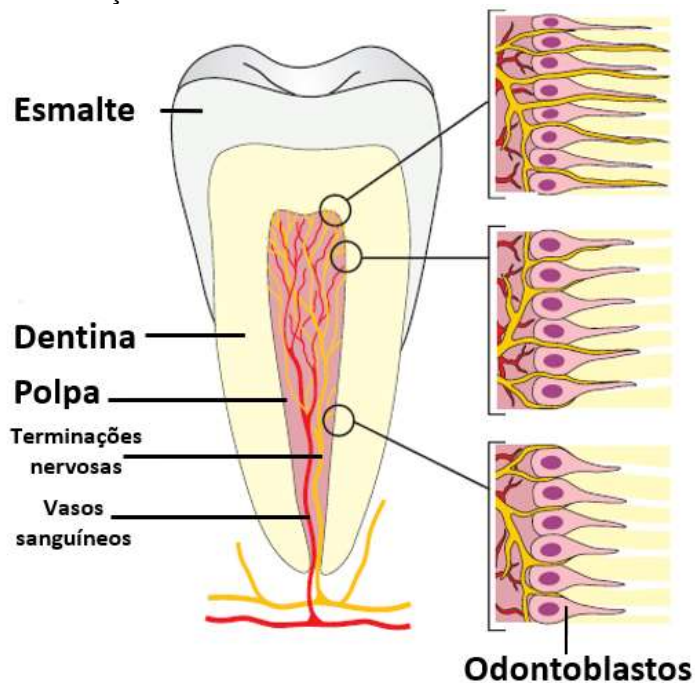
2.1.5.5 Anatomia nervosa pulpar

Nas décadas de 1950, 1960 e 1970, quando os estudos mais famosos de Brännström estavam desenvolvendo os conceitos da teoria hidrodinâmica, percebeu-se que, apesar de ser possível que terminações nervosas adentrem os túbulos dentinários, alcançando uma extensão aproximada de 100 a 150µm, a percepção de estímulos ocorre não apenas devido a terminações, mas também por um complexo de nociceptores localizado na polpa, adjacente à camada de pré-dentina, capazes de

serem estimulados pela movimentação de fluídos que ocorre dentro dos túbulos dentinários.^{27,28,83}

As fibras nervosas presentes na polpa dentária, na região radicular, encontram-se agrupadas, a medida em que se aproximam da polpa coronária, dividem-se em pequenos grupos e ramificam-se extensivamente na região da camada sub-odontoblástica, constituindo o plexo nervoso sub-odontoblástico denominado de plexo de Raschkow.^{28,83-85} Na região de cornos pulpares, a densidade de terminações nervosas é ainda mais alta.^{28,83} A maioria destas ramificações estendem-se, penetrando a pré-dentina e a dentina, ao longo dos túbulos dentinários (ver Figura 2).⁸⁴

FIGURA 2. Esquema da inervação intradental



Fonte: Adaptado de Närhi e colaboradores, 2016.²⁸

Os feixes nervosos entram na polpa via forame apical ou foraminas, e ramificam-se extensivamente, principalmente na região da polpa coronária. A região limítrofe entre polpa e dentina, ou seja, a polpa periférica, corresponde à área mais densamente inervada, onde as terminações nervosas também se estendem, alcançando aproximadamente 100 a 150µm dentro dos túbulos dentinários.

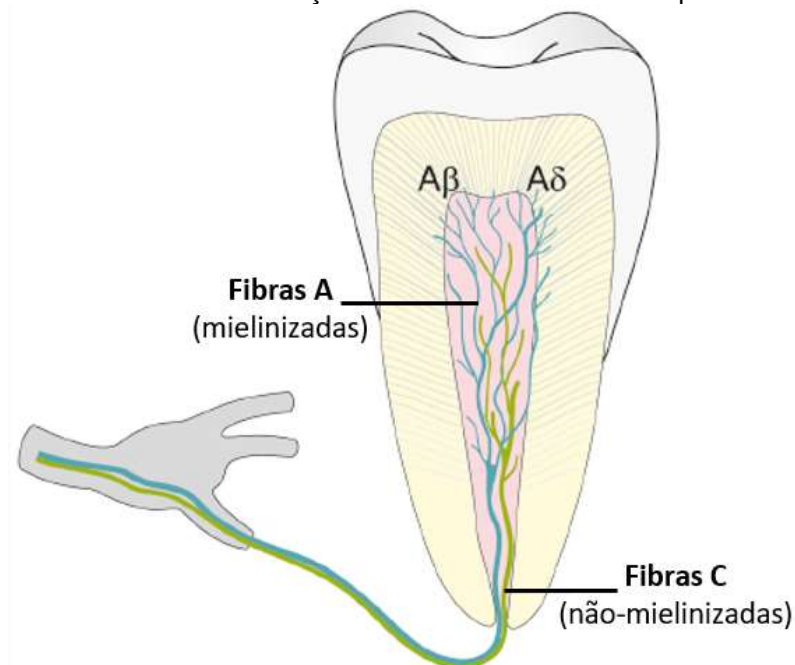
As fibras que estão presentes em maior quantidade na polpa dentária são axônios de neurônios aferentes primários, que se originam no gânglio trigêmeo.^{83,84,86,87} Apenas uma pequena quantidade de nervos da polpa são fibras simpáticas autonômicas (originárias do gânglio cervical superior), associadas com a vasoconstrição pulpar.⁸⁶

Cada dente recebe inervação de milhares de axônios trigeminais, que se ramificam antes de cruzar o forame apical.^{28,85,88,89} Estes neurônios são

predominantemente sensoriais e responsáveis pela percepção de dor,⁸⁶ ou seja, são nociceptores.^{83,90}

As fibras trigeminais pulpares são predominantemente de dois tipos distintos. As fibras do tipo C são não-mielinizadas, constituem aproximadamente 75 a 80% da inervação pulpar, possuem alto limiar de despolarização, e localizam-se mais centralmente na polpa. Enquanto que as fibras do tipo A são mielinizadas, correspondem de 20 a 25% da inervação pulpar, possuem baixo limiar de despolarização, e sua distribuição é ao longo do limite polpa-dentina, penetrando na parte interna da dentina (ver Figura 3).^{28,83,85,90,91}

FIGURA 3. Esquema mostrando a distribuição das fibras interdentais do tipo A e do tipo C



Fonte: Adaptado de Närhi e colaboradores, 2016.²⁸

Fibras C não-mielinizadas estão localizadas na polpa propriamente dita, enquanto que as fibras A mielinizadas estão distribuídas extensivamente na polpa periférica, penetrando na porção interna da dentina.

As fibras nervosas sensibilizadas por estímulos hidrodinâmicos são as do tipo A, predominantemente A δ (93%), presente próximas dos odontoblastos, geralmente ativas por estímulos térmicos (frio ou calor), ar (ambiente ou jato da seringa tríplice), e sondagem.^{1,28,90-92} Em menor quantidade ocorrem as fibras A β (7%), que são condutoras mais rápidas, podendo a velocidade de condução ir de 3 a 60 m/s, e geralmente são ativadas por estímulos do tipo vibração.^{28,90-92} Ou seja, em situações em que a dentina exposta é submetida a, por exemplo, jatos de ar, temperaturas elevadas ou muito baixas, as fibras nervosas do tipo A são responsáveis pela

percepção destes estímulos como dolorosos; portanto, pela hipersensibilidade dentinária.^{28,90,91}

Aproximadamente 10% das fibras pulpares são Aδ de maior calibre, as quais, em situação de normalidade, não estão ativas. Porém, podem passar a exercer função nociceptora quando há inflamação, isto é, quando da sensibilização periférica.^{28,85,93}

Já quando de estímulos térmicos lentos e gradativos, como a aplicação de uma fonte de calor na superfície dentária por tempo suficiente para promover aumento de temperatura da região entre polpa e dentina, ou frio intenso, deformação mecânica, ou ainda lesão pulpar, são ativadas as fibras do tipo C, que são capazes de responder a diversos estímulos e, por isso, recebem o nome de receptores polimodais.^{77,91} Processos inflamatórios e seus mediadores, como bradicinina e histamina, podem ativar as fibras C, sendo que quanto mais avançado estiver o processo inflamatório, maior é a ação sobre a ativação das fibras C.^{28,91}

As fibras C possuem velocidade de condução lenta, de 0,5 a 2,5 m/s; e na polpa dental, a maioria é sensorial, porém aproximadamente 10% é simpática.^{28,90–92} São responsáveis por conduzirem a dor persistente, intensa e de longa duração.^{28,91}

O sinal de dor é conduzido através das fibras C não-mielínicas e de fibras Aδ mielínicas de neurônios sensoriais primários até neurônios secundários, os quais estão presentes na medula espinhal, e, então, via tálamo, atingem o córtex cerebral.⁹⁴

As fibras nervosas A e C, quando ativadas, liberam peptídeos biologicamente ativos, conhecidos como “neuropeptídeos”, os quais influenciam a atividade e o funcionamento neural.^{28,95} Os neuropeptídeos são classificados de acordo com as fibras nervosas que os originaram, são sensoriais se sintetizados no gânglio trigêmeo, ou simpáticos se sintetizados no gânglio cervical superior.^{28,96}

Os neuropeptídeos CGRP (peptídeo relacionado ao gene da calcitonina), SP (substância P), e a NK-A (neurocinina A) são exemplos de neuropeptídeos sensoriais. Já o NPY (neuropeptídeo Y) é simpático, liberado juntamente com a noradrenalina. O NPY modula funções imunes e promove vasoconstrição. Já os neuropeptídeos sensoriais SP, CGRP e NK-A possuem ação vasodilatadora, sendo que a SP também promove aumento da permeabilidade capilar.^{28,97} Os neuropeptídeos mais abundantes na polpa dentária são o CGRP e a SP.^{28,98}

2.1.5.6 Inflamação neurogênica

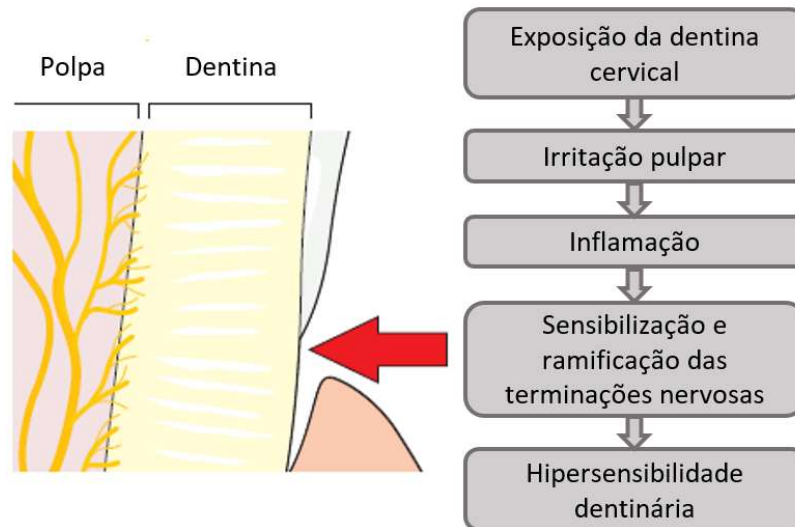
Quando um processo inflamatório se estabelece, uma de suas consequências são as mudanças estruturais das fibras nervosas, que se ramificam extensivamente. Com mais ramos nervosos, a liberação de neuropeptídeos aumenta, resultando na chamada “inflamação neurogênica”.^{28,99,100} Neste contexto, estudo experimental de Haug e Heyeraas (2003)¹⁰¹ sobre os efeitos de simpatectomia unilateral em pulpíte e lesão periapical bilaterais de ratos, assinalou que parece existir aumento das concentrações de CGRP e de SP nos estágios iniciais da inflamação pulpar, enquanto que nos estágios crônicos houve aumento de NPY.¹⁰¹

A ação dos neuropeptídeos liberados não se limita ao vascular, mas também podem atrair e ativar células imunes, como os linfócitos T, por exemplo.^{28,102,103} Uma vez que há recrutamento das células para o local da inflamação, passam a ser liberados mediadores inflamatórios, como citocinas, histamina, bradicinina, prostaglandina, leucotrieno, dentre outras substâncias.^{28,104,105}

Contudo, o mecanismo pelo qual um determinado estímulo é transmitido desde a dentina periférica até as terminações sensoriais localizadas na região do limite dentina-polpa ainda não está completamente elucidado.^{27,28,106} Pesquisas têm indicado que a movimentação de fluídos nos túbulos é traduzido em sinais elétricos pela ativação de canais de íons mecanossensíveis localizados nos terminais dos axônios.^{28,106–108} Nos casos de hipersensibilidade dentinária, acredita-se que ocorra um aumento na densidade dos canais de sódio (novos canais são expressos) e/ou a sensibilização destes canais, na região onde ocorre a exposição dentinária.²⁸

Nos casos de HSDC, após a exposição da dentina cervical, irritantes externos não nocivos podem induzir a um processo de inflamação local no limite dentina-polpa, o que levaria a um aumento na ramificação das terminações nervosas e, conseqüentemente, ao aumento na densidade da inervação. Isto promove a liberação de neuropeptídeos e de mediadores inflamatórios em maior quantidade, gerando aumento da sensibilidade dentinária, ou seja, sensibilização das terminações dos nociceptores (ver Figura 4).²⁸

FIGURA 4. Possíveis mecanismos neurogênicos envolvidos no processo de sensibilidade dentinária cervical

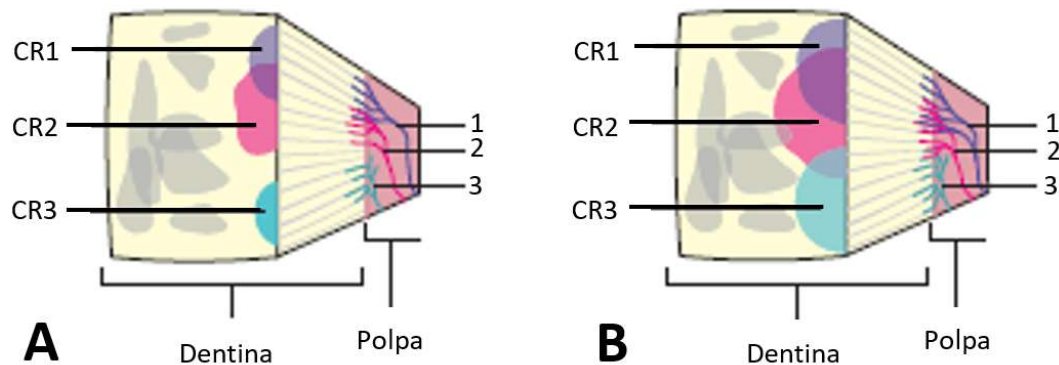


Fonte: Adaptado de Närhi e colaboradores, 2016.²⁸

Quando há recessão gengival, agentes irritantes externos seriam capazes de promover a inflamação local na polpa periférica, e resultar na ramificação das terminações nervosas com consequente aumento da inervação, ou seja, uma inervação mais extensiva estaria presente nos tecidos pulpares dos dentes com recessão do que naqueles de dentes saudáveis. Isto seria capaz de aumentar a sensibilidade devido a maior liberação de neuropeptídeos e de outros mediadores inflamatórios, os quais teriam potencial de sintetizar as terminações nervosas nociceptivas.

Além do aumento na liberação de nociceptores e de mediadores inflamatórios, na polpa com HSDC, as referidas ramificações das terminações têm como consequência o aumento dos chamados “campos receptores” das fibras nervosas, gerando sobreposição dos mesmos. Estes campos correspondem à área na qual um único neurônio pode ser ativado, assim, o estímulo sobre uma pequena região na dentina passa a promover a ativação de vários neurônios, devido à sobreposição dos campos receptores. Este mecanismo de “brotamento” de axônios, portanto, também colabora para o aumento da sensibilidade dentinária (ver Figura 5).²⁸

FIGURA 5. Representação esquemática, em blocos de dentina, dos campos receptivos de fibras nervosa intradentais



Fonte: Adaptado de Närhi e colaboradores, 2016.²⁸

Em **A**, dente saudável. Em **B**, dente com inflamação pulpar. **1 (azul), 2 (magenta) e 3 (ciano)** representam três fibras nervosas e suas terminações, presentes na polpa periférica. Cada fibra nervosa

está expressa com a cor correspondente aos seus campos receptivos, na superfície dentinária exposta. Os campos receptivos (**CR**) das fibras nervosas em B (polpa com inflamação) estão consideravelmente mais amplos e com maior área de sobreposições do que em A (polpa saudável). Consequentemente, a irritação de uma determinada área da dentina resulta na ativação de um número consideravelmente mais alto de fibras nervosas e em uma maior sensibilidade no dente com polpa inflamada, quando comparado com o dente saudável.

Recentemente foram descobertos receptores presentes em nociceptores da polpa capazes de responder a estímulos irritantes polimodais, como calor, acidez, estímulos inflamatórios, e também responder à capsaicina (ingrediente picante das pimentas). Trata-se do TRPV1 (receptor de potencial transitório, subtipo valinóide 1), que estimula as fibras C e A δ .⁷⁷ Outros estudos têm apontado que as células odontoblásticas expressam canais de potássio e de sódio mecanossensíveis, ou seja, os próprios odontoblastos, ao contrário do que se acreditava até então, são capazes de perceber estresse mecânico causado pela movimentação de fluído dentinário.⁶⁹ Estudos em cultura de células apontaram a existência de canais nas células odontoblásticas, que seriam responsáveis por auxiliar nas funções dos odontoblastos, como a formação de dentina, além de agir, não só como receptor mecânico, mas também como receptor térmico, detectando estímulos realizados na superfície da dentina exposta. Tais receptores também já foram encontrados em fibroblastos da polpa dentária.⁶⁹

2.1.5.7 Substância P (SP): descoberta da molécula, suas ações no organismo, e associação com a inflamação neurogênica

A substância P (SP) foi descoberta na década de 1930, isolada a partir de tecidos cerebrais e intestinais de equinos, e inicialmente considerada como responsável por auxiliar na contração de músculos lisos.¹⁰⁹ Sua denominação, “substância P”, é uma referência ao pó (*powder*) que se originava do seu processo de extração.¹⁰⁹ A associação desta molécula com a transmissão de dor, ou seja, sua interpretação como um neurotransmissor só aconteceu, segundo revisão de literatura de Harrison & Geppetti (2001),¹⁰⁹ com os trabalhos de Lembeck, de 1953, e de Otsuka e Konishi, de 1976.

A substância P é um neurotransmissor liberado por terminações nervosas centrais (SNC) e periféricas (SNP) de neurônios aferentes.¹⁰⁹ É um aminoácido estudado como pertencente ao sistema neuroendócrino difuso (SNED), o qual é constituído por células do sistema nervoso central (SNC) e periférico (SNP), além de

células endócrinas e neurônios peptidérgicos presentes em todos os órgãos do corpo, capazes de liberar aminoácidos ou peptídeos que atuam como neurotransmissores.¹¹⁰

Este peptídeo, composto por 11 aminoácidos, foi classificado dentro da família de moléculas chamadas taquicininas,^{109,111} juntamente com as neurocininas A (NK-A) e B (NK-B), uma vez que todas estas estruturas possuem a mesma sequência terminal carboxílica.^{94,109} O gene pré-protaquicininina-A (PPT-A) é precursor e responsável por codificar, nos mamíferos, a substância P, a neurocinina A, o neuropeptídeo K (NPK) e o neuropeptídeo Y (NPY).^{94,109,111}

A transcrição do gene PPT-A resulta em três diferentes mRNAs que codificam a substância P (α PPT-A, β PPT-A e γ PPT-A). Assim, é possível observar grande quantidade da expressão da substância P e dos seus mRNAs em ambos sistema nervoso central (SNC) e periférico (SNP).¹⁰⁹ Sendo que a expressão do mRNA α PPT-A é mais significativo no cérebro, e a expressão dos mRNAs β PPT-A e γ PPT-A é maior nos tecidos periféricos.¹⁰⁹ Neurônios que passam por processos de ativação ou processos danosos podem levar à indução maior ou menor da expressão do gene do neuropeptídeo, com consequentes mudanças na biossíntese deste, como exemplo citamos os processos inflamatórios agudo e crônico.¹⁰⁹ A inflamação periférica é capaz de aumentar a imuno-reatividade da substância P na medula espinhal e também a sua liberação.¹⁰⁹

A substância P é sintetizada nos ribossomos e armazenada em vesículas presentes no corpo celular (pericário) de neurônios sensitivos. Estas células estão presentes na raiz dorsal do gânglio trigeminal, o qual é essencial para a transmissão do estímulo à medula espinhal.^{94,112}

Após sua produção e armazenamento, a SP é transportada, através dos axônios, para as regiões central e terminais dos ramos periféricos,^{94,112,113} sendo que aproximadamente 80% da SP produzida é destinada às regiões terminais, para então ser metabolizada enzimaticamente.⁹⁴ As enzimas envolvidas incluem a NEP (endopeptidase neutra) e a ACE (enzima conversora de angiotensia).^{94,109,110}

Os receptores de taquicininina (neurocinininas NK₁, NK₂ e NK₃) são receptores acoplados à proteína G (GPCRs) responsáveis por mediar as ações da substância P, principalmente o NK₁, com o qual a SP possui maior afinidade. A concentração do neuropeptídeo no tecido determinará o quanto dele irá ligar-se aos outros receptores (NK₂ e NK₃), isto ocorre tanto para a SP quanto para as demais taquicinininas com afinidades para os receptores mencionados, assim, a identificação da presença de SP

no tecido pode não ser bem estimada se considerarmos apenas a expressão do seu principal receptor.^{94,109-112} Os referidos receptores estão presentes nas células de defesa, como nos macrófagos, eosinófilos, linfócitos, nas células T e dendríticas.^{110,111}

Em regiões de inflamação crônica, os macrófagos funcionam como uma fonte de substância P, sendo que nestas células há mediadores, como algumas interleucinas, que regulam a expressão de mRNA para SP.¹¹¹ As células responsáveis pela secreção da SP são, portanto, neurônios e células inflamatórias.¹¹⁰

A liberação da substância P e de outras taquicinininas pelas terminações nervosas periféricas tem como uma de suas possíveis consequências a inflamação neurogênica, ou seja, trata-se da ação de neuropeptídeos pró-inflamatórios sobre células epiteliais e imunes.^{109,110} Tais respostas dos neuropeptídeos sensoriais podem ser observadas em doenças inflamatórias dos sistemas musculoesquelético, respiratório e gastrointestinal, bem como nos processos de inflamação pulpar.¹¹⁰

Predominantemente, como consequência da liberação de SP, ocorre vasodilatação de arteríolas com extravasamento de proteínas plasmáticas pelos capilares venosos (permeabilidade vascular), e adesão leucocitária ao endotélio de capilares venosos.^{109,110} Também pode ocorrer relaxamento ou contração da musculatura lisa da bexiga e ureter, transporte de íons epiteliais, broncoconstrição, alterações na força de contração e ritmo cardíacos (efeitos ionotrópicos e cronotrópicos), e alterações imunes no trato gastrointestinal.^{109,110}

Citando a atuação da SP, e/ou a sobre-regulação do NK₁, nas doenças inflamatórias neurogênicas, temos: infecções respiratórias associadas a vírus, rinite alérgica, asma (geralmente há hiper-responsividade à SP e/ou à expressão de NK₁), sarcoidose e tosse não-produtiva; doenças inflamatórias intestinais; e na artrite reumatoide.¹¹⁰

A presença dos neuropeptídeos na polpa dentária é importante na regulação da homeostase e também durante os processos de inflamação neurogênica. Dentre os neuropeptídeos que exercem papel de destaque no tecido pulpar estão: neurocinina A (NK-A), neuropeptídeo Y (NPY), peptídeo vasoativo intestinal (VIP), peptídeo relacionando ao gene da calcitonina (CGRP) e a substância P (SP).¹¹²

Na polpa dental, a inflamação neurogênica associada com a SP é capaz de promover vasodilatação, aumento do fluxo sanguíneo e da permeabilidade vascular.¹¹⁴

2.1.5.8 Substância P (SP): sensibilização periférica e associação com a dor de origem dentária

A polpa dentária é um tecido conjuntivo ricamente innervado e vascularizado, cercado por tecido mineralizado dentinário, o qual limita a chegada de células de defesa, e o aumento de volume decorrente de processos inflamatórios. As fibras nervosas responsáveis pela sensação dolorosa ocorrem em alta concentração no tecido pulpar. Processos capazes de gerar danos à polpa, como por exemplo, cariosos ou a movimentação ortodôntica, podem levar a um aumento no número de fibras nervosas.⁹⁴

Nos momentos de homeostase tecidual, a SP auxilia na manutenção do tônus vascular, assegurando fluxo sanguíneo contínuo e aporte de nutrientes ao tecido, além de regular a pressão pulpar intersticial e estimular o crescimento celular de fibroblastos e de odontoblastos.¹¹²

A expressão dos receptores das taquicininas (NK₁, NK₂ e NK₃) está presente em tecidos dentários e de suporte, principalmente nas células dos tecidos duros (odontoblastos e ameloblastos), nas células epiteliais (restos epiteliais de Malassez e epitélio gengival), nos fibroblastos da polpa e do ligamento periodontal, e no endotélio (capilares e vasos sanguíneos menores, e no plexo capilar próximo à dentina).⁹⁴

As concentrações da SP no tecido hígido colaboram com a homeostase do mesmo, principalmente quanto ao fluxo sanguíneo e ao reparo tecidual. Porém, sabe-se que há maior concentração de neuropeptídeos na polpa e no fluido gengival de dentes submetidos a fenômenos álgicos.^{115,116} Estímulos externos, como a presença de lesões cariosas, inflamações pulpares, como a pulpíte, e granuloma, ou, então, procedimentos odontológicos, como preparo de cavidade, movimentação dentária e clareamento dental, podem promover a liberação exagerada de SP. As consequências dessa concentração maior de SP no tecido pulpar incluem a vasodilatação e aumento do fluxo sanguíneo. Além disso, também há maior liberação de histamina pelos mastócitos, o que leva à aumento da permeabilidade vascular e da pressão sanguínea. Devido aos receptores NK presentes nas células de defesa, como linfócitos, granulócitos e macrófagos, a SP estimula estas células a produzir citocinas e mediadores pró-inflamatórios. E também promove quimiotaxia de células inflamatórias para o tecido pulpar.^{94,110,112,113,117}

Quanto às reações inflamatórias responsáveis pela dor de origem dentária, entendemos que ocorrem mecanismos moleculares de dor periférica que são

similares ao que observamos em outras partes do corpo, ou seja, trata-se do fenômeno da sensibilização de nociceptores.⁹⁴

Traumas e injúrias teciduais promovem estimulação do sistema nervoso, e, como consequência, ocorrem modificações nos receptores, nos canais iônicos, nas sinapses, e na distribuição de neuromediadores e neurotransmissores. De um modo geral, todos esses processos facilitam a condução nervosa, diminuindo o limiar de despolarização das fibras nervosas, gerando ou a alodínia, ou seja, a interpretação de dor para estímulos que antes eram inócuos, ou a hiperalgesia, que é a resposta exacerbada à estímulo doloroso de baixa intensidade.¹¹⁸

A sensibilização e a ativação dos nociceptores ocorre devido a uma lesão tecidual ou injúria/agressão local, sejam químicos, térmicos, mecânicos ou biológicos. Os fatores que levam à sensibilização e/ou ativação dos nociceptores iniciam-se a partir da detecção dos estímulos ambientais através de receptores e de canais iônicos presentes nas terminações dos nociceptores.⁹⁴ Após a agressão ao tecido, ocorre a produção de neuromediadores inflamatórios,⁹⁴ liberados por células de defesa, como os mastócitos e os macrófagos, mas também por células nervosas e endoteliais.¹¹⁸

A substância P é um neuromediador inflamatório. Assim como ele, existem outros, a citar: interleucinas, fator de ativação plaquetário, fator de crescimento nervoso (NGF), prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos, acetilcolina, bradicinina, íons potássio (K^+), e radicais ácidos. Uma vez liberadas, estas moléculas ligam-se à receptores específicos que estão expressos nos nociceptores,⁹⁴ ativando-os. Mais especificamente, estamos falando das fibras nervosas do tipo A δ e, principalmente, das fibras C.^{112,116,118} A partir de então, são iniciados os processos de sinalização celular (via da fosfolipase C, cascata da proteína quinase C (PKC), AMPc e ativação da PKA) para a ativação e produção de mensageiros secundários. Como consequência, há liberação de mais mediadores inflamatórios, estimulação da liberação da SP, e diminuição do limiar de despolarização das fibras nervosas, facilitando a transmissão de impulsos dolorosos, ou seja, levando à hiperalgesia.^{94,118}

A localização dos receptores NK₁ na polpa dentária foi estudada por Kido e colaboradores (2005), utilizando ratos.¹¹⁴ Foi observada a presença da molécula na membrana plasmática e nos processos citoplasmáticos dos odontoblastos, nas terminações nervosas associadas aos processos citoplasmáticos, e também nas células endoteliais e nos fibroblastos localizados na camada sub-odontoblástica. Tais

achados sugerem a função fisiológica da SP no complexo dentino-pulpar, bem como o envolvimento da SP na nocicepção da polpa.¹¹⁴

O estudo de Wakisaka e Akai (1989)⁹⁶ demonstrou a distribuição da SP na estrutura pulpar: há fibras nervosas que expressam a SP e que, passando pela camada de odontoblastos, adentram a pré-dentina, ficando ali localizadas as suas terminações nervosas livres.⁹⁶

Em suma, os neuromediadores periféricos, como a substância P, prolongam e facilitam a despolarização da membrana dos neurônios, contribuindo para o surgimento dos fenômenos de hiperalgesia e de alodínia.^{114,118}

2.1.6 Manejo e tratamentos

No manejo da HSDC, sempre que possível, os fatores causais e predisponentes deveriam ser primariamente removidos ou modificados, considerando que os tratamentos atualmente disponíveis têm um sucesso de curto prazo.¹ Neste contexto, algumas estratégias são importantes de serem conduzidas. Como exemplos, podemos citar uma abordagem em que o cirurgião-dentista solicita um diário da dieta a ser mantido durante um determinado período, a fim de identificar fatores predisponentes, como problemas gástricos, e investigação de questões delicadas de componente psicológico, como a bulimia. Orientações quanto à maneira, a frequência e o momento da escovação podem diminuir a erosão causada pela escovação realizada em ambiente recentemente ácido, e também elucidar questões como pressão e técnicas de escovação utilizadas pelo paciente, com o objetivo de evitar recessão gengival.¹ Considerar a necessidade de ajustes oclusais é interessante, pois seria preventivo quanto a abfrações.²⁹

Os tratamentos podem ser realizados a fim de reduzir a movimentação de fluídos nos túbulos (através da utilização de agentes bloqueadores/obliteradores da embocadura dos túbulos dentinários), bloquear a resposta nervosa pulpar (usando agentes dessensibilizantes), ou ambos.

Os agentes dessensibilizantes atuam sobre os mecanorreceptores presente no complexo dentina-polpa, interrompendo a ativação neural e a transmissão dolorosa. Os dessensibilizantes mais utilizados são nitrato de potássio ou cloreto de potássio,¹ mas também exercem mecanismo similar os lasers de baixa intensidade.¹¹⁹

A movimentação de fluídos pode ser minimizada através de agentes físicos ou químicos que induzem a formação de *smear layer* ou o bloqueio dos túbulos dentinários, promovendo diminuição ou bloqueio do estímulo.¹ Dentre os agentes capazes de bloquear os túbulos dentinários estão: resina composta, cimento de ionômero de vidro (CIV) e adesivos dentinários; cloreto ou acetato de estrôncio; oxalatos de alumínio, de potássio ou férrico; materiais contendo sílica ou cálcio; e precipitantes de proteínas.¹

Dentre os tratamentos mais frequentemente realizados para a hipersensibilidade dentinária estão o uso de formulações contendo flúor (géis, vernizes, pastas ou enxaguantes), agentes dessensibilizantes, como dentifrícios contendo nitrato de potássio, ou formulações contendo o monômero hidroxietilmetacrilato (HEMA) e o dessensibilizante glutaraldeído, adesivos dentinários, selantes, tratamentos restauradores, aplicação de lasers, oxalatos, dentre outros. A combinação destes métodos também é bastante comum, sendo que a combinação da aplicação de verniz fluoretado simultaneamente à prescrição do uso de dentifrícios contendo nitrato de potássio está entre as opções de tratamento mais comumente observadas.³⁰ Além disso, Dababneh e colaboradores (1999),⁸ em revisão de literatura, concluíram que a utilização de agentes dessensibilizantes seria capaz de trazer melhora do quadro de HSDC para a maioria dos casos.⁸ Tal recomendação foi reproduzida pelo *Canadian Advisory Board on Dentin Hypersensitivity* (2003).¹

Contudo, apesar dos muitos estudos sobre a HSDC e da grande variedade de substâncias, sejam obliteradoras ou dessensibilizadoras, ainda não há um tratamento universalmente usado ou de alta confiabilidade para o tratamento da HSDC, que traga resultados imediatos, proporcionando conforto ao paciente, que seja resistente ao agressivo ambiente bucal, e que tenha alta eficiência e longevidade. Bem como, não há um tratamento considerado “padrão ouro”, o qual poderia auxiliar ou nortear novas descobertas terapêuticas.^{2,8,29-31}

Além do manejo inicial, e da utilização de tratamentos disponíveis, o acompanhamento do paciente é necessário, principalmente se existir persistência da dor, o que pode requerer revisão das hipóteses diagnósticas. Em casos de a dor cessar após o tratamento implementado, porém retornar após um certo período, é necessário revisar o exame clínico, em busca de possíveis condições causais ou predisponentes não observadas anteriormente. Em alguns casos, técnicas mais

invasivas podem ser necessárias, como, por exemplo, a cirurgia de retalho mucogengival para recobrimento radicular, ou a aplicação de resinas compostas (para selar os túbulos), ou, ainda, pulpectomia.^{1,5,120}

A seguir descrevemos algumas das principais formas de tratamento disponíveis atualmente, tanto aquelas utilizadas pelo clínico, como aquelas que ainda estão sendo pesquisadas.

2.1.6.1 Agentes obliteradores dos túbulos dentinários

A obliteração dos túbulos pode ocorrer naturalmente, como mecanismo de defesa da polpa, levando à autorresolução do problema. A polpa promove a formação de dentina atubular irregular, formando uma barreira impermeável, com fechamento dos túbulos e bloqueio da transmissão de estímulo doloroso. Em regiões de maior exposição dentinária, além de ocorrer a formação da dentina irregular, a dentina peritubular pode naturalmente sofrer aumento na sua espessura, obliterando a luz dos túbulos dentinários, ou seja, um processo de esclerose dentinária. Além destes dois mecanismos dependentes de processos internos do dente, externamente pode ocorrer o bloqueio superficial de modo natural, ou seja, condições ambientais de pouco ataque ácido podem corroborar para a mineralização do biofilme, obliterando os túbulos dentinários outrora expostos.^{27,121}

Além das condições naturais abordadas, a obliteração de túbulos dentinários pode ser feita de forma artificial e superficial, ou seja, através da aplicação de substâncias sobre a região de dentina exposta. Estas substâncias poderiam tanto realizar uma obliteração mecânica, como promover uma mineralização superficial.

Porém, quando se trata da lesão em região cervical, é importante destacar uma condição inerente à sua localização e que dificulta a retentividade da maioria das substâncias tradicionalmente desenvolvidas para a obliteração de cavidades dentárias. Por exemplo, a utilização de hidróxido de cálcio como capeamento pulpar (direto ou indireto) é capaz de induzir mineralização e obliteração de túbulos dentinários; contudo, a sua retenção em região cervical (seja em região de simples recessão gengival, ou de lesão cervical não cariosa provocada por abrasão ou erosão) é difícil de ser obtida.²⁷

A obliteração artificial e superficial pode ser obtida através de resina composta ou verniz. Uma das formas primeiramente estudadas e utilizadas no controle da

hipersensibilidade dentinária foi a obliteração superficial dos túbulos dentinários através de incrementos de resina.²⁷

Também é possível a utilização de substâncias que estimulam a mineralização com consequente obliteração superficial, como exemplos citamos a aplicação de flúor, estrôncio, ou resinas que contenham flúor em sua composição.²⁷

Componentes abrasivos presentes nos dentifrícios, como alumina, sílica, carbonato de cálcio, dentre outros, contribuem para uma obstrução parcial ou completa dos túbulos dentinários.¹²¹

A obliteração superficial, além de diminuir a intensidade do estímulo doloroso às terminações nervosas pulpares (e a dor consequente deste processo), também evita a chegada de material irritante até a polpa, como toxinas provenientes do biofilme e invasão bacteriana, o que pode reduzir o processo inflamatório na polpa.²⁷ Acredita-se que a oclusão de túbulos constitui o modelo de tratamento mais favorável atualmente para a HSDC.⁶⁸

Quando pretende-se realizar a aplicação de materiais capazes de obliterar túbulos dentinários, é importante considerar que a dentina exposta pode possuir em sua superfície débris e *smear layer* amorfa, a avaliação desta superfície é necessária para determinar se existe a necessidade da remoção prévia destas estruturas, ou se os túbulos já encontram-se suficientemente abertos para o recebimento do material terapêutico local.²⁷ Outra consideração relevante é remover apropriadamente o líquido que preenche os canais tubulares, e que flui para a superfície devido à força gradiente, para tornar a superfície de aplicação do material estável em umidade.²⁷ Além disso, a efetividade dos agentes obliteradores aplicados sobre os túbulos dentinários expostos, depende de sua resistência ao ambiente ácido bucal.⁶⁸

Acredita-se que, a partir do momento em que há diminuição ou remoção da dor, o paciente estaria mais inclinado à escovação, contribuindo para a formação de uma camada mineralizada.²⁷

2.1.6.1.1 Oxalatos

Os oxalatos já são usados há algum tempo, e possuem boa aceitação entre os cirurgiões-dentistas,¹²² sendo que aproximadamente 40% dos cirurgiões-dentistas optam pelos oxalatos no tratamento da HSDC.^{122,123}

A utilização dos oxalatos passou a ocorrer no final da década de 1970, e dentre as suas características destacamos a capacidade de diminuir a movimentação de fluído dentro dos túbulos dentinários,^{122,124–127} e de formar precipitados dentro dos túbulos, o que promove bloqueio da movimentação do fluído.^{59,122}

Essa capacidade de obliteração de túbulos atribuída aos oxalatos decorre da reação de íons de oxalato com íons de cálcio presentes no fluído dentinário. Esta reação produz cristais insolúveis de oxalato e cálcio, os quais são depositados na abertura dos túbulos.^{68,126}

Estudo de Absi e colaboradores (1995) demonstraram instabilidade dos oxalatos em ambiente ácido, com fácil desprendimento da superfície dentinária.^{68,128} No entanto, estudos mais recentes (2005) indicaram uma relativa insolubilidade do precipitado de oxalato em ácido, o que caracteriza uma vantagem no tratamento da HSDC.^{122,129}

Alguns dos sais de oxalato existentes atualmente no mercado e comumente usadas são formulações que podem conter: potássio, citrato, sais férricos, dipotássio e monohidrogênio monopotássio.^{68,122}

Contudo, estudos tem demonstrado que o resultado final do tratamento com os oxalatos não difere de um tratamento placebo para a HSDC, com a possível exceção do oxalato de monopotássio monohidrogênio a 3%.^{121,122,130}

2.1.6.1.2 Agentes adesivos, selantes, resinas e cimento de ionômero de vidro (CIV)

Ionômero de vidro, resina reforçada com ionômero de vidro, primers adesivos, e sistemas adesivos resinosos constituem uma das opções de tratamento disponíveis para HSDC.⁶⁸ Sua ação contra a HSDC se dá pelo selamento da embocadura dos túbulos dentinários, evitando a transmissão dos estímulos causadores da dor.^{27,120,131}

No entanto, a utilização destes sistemas deve ser particularmente cuidadosa se existir pouca perda tecidual, o que tornaria a região pouco retentiva para os sistemas adesivos. Bem como, durante a aplicação deve-se evitar realizar sobre-contorno nas margens, o que promove a criação de sítios retentivos de biofilme e leva à inflamação gengival. Outro aspecto a ser considerado é o estilo de escovação do paciente, ou seja, se for excessiva em força e/ou frequência pode levar ao desgaste destas restaurações, e à consequente necessidade de troca prematura das mesmas.⁶⁸ A utilização destes métodos de obliteração de túbulos está indicada nos

casos em que os demais recursos disponíveis para o tratamento da HSDC apresentarem falhas ou insucessos.¹²⁰

2.1.6.1.3 Fluoretos

Dessensibilizantes contendo diferentes concentrações de flúor ou fluoretos podem promover obstrução parcial ou total dos túbulos dentinários, reduzindo a HSDC e o desgaste dentário.^{121,132,133}

Os fluoretos estão disponíveis à população em preparações como dentifrícios e soluções enxaguantes. Quanto ao uso profissional, estão presentes em vernizes fluoretados, em géis de aplicação tópica, e também em soluções enxaguantes.¹²¹

O principal mecanismo de ação dos fluoretos quanto ao alívio dos sintomas da HSDC consiste na sua característica química de formar precipitados compostos por fósforo e cálcio, ou seja, por fluoreto de cálcio (CaF_2) e fluorapatita (FAP). Estes precipitados reduzem ou bloqueiam os movimentos dos fluídos presentes nos túbulos dentinários.^{121,134}

No entanto, os efeitos, sobre a HSDC, dos fluoretos presentes nos dentifrícios são considerados modestos, devido ao fato dos íons de flúor não contribuírem diretamente para a oclusão dos túbulos dentinários.¹²¹ Preparações contendo fluoretos possuem efeito sobre a HSDC quando combinados com agentes capazes de obstruir a movimentação dos fluídos dentinários, como íons metálicos, potássio e oxalatos.¹²¹

Em revisão de literatura de 2013, Petersson destacou estudos que encontraram melhora significativa no alívio dos sintomas da HSDC, imediata e contínua, ao utilizar dentifrício contendo fluoreto de estanho (SnF_2) a 0,45% em comparação com o controle, um dentifrício contendo monofluorofosfato de sódio (MFP) a 0,76%. Outros estudos clínicos demonstraram resultados similares para um dentifrício contendo 1450 ppm de flúor em MFP, carbonato de cálcio, e arginina a 8% (agente obliterador).¹²¹

Além disso, estudos demonstraram que o flúor gel acidulado possui efeitos similares na diminuição da hipersensibilidade dentinária, quando comparado com agentes como Gluma Desensitizer® (glutaraldeído em veículo resinoso), Seal and Protect® (flúor e triclosan), Oxa Gel® (oxalato-potássico monohidrogenado), e laser de baixa potência.^{121,135} O flúor gel neutro também possui potencial de reduzir a

intensidade da dor na HSDC, tendo seu efeito potencializado se associado com a aplicação de laser.¹²¹

Vernizes fluoretados são usados extensivamente no tratamento da HSDC, com efeito significativo no alívio da dor, de forma imediata e também estendendo o seu efeito por várias semanas.^{68,121} Devido à capacidade do verniz de permanecer durante horas sobre a superfície dentária em que é aplicado e de penetrar nos túbulos dentinários, há melhores condições para a liberação de concentrações mais altas de íons de flúor, os quais reagem com íons presentes na superfície da dentina, produzindo precipitado de cálcio e fosfato, a hidroxiapatita (HA) e o fluoreto de cálcio (CaF_2), com consequente bloqueio dos túbulos por tempo significativo.^{68,121}

Apesar dos fluoretos serem considerados agentes efetivos no controle da HSDC, sua ação, na verdade, é modesta considerando dentifrícios com 1000 e 1500 ppm de flúor, compostos contendo NaF (fluoreto de sódio), MFP (monofluorofosfato de sódio), ou AmF (fluoreto de amina). O uso clínico de fluoretos como enxaguantes bucais, na formulação de géis, e na de verniz mostra eficácia aceitável para o controle da HSDC, quando comparado com outros métodos.¹²¹ Já o emprego de fluoretos em associação com agentes com propriedade obliteradoras, como íons metálicos, sílica, nitrato e oxalato, pode promover aumento dos efeitos positivos quando do tratamento da HSDC.¹²¹

2.1.6.1.4 Sais de estanho

Produtos contendo estanho tem sido usado com segurança na odontologia, apesar de seu mecanismo de ação ainda não ter sido completamente compreendido quanto ao seu uso no tratamento da HSDC.¹²⁰ Estudos *in vitro* mostraram que soluções e géis de sais de estanho são capazes de precipitar sobre a dentina, induzindo a formação de uma camada calcificada com alto conteúdo mineral, capaz de promover a oclusão dos túbulos. Este precipitado é resistente à água e a ácido, além de ter efeito protetor sobre a *smear layer* em relação à ação ácida.^{12,68,120,131}

Apesar de dentifrícios contendo fluoreto de estanho possuírem o potencial de causar descoloração da superfície dentária,¹²¹ estudos clínicos demonstraram a eficácia dos sais de estanho no tratamento da HSDC, com resultados que apontaram benefícios imediatos e também de 4 e de 8 semanas após a utilização de dentifrícios contendo fluoreto de estanho em hexametáfosfato. Sendo que a *American Dental*

Association (ADA) se manifestou de forma favorável à aplicação do gel de fluoreto de estanho a 0,4%.⁶⁸

2.1.6.1.5 Vernizes

Vernizes possuem em sua composição uma resina natural ou sintética insolúvel em água, mas solúvel em etanol, clorofórmio ou acetona.¹³⁶ Ao ser aplicado sobre a superfície dentinária exposta, molda-se a ela, ocorre evaporação do solvente, e formação de uma película aderida ao dente durante horas.^{68,121}

Esta película é uma condição única que ocorre devido às características intrínsecas dos vernizes, e cria a possibilidade do verniz penetrar com certa profundidade dentro dos túbulos dentinários, obstruindo os movimentos dos fluídos.¹²¹ Promove, assim, proteção contra agentes externos que poderiam causar hipersensibilidade, sendo, portanto, o verniz recomendável no tratamento da HSDC.¹³¹ No entanto, a redução da dor na HSDC ocorre apenas durante o tempo em que o verniz permanece sobre a superfície do dente.⁶⁸ Vernizes contendo clorexidina ou glutaraldeído demonstraram eficácia contra a HSDC durante até 12 semanas.⁶⁸

2.1.6.1.6 Glutaraldeído

A utilização do glutaraldeído no tratamento da HSDC está associado a uma formulação aquosa específica denominada Gluma Desensitizer®, que possui em sua composição 5% de glutaraldeído, 35% de hidroximetilmetacrilato (HEMA) e 60% de água.^{131,137}

O mecanismo de ação do glutaraldeído se dá pelo bloqueio dos túbulos dentinários,¹³¹ pois promove a precipitação de proteínas salivares (especialmente a albumina) nesses túbulos.^{12,120,135,137} O HEMA tem o papel de reagir com o precipitado formado pela ação do glutaraldeído, criando uma mistura de poliHEMA e glutaraldeído associado à albumina, o que reduz a movimentação de fluídos dentinários,¹³⁷ dificultando o mecanismo hidrodinâmico responsável por causar dor.¹³¹

Porém, os efeitos do glutaraldeído têm sido questionados. Pouca ou nenhuma diminuição da dor proveniente da HSDC tem sido observada.^{5,120} Além disso, o monômero HEMA, devido às suas características hidrofílicas, é capaz de difundir-se pelos túbulos até alcançar a polpa, onde inibe o metabolismo celular e os mecanismos

de defesa dos tecidos pulpares.¹³⁷ Apesar do glutaraldeído ser considerado seguro quando aplicado após ataque ácido, sua combinação com o HEMA pode gerar produtos citotóxicos.¹³⁷

2.1.6.1.7 Sais de estrôncio

Dentifrícios contendo sais de estrôncio, como acetato de estrôncio e cloreto de estrôncio, tem sido um dos mais popularmente utilizados como agentes dessensibilizantes nos últimos 50 anos.^{68,138} O mecanismo de ação dos sais de estrôncio é baseado na teoria que diz que estes sais possuem uma afinidade considerável pela dentina, sofrendo precipitação orgânica e promovendo desnaturação dos odontoblastos. Este processo seria responsável pela formação de uma película de vedação, de ação obliteradora, que dificulta a movimentação de líquidos nos túbulos dentinários.^{68,138} Essa película de vedação é resultante de reações dependentes de troca iônica entre a solução de estrôncio e a dentina, em que íons de cálcio da dentina são substituídos por íons de estrôncio, assim, ocorre a formação de um complexo de estrôncioapatita, o qual possui radiodensidade maior do que a hidroxiapatita.^{68,120}

Essas soluções concentradas de cloreto de estrôncio, aplicadas topicamente sobre a dentina, são capazes de gerar depósito de estrôncio de aproximadamente 20 µm em profundidade nos túbulos dentinários.¹²⁰

Outra teoria que tenta explicar o mecanismo de ação dos dentifrícios que contém estrôncio afirma que o efeito de diminuição da dor se daria pelas partículas abrasivas presentes na formulação, que seriam capazes de obliterar os túbulos dentinários.⁶⁸

Produtos contendo em sua formulação acetato de estrôncio e sílica artificial (Sr/Si) têm sido testados e apresentam capacidade ácido-resistente de ocluir túbulos dentinários, formando um precipitado que contém estrôncio e sílica. Estes produtos possuem resultados melhores ou iguais aos dos controle, mas nunca resultados inferiores, mostrando-se, portanto, promissores nas pesquisas sobre tratamento da HD.⁶⁸

2.1.6.1.8 Compostos de cálcio

O hidróxido de cálcio tem sido empregado no tratamento da HSDC, principalmente após os procedimentos de raspagem e alisamento radicular.¹³¹ Sobre a atividade neural, o hidróxido de cálcio teria pouca ou nenhuma ação. Acredita-se que sua ação na diminuição da HSDC ocorreria através de indução da mineralização da dentina peritubular, através da deposição de pequenos cristais.^{120,131} No entanto, apesar de exercer um efeito quase que imediato, sua ação é de curta duração, o que exigiria várias aplicações para manter-se efetivo.¹²⁰

2.1.6.2 Agentes de ação neural (dessensibilizantes)

Os agentes dessensibilizantes constituem o método terapêutico mais comumente utilizado atualmente para HSDC. Trata-se da aplicação tópica pelo profissional odontólogo, ou sua prescrição ao paciente, de substâncias que possuem determinadas propriedades químicas ou físicas específicas.⁸

Estas substâncias, de modo geral, promovem alívio parcial da dor, porém é comum a recorrência dos sintomas.⁸ O agente dessensibilizante ideal seria aquele que tivesse uma efetividade permanente, que sua aplicação fosse rápida, fácil e indolor (ou minimamente dolorosa), que não irritasse o tecido pulpar, nem promovesse alterações estéticas no dente.⁸

Os agentes dessensibilizantes podem apresentar propriedades químicas e/ou físicas. Dentre os agentes dessensibilizantes de propriedades químicas citamos os corticosteroides e os sais de potássio. E dentre os agentes físicos mais comumente utilizados estão os lasers.¹²¹ A disponibilidade de cálcio, fósforo, e de proteínas na saliva são substâncias utilizadas como fonte para efeitos dessensibilizantes. Alguns íons metálicos, como por exemplo, zinco e potássio, afetam ativamente o mecanismo hidrodinâmico.¹²¹

2.1.6.2.1 Sais de potássio

Os íons de potássio reduzem a excitabilidade das terminações nervosas pulpares através da sua difusão ao longo dos túbulos, aumentando a concentração local extracelular de íons de potássio, com consequente bloqueio das funções nervosas.⁶⁸ Ou seja, os íons de potássio exercem efeito despolarizante na condução

elétrica das fibras nervosas, diminuindo a excitabilidade destas aos estímulos e, assim, minimizando a sensação de dor.^{31,120,138}

A utilização de potássio em formulações de cremes ou géis dentais para uso diário domiciliar pode ser encontrada comumente como cloreto, citrato ou nitrato de potássio.¹³⁹

O nitrato de potássio, um dos sais de potássio mais utilizados,⁶⁸ tem sido questionado quanto à sua eficácia em revisões de literatura,^{68,121} principalmente em relação ao uso em dentifrícios.^{68,139} Acredita-se que seja necessário existir um tipo de “reservatório” de íons de potássio no dente, que se acumularia ao longo de algumas semanas (pelo menos duas semanas), para assim ocorrer o efeito desejado.^{12,68,120} Portanto, as evidências que suportam o uso de formulações contendo potássio com o objetivo de tratar HSDC ainda não estão completamente esclarecidas.^{5,120,131}

2.1.6.2.2 Laserterapia

O laser (*light amplification by the stimulated emission of radiation*) é um equipamento capaz de transformar luz de diferentes frequências em uma radiação cromática capaz de mobilizar intensos calor e força sobre um determinado foco.¹⁴⁰ A sua forma de ação sobre a HSDC consiste em promover a coagulação de proteínas presentes no fluído dentinário, e assim reduzir a permeabilidade,⁶⁸ e consequentemente os sintomas da HSDC.^{68,141} Além disso, a aplicação do laser pode provocar um certo derretimento da superfície dentinária, produzindo uma camada amorfa e selando superficialmente a dentina.^{68,131} Porém, alguns autores acreditam que as regiões de dentina exposta localizadas mais periféricamente continuariam com os túbulos aberto, o que diminuiria a observação de benefícios pelo paciente.⁶⁸

Em revisão de literatura, Costa e colaboradores (2016),¹¹⁹ destacaram o mecanismo de ação dos lasers de baixa e de alta intensidade. Os de baixa intensidade (GaAlAs e HeNe) são capazes de estimular as células nervosas da polpa, através da modificação da polaridade das suas membranas celulares e aumento do potencial de ação, consequentemente promove bloqueio da transmissão do estímulo doloroso e favorece a produção de dentina reparadora pelos odontoblastos, isto, por sua vez, causa diminuição da permeabilidade dentinária e da movimentação de fluídos nos túbulos. Já os lasers de alta intensidade (CO₂, Nd:YAG, Er:YAG, e Er,Cr:YSGG), ao irradiarem a dentina exposta, geram dissolução, seguida de ressolidificação dos

cristais de hidroxiapatita, promovendo, assim, a obliteração da embocadura dos túbulos e eliminação da sensação de dor por um período de tempo considerado longo.¹¹⁹

Alguns estudos têm realizado a combinação de aplicação de laser com outros modelos de tratamento da HSDC, como o fluoreto de sódio. Tal combinação poderia ser capaz de promover oclusão de túbulos em 90% das amostras analisadas, sendo esta oclusão resistente à escovação elétrica.¹³¹ Outros estudos têm observado que o laser poderia promover uma melhora na adesão à dentina de agentes adesivos,¹³¹ tanto em qualidade quanto em durabilidade. No entanto, faltam evidências clínicas e mais robustas quanto a utilização do laser nas condições acima descritas.¹³¹ Nos casos em que foi realizada a combinação de fluoretos com aplicação de laser, os efeitos positivos adicionais foram limitados.¹²¹

Para Sgolastra e colaboradores (2011),¹⁴¹ Al-Sabbagh e colaboradores (2009),¹³¹ e Petersson (2013),¹²¹ as informações sobre o uso de lasers são limitadas, e o laser deve continuar sendo considerado como uma terapia experimental. Para West e colaboradores (2014),⁶⁸ os resultados clínicos obtidos com o uso de lasers, seja de baixa ou de alta intensidade, estão equivocados e não justificam o alto custo do equipamento para o tratamento da HSDC.

2.1.6.2.3 Corticosteróides

A aplicação de drogas anti-inflamatórias, como glucocorticóides, à dentina exposta, ou ao preparo cavitário, poderia reduzir a HSDC pelo seu efeito sobre os mediadores da dor.¹³¹ A ação anti-inflamatória reduziria o edema e o estímulo sobre as terminações nervosas livres. O corticóide mais empregado é a Prednisolona a 1%, utilizada em diferentes soluções.¹²⁰ No entanto, há poucas evidências sobre o uso destes agentes no tratamento da HSDC.¹³¹

2.1.6.3 Agentes de ação mista

2.1.6.3.1 Iontoforese

A iontoforese pode ser utilizada isoladamente para o tratamento da HSDC, embora alguns autores afirmem que isoladamente ela não seria capaz de produzir

nenhum efeito favorável.⁷⁰ Sendo que comumente é associada a dentifrícios e a fluoretos, principalmente ao fluoreto de sódio (NaF).^{12,31}

O mecanismo de ação exato da iontoforese no tratamento da HSDC ainda não está bem definido.⁷⁰ As teorias aceitas propõe que a iontoforese age através de uma corrente elétrica, influenciando a movimentação/difusão iônica dentro dos tecidos, alterando os mecanismos sensoriais de condução de dor, o que produziria a dessensibilização, ou parestesia.^{5,12,31,70} Outra explicação possível é que a corrente elétrica disparada na dentina seria capaz de estimular a formação de dentina reparadora.⁷⁰

A utilização de iontoforese juntamente com fluoreto de sódio justifica-se pois acredita-se que a corrente elétrica aplicada é capaz de aumentar a concentração dos íons de fluoreto dentro dos túbulos dentinários, pois promoveria uma penetração mais profunda destes íons.^{12,70} Na sequência, ocorreria microprecipitação de fluoreto de cálcio, com consequente bloqueio da via hidrodinâmica de condução do estímulo doloroso.⁷⁰

Desta forma, considera-se que a técnica da iontoforese associada a fluoreto de sódio tem como efeito primário a deposição de íons de flúor, e secundariamente a formação de dentina.⁷⁰ Sendo a concentração destes íons, em camadas superficiais e sub-superficiais, maior do que quando do uso tópico do fluoreto de sódio sem a utilização da corrente elétrica.⁷⁰

Uma das desvantagens desta técnica é que apesar de envolver o uso de equipamentos específicos, os seus resultados são muito similares ao de outras técnicas mais simples.¹²

Este tratamento leva à diminuição da HSDC imediata, porém o retorno dos sintomas ocorre de forma gradual dentro de 6 meses.⁵ Apesar de ser um método popular para o tratamento da HSDC, ainda são necessários mais estudos controlados.⁵

2.1.6.3.2 Dentifrícios dessensibilizantes

Os dentifrícios dessensibilizantes podem ser classificados como agentes de ação mista devido as suas complexas formulações, que contém tanto agentes dessensibilizantes como agentes com o potencial de causar obliteração dos túbulos. Dentre os agentes dessensibilizantes, podemos citar nitrato de potássio, cloreto de

estrôncio, fluoreto de estanho, fluoreto de sódio, e monofluorofosfato. Já a ação obliteradora geralmente ocorre devido aos compostos abrasivos, que podem diretamente obliterar os túbulos, e/ou indiretamente, através da formação de uma *smear layer*. Dentre os agentes abrasivos comumente presentes nos dentífrícios estão fosfato de cálcio, silicato, carbonato de cálcio, e alumínio.¹³⁸

2.1.6.3.2.1 Dentífrícios contendo arginina

A utilização inicial da arginina foi em pastas profiláticas de uso pelo cirurgião-dentista, porém, após evidenciados os benefícios, a formulação passou a ser comercializada em dentífrícios.⁶⁸

Os dentífrícios contendo arginina e carbonato de cálcio promovem oclusão dos túbulos dentinários através da deposição de cálcio, fosfato e carbonato.^{68,142} O que seria capaz de bloquear a movimentação de fluídos e inibir o mecanismo hidrodinâmico da HSDC.¹⁴²

A relação desses depósitos gerados e sua resistência ao ambiente ácido ainda não está bem definida na literatura, enquanto alguns autores afirmam existir resistência ao desafio ácido,¹⁴² outros afirmam que o principal ponto negativo da arginina é sua instabilidade ao ambiente ácido, sendo ainda mais vulnerável do que produtos contendo fosfosilicato de estrôncio, estanho e cálcio.⁶⁸

2.1.6.4 Cirurgia periodontal

O recobrimento gengival é um dos procedimentos cirúrgicos periodontais que pode ser utilizado no tratamento da HSDC causada por recessão gengival.¹³¹ São vários os tipos de procedimentos de recobrimento que podem ser realizados, como exemplo citamos a técnica da cirurgia de retalho reposicionado coronalmente, enxerto de tecido conjuntivo, enxerto gengival livre e retalho posicionado lateral. O recobrimento cirúrgico para recessões localizadas requer planejamento cuidadoso e entendimento anatômico do defeito a ser tratado. De um modo geral, os recobrimentos com tecido não são considerados como uma estratégia de tratamento previsível.⁵

Além disso, são escassos os estudos direcionados para avaliar especificamente o recobrimento radicular cirúrgico no tratamento da HSDC.¹³¹ Há estudos avaliando o recobrimento tecidual de recessões gengivais, discutindo a

sensibilidade pós-operatória como um resultado indesejado, mas são poucos os estudos que avaliaram, como objetivo primário, a redução da HSDC.¹³¹ Considerando o exposto, observamos que as evidências existentes quanto ao recobrimento cirúrgico no tratamento da HSDC são escassas e insuficientes para fundamentar o uso clínico deste tipo de cirurgia especificamente como tratamento da HSDC.¹³¹

2.2 BIOVIDROS

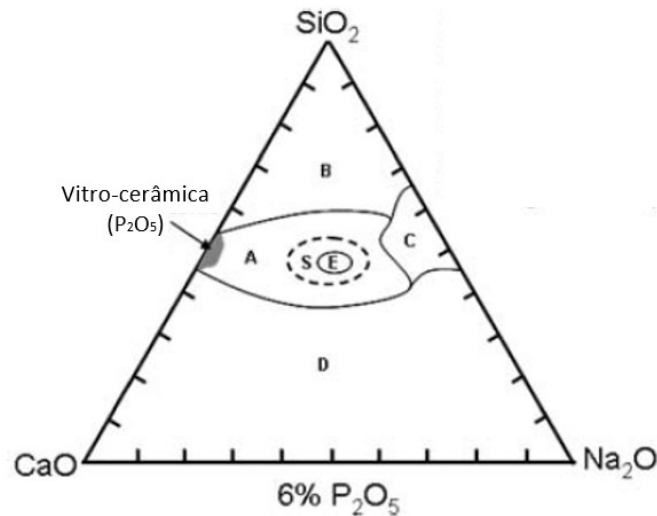
2.2.1 Surgimento

Os biovidros foram descobertos em 1969, envolvendo pesquisadores de engenharia de materiais da universidade americana de Ohio (*The Ohio State University*), com especial atenção ao Dr. Larry L. Hench, em conjunto com um projeto de pesquisa do exército dos Estados Unidos, a partir da seguinte hipótese simples:³⁶

*“O corpo humano rejeita materiais metálicos e polímeros sintéticos, formando cicatrizes, pois os tecidos vivos não são compostos por estes materiais. O tecido ósseo possui em sua composição fosfato de cálcio hidratado e hidroxiapatita (HA). Assim, se um material for capaz de formar uma camada de HA in vivo, existe a possibilidade deste material não ser rejeitado pelo corpo.”*³⁶

Para a síntese do primeiro biovidro foram pensadas três diferentes composições contendo Na_2O - CaO - SiO_2 , considerando o diagrama abaixo (ver Figura 6). Porém a formulação contendo 45% de SiO_2 , 5% de Na_2O , 24,5% de CaO e 6% de P_2O_5 foi selecionada por fornecer CaO e P_2O_5 em uma matriz de Na_2O - SiO_2 . Esta formulação foi registrada como 45S5 Bioglass®.³⁶

FIGURA 6. Diagrama que relaciona a composição do biovidro com sua capacidade de aderir ao tecido ósseo



Fonte: Adaptado de Hench, 2006.³⁶

A. Adesão ao tecido ósseo. **B.** Região na qual não ocorre adesão ao tecido ósseo devido à baixa reatividade. **C.** Região na qual não ocorre adesão ao tecido ósseo devido à reatividade muito alta. **D.** Região na qual não ocorre adesão devido a não formação de estrutura vítrea. **S.** Região de adesão aos tecidos ósseos e moles e de ativação gênica, ou seja, bioatividade Classe A. **E.** Região de composição do 45S5 Bioglass®.

Após derretimento e fundição, o biovidro foi transformado em pequenos implantes retangulares, os quais foram testados em fêmur de ratos, resultando no primeiro material com excelente aderência ao osso,^{35,36} ou seja, um material bioativo capaz de interagir benéficamente com o tecido do hospedeiro, promovendo reparo e regeneração teciduais.¹⁴³

A primeira publicação, de 1971, mostrou resultados *in vitro* e *in vivo*. Nos testes *in vitro*, o 45S5 Bioglass® originou rapidamente uma camada de hidroxiapatita (HA) nas soluções teste. Esta camada de HA também foi observada nos testes *in vivo*, nos quais as partículas de biovidro sofreram firme aderência química a camadas de fibrilas colágenas presentes na superfície dos osteoblastos.³⁶

As reações que ocorrem na interface tecido-biovidro, garantem a aderência ao osso, e levam de 6 a 12 dias para completar-se, e foram classificadas nos seguintes estágios:³⁶

Estágio 1 ao 5: ocorre liberação rápida de espécies iônicas solúveis e formação de uma bicamada de sílica e hidroxicarbonato apatita (HCA) policristalina, na superfície do biovidro, na interface com tecidos vivos.

Estágio 6: esta camada formada aumenta a adsorção e dessorção de fatores de crescimento.

Estágio 7: o fluxo de fatores de crescimento influencia no tempo necessário para os macrófagos prepararem o local do implante para o reparo tecidual.

Estágio 8: ocorre, então, a fixação ou aderência do biovidro ao tecido ósseo.

Estágio 9: há proliferação e diferenciação de osteoblastos.

Estágio 10: ocorre mineralização da matriz óssea, e maturação dos osteócitos, circunscritos em uma matriz de colágeno e HCA.

A habilidade dos biovidros aderirem-se ao tecido ósseo não ocorre apenas devido aos íons formarem hidroxiapatita, e esta ligar-se ao colágeno dos tecidos. Mas também devido a um outro mecanismo iônico, no qual estes íons regulam genes que codificam fatores de crescimento e, assim, estimulam as células osteogênicas a secretarem matriz óssea.³⁵

A partir da síntese e dos primeiros testes *in vivo* com os biovidros, vários outros materiais bioativos, vítreos e cerâmicos, passaram a ser idealizados, produzidos e testados, incluindo biovidros modificados, fosfato de cálcio, hidroxiapatita e silicatos de cálcio.³⁵

Os biovidros têm sido utilizados em diversas aplicações, como pasta no reparo ósseo, cobertura de implantes, estrutura-base para a regeneração óssea, e também para o reparo cartilaginoso. Porém, os biovidros também têm sido empregados no tratamento das estruturas dentárias minerais perdidas, auxiliando na remineralização destes tecidos, devido às suas propriedades de liberação iônica e consequente formação de hidroxiapatita.³⁵

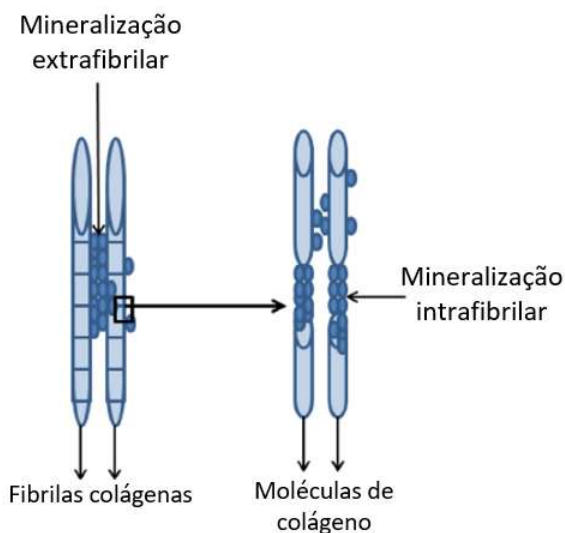
2.2.2 Aplicabilidade na HSDC

Apesar do biovidro ter sido desenvolvido para originariamente estimular a formação óssea, a similaridade entre osso e dentina permite que os biovidros sejam úteis no tratamento da hipersensibilidade dentinária, através da formação de uma camada de apatita. Esta empregabilidade dos biovidros tem sido evidenciada, nos últimos 10 anos, através da sua utilização em dentifrícios e procedimentos de polimento. Acredita-se que, uma vez adaptados à superfície dentária, os biovidros são capazes de obliterar a abertura dos túbulos dentinários.^{35,37-39}

A dentina é formada por 70% em peso de material mineral e 30% de material orgânico (colágeno, proteínas não colagenosas, e água). A estrutura dentinária possui um esqueleto de fibras de colágeno na qual a apatita mineral está embebida, tanto

intra, quanto extrafibrilar. As propriedades mecânicas da dentina dependem do seu conteúdo mineral e da orientação intrafibrilar dos minerais no esqueleto de colágeno.³⁵ As propriedades mecânicas da dentina estão associadas com a mineralização intrafibrilar, gerando funcionalidade ao tecido (ver Figura 7).³⁵

FIGURA 7. Representação esquemática da mineralização das estruturas colágenas presentes na dentina



Fonte: Adaptado de Fernando e colaboradores, 2017.³⁵

A. Mineralização extrafibrilar. **B.** Mineralização intrafibrilar.

A utilização dos biovidros no tratamento da HSDC justifica-se pela sua ação obliteradora, que ocorre através da remineralização proveniente da formação de apatita. Esta ação também pode ser complementada pelo potencial dos biovidros de estimularem os odontoblastos a secretarem dentina reacionária e reparadora,³⁵ o que levaria à remineralização dentinária e também à diminuição dos mecanismos hidrodinâmicos responsáveis pela dor.³⁸

Além da obliteração dos túbulos, há relatos de propriedades antimicrobianas dos biovidros, com diminuição do número de células bacterianas viáveis.¹⁴⁴ Essa ação antibacteriana ainda não tem seu mecanismo completamente elucidado, porém acredita-se ser atribuída ao alto valor de pH associado a meio tecidual aquoso, resultante da liberação de íons alcalinos, como os íons de sílica, sódio e cálcio, provenientes das partículas de biovidros.¹⁴⁴

O mecanismo de ação dos biovidros mais amplamente explorado é aquele responsável pela deposição da camada de apatita rica em fosfato de cálcio, promovendo uma adesão química aos tecidos duros, num processo dinâmico entre a sua superfície e fluídos, como a saliva.^{38,145,146} Os biovidros, quando em ambiente aquoso, no caso, quando em superfície dentária e em contato com a saliva, sofrem

degradação através da liberação dos íons cálcio (Ca^{2+}), sódio (Na^+), e fosfato (PO_4^{3-}). Os íons fosfato e cálcio, juntamente com íons minerais presentes na saliva, formam uma camada de fosfato de cálcio sobre a superfície da dentina e/ou dentro dos túbulos dentinários. Os cátions provenientes do biovidro, como Na^+ (íon de sódio) e Ca^{2+} (íon de cálcio), podem substituir o H^+ (íon de hidrogênio) ou o H_3O^+ (íon hidrônio), promovendo o aumento do pH ambiente, e favorecendo a deposição de uma camada rica em sílica (ou dióxido de silício – SiO_2) na superfície da dentina. Na sequência, ocorre incorporação de íon de cálcio, fósforo e outros, formando uma camada rica em cálcio, a qual irá cristalizar-se e formar a camada de hidroxicarbonato apatita (HCA). Esta camada é responsável por ocluir os túbulos dentinários e remineralizar a dentina, com consequente redução dos sintomas da HSDC.^{37,146} Diversos parâmetros físico-químicos podem influenciar neste processo de formação de apatita, como alterações de pH, o tamanho das partículas de biovidro, e sua composição química, que está diretamente relacionada com sua bioatividade e tendência à cristalização.¹⁴⁶

A aplicação do 45S5 Bioglass® em combinação com outras substâncias, ou técnicas, tem sido explorada pelos pesquisadores e clínicos. A associação do 45S5 Bioglass® com ácido fosfórico a 50% foi testada quanto a sua penetração nos túbulos dentinários, quanto a sua resistência a simulação dos desafios bucais, e a sua biocompatibilidade, sendo os resultados favoráveis ao tratamento da HSDC.^{145,147}

A bioatividade dos biovidros tem sido investigada, principalmente através de propostas de modificação da formulação original do 45S5 Bioglass®. Diferentes métodos de obtenção dos biovidros têm criado substâncias com diversidade em textura, porosidade, espessura e tamanho de partículas, a fim de aumentar a área de superfície das mesmas,³⁵ e potencializar sua ação no tratamento da dentina exposta.

NovaMin® é o ingrediente ativo do dentifrício Sensodyne®, e é baseado na formulação original do biovidro 45S5 Bioglass®. Seu mecanismo de ação ocorre devido a precipitação de hidroxicarbonato apatita (HCA) na superfície do dente, levando à oclusão dos túbulos dentinários.³⁷ Já o DP-Bioglass® é um biovidro capaz de tratar a HSDC através do selamento dos túbulos dentinários em profundidade média de 60 μm .³⁷ Formulações modificadas do DP-Bioglass® contendo nanopartículas de óxido de cálcio (CaO) e ácido fosfórico a 30%, promovem a oclusão dos túbulos e redução da permeabilidade dentinária, mesmo na presença de pressão proveniente da polpa.³⁷

No entanto, os biovidros atualmente disponíveis possuem efetividade limitada.³⁷ Estudos tem indicado que a formulação original, apesar de promover cobertura da superfície dentinária e/ou oclusão dos túbulos é facilmente deslocada, tendo Gillam e colaboradores (2002) indicado a necessidade de utilização de concentrações mais altas de biovidro em veículos de formulações mais apropriadas.³⁹

Dentre os biovidros utilizados neste trabalho, está o Biosilicato®, um biovidro de patente brasileira, obtido pelo grupo de pesquisa dos professores Edgar Dutra Zanotto e Oscar Peitl Filho da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), com o objetivo original de promover o tratamento da HSDC.³³

Este biovidro foi desenvolvido a partir de método e formulação melhorados, com base na ideia inicial de Hench. O Biosilicato® tem como principal característica a melhora da sua cristalinidade, podendo atingir quase 100%, ou seja, mais de 99,5% deste biovidro encontra-se na fase cristalizada.¹⁴⁸ Teoricamente acreditava-se que a cristalização seria responsável por uma consequente diminuição da bioatividade das vitrocerâmicas, porém, testes *in vitro* demonstraram alta bioatividade, associada com maior suporte para a formação de matriz óssea, quando comparado com o 45S5®.¹⁴⁹ O aumento da cristalinidade promove melhora das propriedades mecânicas dos biovidros, e no caso do Biosilicato® a bioatividade não é diminuída, ou seja, não há redução da sua capacidade de formação de camada de hidroxicarbonato apatita (HCA) na superfície do biovidro, quando na presença de fluídos corpóreos. A formação da camada de ligação entre os tecidos (osso ou dentina) e o biovidro mantem-se, mesmo com alta cristalinidade.¹⁴⁸

Apesar do biovidro 45S5® de Hench ser considerado “padrão ouro”,³² estudos tem demonstrado que o Biosilicato® apresenta características e comportamentos similares ou melhores, em relação ao 45S5®.^{32,33} Podemos citar, além da cristalinidade próxima a 100% e da elevada bioatividade, características positivas do Biosilicato®, como a forma particulada com arestas não cortantes, módulo de elasticidade mais próximo ao do osso cortical do que o 45S5® e melhor resistência à flexão, além da melhor atividade osteogênica e de formação de osso cortical.³³ Além disso, o Biosilicato® apresenta tempo de início de formação de camada de HA, atividade da fosfatase alcalina, e condições de citotoxicidade e de toxicidade sistêmica/local próximas ao do “padrão ouro” (45S5®).^{32,33}

O Biosilicato® foi registrado sob a patente WO 2004/074199 A1, a qual especifica três diferentes formas de alcançar esta vitrocerâmica, bem como as

variações quanto à porcentagem de peso relativa aos componentes químicos primários utilizados na sua obtenção.¹⁴⁸ A composição típica consiste em um sistema quaternário de Na_2O - CaO - SiO_2 - P_2O_5 , ou seja, uma faixa de composição particular de vitrocerâmicas.^{33,150}

Os biovidros, quando em contato com as superfícies dentárias, devido à similaridade destes tecidos com o tecido ósseo, comportam-se iniciando a formação de HA, devido à presença de fluídos bucais. Esta HA, por sua vez, promove a oclusão, por ligações químicas entre biovidro e dentina, dos túbulos dentinários. Um aspecto negativo dos biovidros é a capacidade cortante da sua forma particulada, a qual possui superfícies irregulares, afiadas e pontiagudas, resultante do processo de moagem e produção dos pós. A consequência seria microcortes em gengival e possível dor nos pacientes, além da dificuldade mecânica em penetrar os túbulos dentinários. O Biosilicato® foi uma inovação por possuir tamanho e formato de partículas adequados (partículas regulares, sem superfícies cortantes e menos abrasivas), com cristalinidade e bioatividade satisfatórios, sendo, portanto, indicado para o tratamento da HSDC.³³

3 PROPOSIÇÃO

3.1 OBJETIVOS GERAIS

O objetivo deste trabalho foi testar e avaliar o efeito do biovidro experimental $2\text{Na}_2\text{O}.1\text{CaO}.3\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$, em duas formulações distintas, uma contendo 5% de K_2CO_3 e outra contendo 5% de SrO , em modelo de recessão gengival *in vivo*, quanto às consequências no complexo dentino-pulpar. Bem como, demonstrar o processo neuroinflamatório *in vivo*, em tecido pulpar, em molar de ratos com recessão gengival induzida.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar as alterações inflamatórias no tecido pulpar em molares de ratos com recessão gengival.
- b) Avaliar as alterações vasculares no tecido pulpar dos dentes destes animais.
- c) Avaliar a presença de fibrose e/ou necrose no tecido pulpar.
- d) Avaliar a formação de dentina reparadora e/ou a presença de nódulos calcificados no tecido pulpar.
- e) Avaliar a expressão do neuropeptídeo substância P (SP) no tecido pulpar.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

O presente estudo utilizou 29 ratos da linhagem Wistar (*Rattus Novergicus albinus*), com 60 dias de idade, e peso entre 215 e 450 g ao início do experimento. Os animais foram fornecidos pelo Núcleo Avançado de Estudos da Vida (NAEVI) da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), e mantidos sob condições controladas de iluminação artificial (12 horas claro/escuro) e de temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), com livre acesso a alimento (ração Nuvilab® CR-1, Quimtia S.A., Colombo, Paraná, Brasil) e à água. As caixas nas quais os animais permaneceram eram confeccionadas de polipropileno, medindo 38 cm x 32 cm x 16,5 cm, e eram forradas com maravalha estéril, sendo que cada caixa armazenou de 5 a 6 animais ao longo do experimento. O protocolo de uso de animais experimentais foi aprovado pela Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA) da UEPG, com número de processo 039/2015 (ver Anexo A).

4.2 BIOVIDROS EXPERIMENTAIS

As formulações dos biovidros experimentais utilizadas neste trabalho foram elaboradas, e os biovidros foram produzidos, pelo Laboratório de Materiais Vítreos (LAMAV) do Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa) da UFSCar.¹⁵¹

Os biovidros utilizados são variações da seguinte formulação: $2\text{Na}_2\text{O}.1\text{CaO}.3\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$, na qual 6% do peso corresponde a P_2O_5 . Foram utilizados os seguintes biovidros experimentais:¹⁵²

- a. $2\text{Na}_2\text{O}.1\text{CaO}.3\text{SiO}_2\text{-6\%P}_2\text{O}_5\text{-K}_2\text{CO}_3$, sendo 5% do peso correspondente a K_2CO_3 ;
- b. $2\text{Na}_2\text{O}.1\text{CaO}.3\text{SiO}_2\text{-6\%P}_2\text{O}_5\text{-SrO}$, sendo 5% do peso correspondente a SrO .

A obtenção destes biovidros deu-se pelo método de fusão, seguido do método de moagem para a obtenção da forma particulada.¹⁵¹ O biovidro contendo K_2CO_3 possui partículas de diâmetro entre 1,5 μm e 20 μm , sendo que apresentou maior frequência o tamanho de 6 μm . E o biovidro contendo SrO em sua composição possui

partículas entre 3 µm e 25 µm, sendo que a maioria das partículas possui 9 µm de diâmetro.¹⁵²

As substâncias precursoras usadas na obtenção dos biovidros foram:^{151,152}

- a. carbonato de cálcio (CaCO_3), marca Synth, teor de pureza de 99,0%;
- b. carbonato de sódio (Na_2CO_3), marca Synth, teor de pureza de 99,5%;
- c. sílica (SiO_2) Zetasil 3®, marca Santa Rosa Processamento Mineral, teor de pureza de 95,3%;
- d. pentóxido de fósforo (P_2O_5), marca Synth, teor de pureza de 99,9%;
- e. carbonato de potássio (K_2CO_3), marca Vetec, teor de pureza de 99,0%;
- e
- f. carbonato de estrôncio (SrCO_3), marca Vetec, teor de pureza de 97,0%.

O processo de fusão dos precursores envolveu a secagem dos pós de carbonato em estufa a 100°C durante 8 horas, seguida da fusão propriamente dita, em cadinho de platina, em forno a 1400°C por 3 horas. O resfriamento deu-se pela técnica do *splash cooling*, o qual foi seguido de recozimento a 455°C. Um segundo resfriamento, para alívio das tensões residuais, foi feito à taxa de 2°C por minuto. A cristalização ocorreu a 560°C, com intervalos de tempo de 8, 15, 30, 60 e 120 horas. Por fim, para ao preparo das partículas, realizou-se a moagem em moinho de alta energia.^{151,152}

Além destes dois biovidros experimentais, também utilizamos em nossa pesquisa o Biosilicato®, um biovidro de altíssimo grau de cristalinidade (maior que 99,5%), desenvolvido e patenteado a partir das pesquisas dos professores Edgar Dutra Zanotto e Oscar Peitl Filho da UFSCar. O Biosilicato® possui uma fórmula quaternária que contém $\text{SiO}_2.\text{P}_2\text{O}_5.\text{Na}_2\text{O}.\text{CaO}$.^{148,153}

A escolha dos biovidros experimentais contendo estrôncio ou potássio deu-se devido às propriedades dessas substâncias já serem estudadas em diversas formulações e aplicações para o tratamento da HSDC.^{5,12,31,68,120,121,131,138} Sendo os sais de estrôncio amplamente conhecidos por sua capacidade na obliteração de túbulos dentinários;^{68,138} e os sais de potássio pelo seu uso em dentifrícios, com a função de promover efeito despolarizante na condução dos impulsos pelas fibras nervosas.^{31,68,120,138}

Além disso, estas formulações de biovidros já foram avaliadas quanto a sua bioatividade, caracterização, comportamento citotóxico, microbiológico e quanto a sua capacidade de promover redução da permeabilidade dentinária, por grupos de

pesquisas da UEPG, sendo que ambos os biovidros apresentaram resultados satisfatórios, principalmente quanto à diminuição da permeabilidade dentinária *in vitro*.^{151,152}

4.3 DELINEAMENTO E PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.3.1 Grupos experimentais

Vinte e nove ratos Wistar machos foram divididos em 6 grupos, sendo: Naive (N, n = 5) – sem recessão e sem tratamento (controle negativo); Sham (S, n = 4) – com recessão e sem tratamento (controle negativo); Verniz (V, n = 5) – recessão + verniz; Biosilicato® (BV-BS, n = 5) – recessão + BV-BS; Biovidro de Potássio (BV-K, n = 5) – recessão + BV-K; e Biovidro de Estrôncio (BV-Sr, n = 5) – recessão + BV-Sr.

Os animais do grupo N, apesar de não receberem indução da recessão gengival cirurgicamente, e de não ter sido instalado nenhum dispositivo (procedimento descrito no item 4.3.3), eram anestesiados e era simulado o tratamento da região dentária equivalente (faces mesial e palatina do primeiro molar permanente superior, a partir da margem gengival) com substância inerte (soro fisiológico) (ver item 4.3.4). Já nos animais do grupo S, foi realizada a cirurgia para indução da recessão gengival, com instalação do dispositivo metálico; e também receberam tratamento com substância inerte (soro fisiológico).

Nos demais grupos foi realizada a cirurgia de indução da recessão gengival com exposição de dentina radicular, e tratamento de acordo com o grupo:

- Grupo V: tratamento com verniz cavitário (Cavitine®, S.S. White Artigos Dentários, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil);
- Grupo BV-BS: tratamento com Biosilicato®;
- Grupo BV-K: tratamento com a formulação $2\text{Na}_2\text{O} \cdot 1\text{CaO} \cdot 3\text{SiO}_2 - 6\%\text{P}_2\text{O}_5 - 5\%\text{K}_2\text{CO}_3$;
- Grupo BV-Sr: tratamento com a formulação $2\text{Na}_2\text{O} \cdot 1\text{CaO} \cdot 3\text{SiO}_2 - 6\%\text{P}_2\text{O}_5 - 5\%\text{SrO}$.

Para a aplicação de todos os biovidros, utilizou-se como veículo o verniz cavitário (Cavitine®, S.S. White Artigos Dentários, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil).

O cálculo do tamanho amostral foi realizado baseando-se em dados prévios de um estudo conduzido para estabelecer o modelo de indução da recessão gengival em

ratos (dados não publicados), utilizando como desfecho principal, os escores de infiltrado inflamatório obtidos da polpa de molares superiores dos animais. Desta forma, foram considerados os grupos Naive (sem recessão) e Sham (com recessão) após o desafio com ácido fosfórico a 10% por 20 segundos. A média dos escores de reação inflamatória obtidos foram de $0,21 \pm 0,20$ e $0,92 \pm 0,41$ respectivamente para os grupos Naive e Sham. Os resultados mostraram um tamanho do efeito de 2,19. Assim, com $\alpha=0,05$ para se obter um poder de 84% ($1-\beta$) é necessário um número de 5 animais por grupo. O cálculo amostral foi realizado com o programa GPower 3.1 (G*Power, Universität Düsseldorf, Düsseldorf, North Rhine-Westphalia, Alemanha)¹⁵⁴.

4.3.2 Anestesia

Para indução da exposição da dentina radicular de forma cirúrgica, bem como para a aplicação dos tratamentos, os animais foram anestesiados através de injeção intraperitoneal de solução de hidrato de cloral à dose de 400mg/Kg (Vetec®, Sigma-Aldrich®, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil), preparada em solução salina (NaCl 0,9%). Todas as injeções foram realizadas com a solução à temperatura ambiente, e com pH corrigido para o intervalo entre 7,0 e 7,8. A concentração utilizada foi de 4% (40mg/mL) e a dose injetada, portanto, foi de 1mL a cada 100g de peso corpóreo.^{155–158} Após a perda dos reflexos, foi realizada anestesia infiltrativa no local do procedimento cirúrgico (palato) com solução de mepivacaína 2% com epinefrina na concentração de 1:100.000.¹⁵⁸

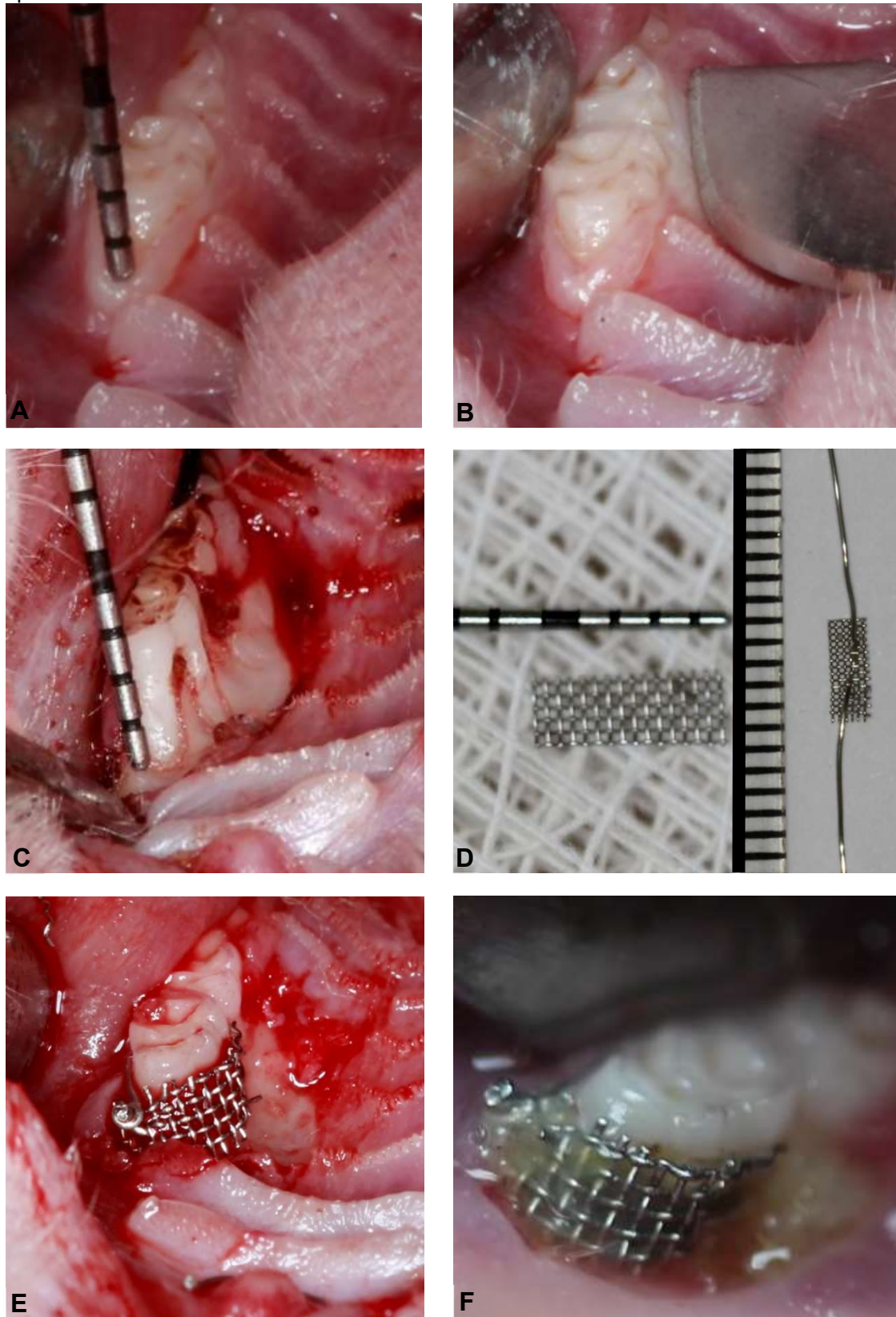
4.3.3 Exposição da dentina radicular

A exposição da dentina radicular foi realizada através de procedimento cirúrgico, o qual foi iniciado com uma incisão a 2 mm da margem gengival na região palatina do primeiro molar superior esquerdo, estendendo-se desde a mesial do primeiro molar até a distal do segundo molar superior esquerdo. O colarinho gengival foi descolado do periósteo e removido. Utilizou-se micro cinzel de Rhodes nº 36/37 (Golgran®, São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil) para remoção de 1 mm de tecido ósseo palatino, expondo, assim, a região radicular do primeiro molar (ver Figura 8).

Com o objetivo de manter a recessão gengival induzida, logo após a cirurgia foi instalado um dispositivo metálico constituído por duas partes: segmento de fio

metálico de CrNi (Fio Ortodôntico para Amarrilho CrNi 55.01.210, Morelli®, Sorocaba, São Paulo, Brasil) de 20 mm de comprimento, preso a um segmento de tela-malha de aço inoxidável (Tela Ortodôntica para Base – Malha 80 pontos/pol. – 35.11.001, Morelli®, Sorocaba, São Paulo, Brasil) de dimensões aproximadas de 3 mm X 6 mm. A tela-malha do dispositivo foi adaptada à região da recessão, e a região cervical do primeiro molar superior esquerdo foi contornada pelo fio metálico, sendo que este foi amarrado ao redor do dente, com o auxílio de pinça do tipo Mathieu (Golgran®, São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil). As extremidades do fio foram unidas na região vestibular e adaptadas ao contorno do dente, a fim de evitar lesionar a mucosa jugal dos animais (ver Figura 8).

FIGURA 8. Procedimento cirúrgico de exposição da dentina radicular e indução da recessão gengival, e instalação de dispositivo metálico para manutenção da recessão obtida durante o período experimental



Fonte: A autora.

A. Profundidade clínica de sondagem (PCS) na região mesial, ou seja, distância da margem gengival livre até a junção cimento-esmalte, do primeiro molar superior esquerdo (PMSE) antes da realização

do procedimento cirúrgico (sonda universal Carolina do Norte). **B.** Região onde realizou-se a incisão cirúrgica, para descolamento do colarinho gengival e remoção de tecido ósseo com cinzel, a fim de expor a dentina radicular. **C.** Região mesial e palatina do PMSE após remoção do tecido gengival e ósseo; mensuração da PCS da região mesial com sonda universal Carolina do Norte. **D.** Tela-malha e fio de amarrilho montados (tamanho aproximado da tela de 3mmX6mm). **E.** Dispositivo metálico instalado na região da recessão cirúrgica. **F.** Dispositivo metálico, ainda em posição, 14 dias após a sua instalação.

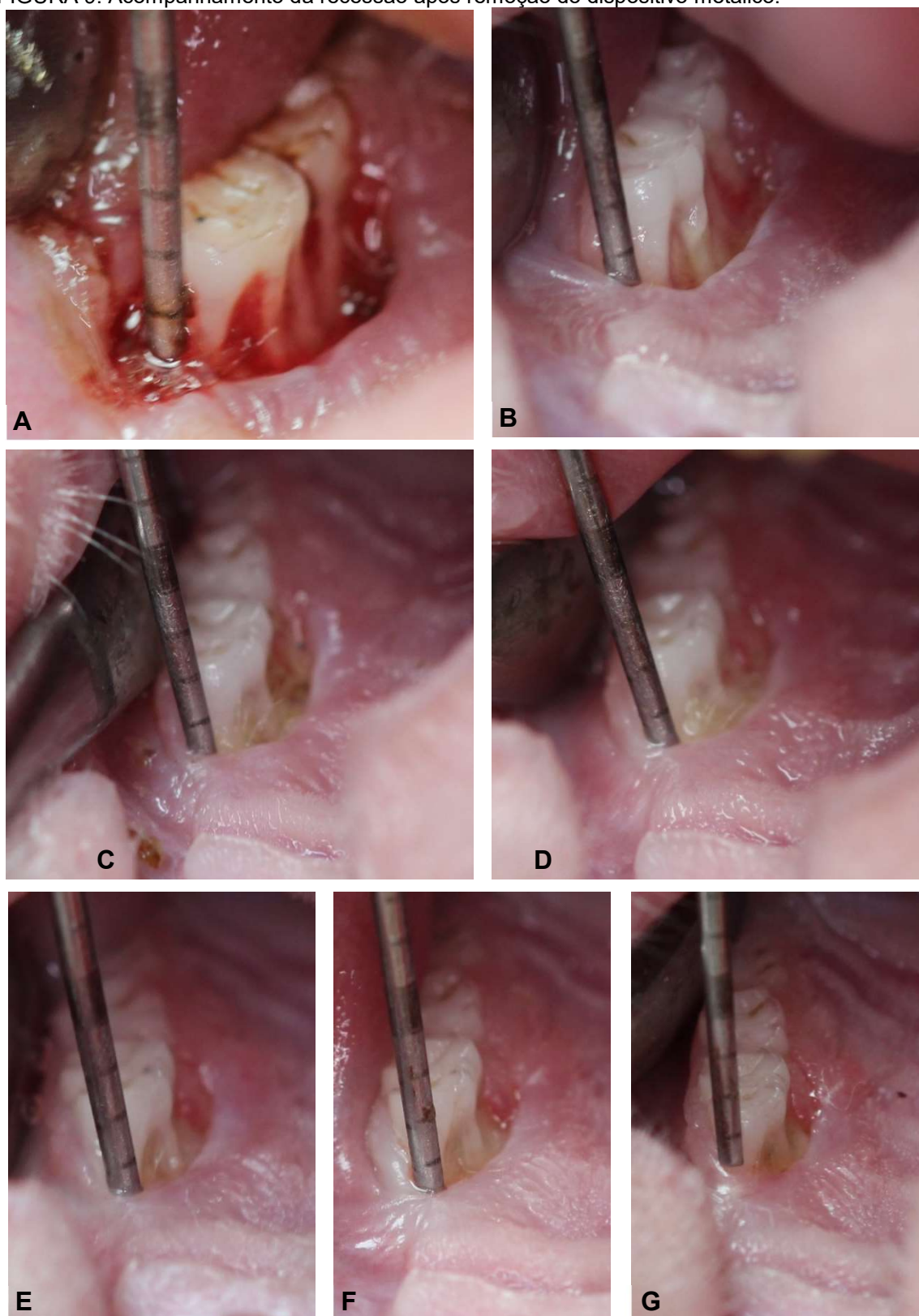
Este dispositivo foi mantido em posição durante 14 dias, e retirado antes do início dos procedimentos de tratamento para obliteração dos túbulos dentinários. Para a remoção do mesmo, realizou-se anestesia com hidrato de cloral 4%, seguido do uso de tesoura e pinça para a desinstalação do aparato.

Na sequência, a fim de remover a *smear layer* e promover a abertura dos túbulos dentinários, realizou-se a aplicação de solução de EDTA a 24% (Reatec®, Reagen Ltda, Colombo, Paraná, Brasil),²⁷ com auxílio de aplicador descartável (KG Brush Regular, KG Sorensen®, Cotia, São Paulo, Brasil), sobre a superfície radicular exposta, durante 3 minutos. Tal aplicação foi feita em todos os grupos, com exceção dos grupos S e N. O excesso de EDTA foi removido com bolinha de algodão embebida em soro fisiológico.

Este protocolo de indução da recessão em dente de rato, que inclui a realização de cirurgia, a instalação de dispositivo metálico, sua manutenção em posição durante 14 dias, seguido da sua remoção e a aplicação de EDTA sobre a superfície dentinária exposta, foi validado em trabalho de pesquisa ainda não publicado (ver Figura 9).

O dente contralateral não recebeu nenhum tratamento cirúrgico em seu periodonto; foi mantido hígido para o estabelecimento de controle interno.

FIGURA 9. Acompanhamento da recessão após remoção do dispositivo metálico.



Fonte: A autora.

A. Profundidade clínica de sondagem (PCS) na região mesial, ou seja, distância da margem gengival livre até a junção cimento-esmalte, do primeiro molar superior esquerdo (PMSE) logo após remoção do dispositivo metálico, 14 dias após o procedimento cirúrgico, **B.** PCS na região mesial do PMSE 4 dias após a remoção do dispositivo metálico. **C.** PCS na região mesial do PMSE 8 dias após a remoção do dispositivo metálico. **D.** PCS na região mesial do PMSE 12 dias após a remoção do dispositivo

metálico. **E.** PCS na região mesial do PMSE 16 dias após a remoção do dispositivo metálico. **F.** PCS na região mesial do PMSE 20 dias após a remoção do dispositivo metálico. **G.** PCS na região mesial do PMSE 24 dias após a remoção do dispositivo metálico.

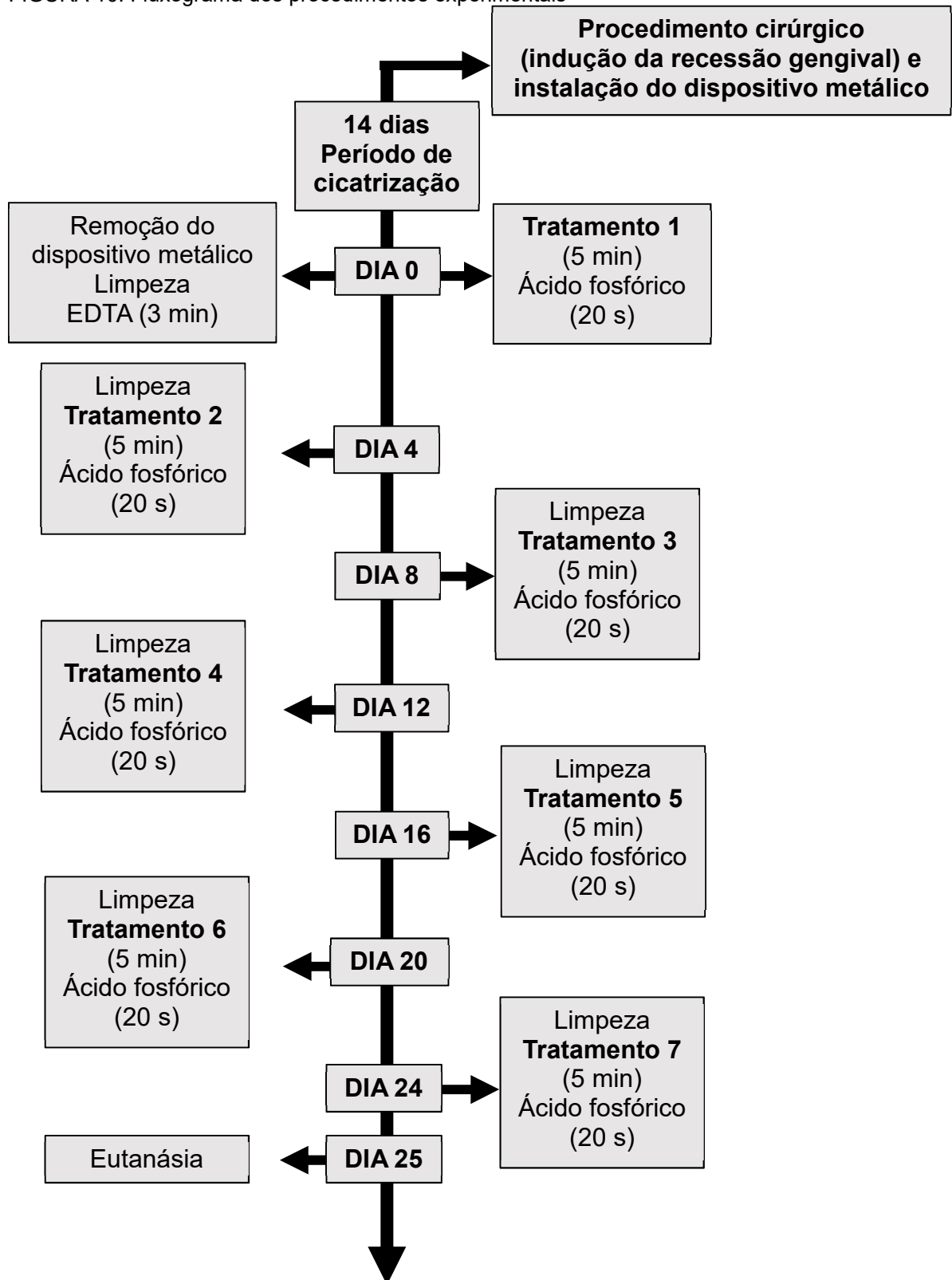
4.3.4 Tratamento para obliteração dos túbulos dentinários e desafio ácido

Os tratamentos nos animais foram iniciados após induzida a recessão gengival, no dia em que foi removido o dispositivo metálico, ou seja, 14 dias após o procedimento cirúrgico. Os tratamentos foram específicos para cada grupo (conforme descrito acima, no item 4.3.1), repetidos em intervalos de 4 dias e realizados durante 28 dias, ou seja, totalizando 7 aplicações dos tratamentos com os diferentes materiais (ver Figura 10).^{159–164}

Todos os animais que receberam tratamento para obliteração dos túbulos dentinários foram submetidos ao seguinte protocolo:

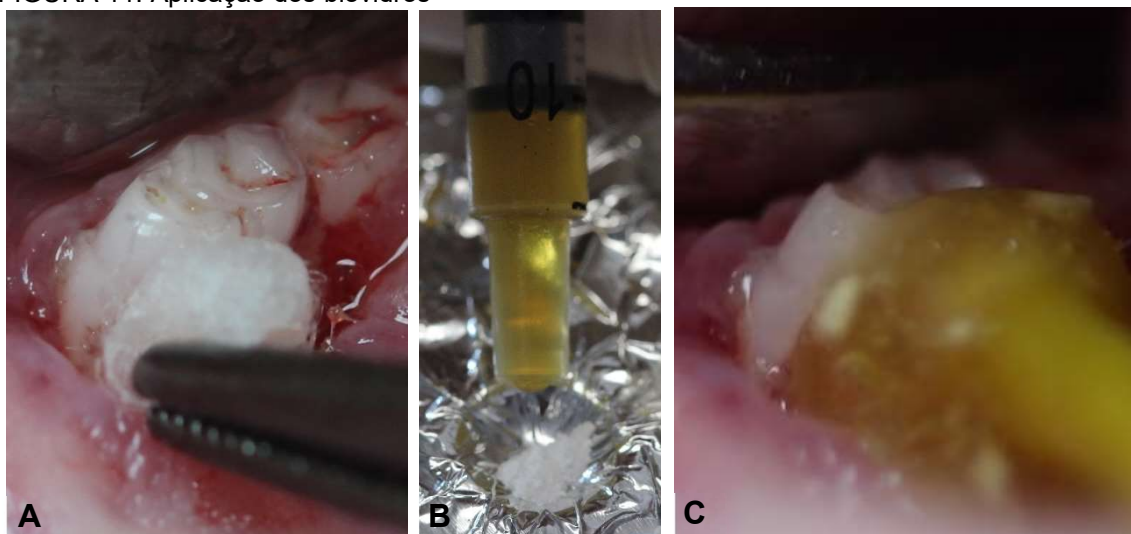
- a. Anestesia com hidrato de cloral a 4%;
- b. Limpeza (fricção de bolinha de algodão embebida em soro fisiológico) da região onde foi induzida a recessão e exposta a dentina radicular, ou seja, na região mésio-palatina do primeiro molar superior esquerdo (ver Figura 11);
- c. Aplicação do agente de tratamento durante 5 minutos (fricção durante o primeiro minuto) com aplicador descartável (KG Brush Regular, KG Sorensen®, Cotia, São Paulo, Brasil) (ver descrição dos agentes de tratamento no item 4.3.1) (ver Figura 11);
- d. Aplicação de ácido fosfórico a 10% por 20 segundos (em bolinha de algodão), como desafio ácido para estimular a hipersensibilidade dentinária.

FIGURA 10. Fluxograma dos procedimentos experimentais



Fonte: A autora.

FIGURA 11. Aplicação dos biovidros



Fonte: A autora.

A. Limpeza da região radicular com bolinha de algodão e soro fisiológico previamente à aplicação do EDTA, no dia 0 (zero), e previamente à aplicação dos tratamentos nos dias 4, 8, 12, 16, 20 e 24. **B.** Volume de verniz cavitário (0,1 mL) sendo depositado sobre biovidro (7,5 mg). **C.** Aplicação da mistura de biovidro em verniz cavitário, imediatamente após a sua homogeneização, sobre a superfície radicular exposta.

4.3.5 Eutanásia e obtenção das amostras maxilares

Os animais foram sacrificados no 40º dia de experimento, através do método da exsanguinação cardíaca, após anestesia com solução de hidrato de cloral a 4%, de acordo com o que o CONCEA, em publicação de 2015, considera como métodos e agentes de eutanásia recomendáveis para roedores.¹⁶⁵ O óbito foi confirmado pela ausência de batimentos cardíacos.¹⁶⁵ As maxilas, então, foram dissecadas e separadas em hemimaxilas. Neste momento de coleta das hemimaxilas, examinaram-se os primeiros molares para constatação de possíveis fraturas ou trincas, as quais não foram observadas em nenhuma das amostras.

4.4 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

4.4.1 Processamento histológico

As hemimaxilas foram fixadas em solução de formaldeído a 4% (Dinâmica®, Diadema, São Paulo, Brasil) durante 48 horas, iniciando imediatamente após a eutanásia e coleta. Foi realizada a descalcificação das amostras com solução de EDTA a 9% (Reatec®, Reagen Ltda, Colombo, Paraná, Brasil), durante 19 dias, sob agitação, sendo que se realizou troca desta solução a cada 3 dias. A confirmação da

descalcificação foi realizada através de teste de perfuração com lima endodôntica do tipo Flexo-File número 25 (Maillefer, Dentsply®, São Paulo, São Paulo, Brasil), em região de esmalte do primeiro molar, repetido com periodicidade semanal. Após confirmada a descalcificação, realizou-se enxágue em água corrente *overnight*. As amostras foram submetidas ao processamento histológico automatizado (TP 1020, Leica Byosystems, Nussloch, Alemanha), iniciando pela desidratação em concentrações crescentes de álcool, passando pela diafanização em xilol, e chegando na fase final de impregnação e inclusão em parafina. A inclusão foi conduzida de tal modo que as amostras foram posicionadas com a região média da hemimaxila voltada para o solo.

4.4.2 Microtomia

Os blocos de parafina foram submetidos à microtomia para a obtenção de cortes histológicos específicos para coloração com hematoxilina e eosina-floxina (HE) e para realização de técnica imuno-histoquímica (IHQ) para o neuropeptídeo Substância P (SP).

Para a primeira técnica, coletaram-se cortes de 5 µm de espessura em lâminas de vidro convencionais (3 a 4 cortes por lâmina) e, para a segunda, cortes de 3 µm de espessura (apenas 1 corte por lâmina) em lâminas de vidro previamente tratadas com solução de silano.¹⁶⁶

A sequência de coleta dos cortes foi alternada entre aqueles destinados à técnica HE e aos destinados à IHQ, sendo que se iniciou a coleta a partir da observação, com o auxílio de lupa simples, do contorno dentário do primeiro molar. Para confirmar que os cortes obtidos continham a área de interesse (polpa coronária e cervical do primeiro molar) realizou-se coloração com a técnica HE. Novos cortes eram obtidos até observada a região de interesse em microscópio ótico. Para cada amostra, foram selecionados para análise 3 cortes histológicos para HE (tanto do lado teste – hemi-maxila esquerda –, quanto do lado controle – hemi-maxila direita), e ao menos 1 corte para IHQ (apenas do lado teste – hemi-maxila esquerda).

Todas as lâminas, após a microtomia, permaneceram em estufa a 60°C para fixação dos cortes à lâmina, durante um período mínimo de 24 horas.

4.4.3 Coloração com hematoxilina e eosina-floxina (HE)

A coloração seguiu a técnica convencional para HE descrita abaixo:

- a. Desparafinização: as lâminas foram submersas em dois banhos de soluções de xilol, com permanência de 10 minutos em cada solução;
- b. Hidratação: consistiu em quatro banhos de soluções com diferentes concentrações de álcool etílico (100%, 90%, 70% e 50%), seguidos de dois banhos em água de torneira e outros dois banhos em água destilada;
- c. Coloração com solução de Hematoxilina de Mayer: permanência das lâminas em hematoxilina durante 15 minutos, seguida de banho em água corrente de igual duração para diferenciação, finalizando com um banho único em álcool 80%;
- d. Coloração com solução de Eosina-Floxina: permanência das lâminas em eosina-floxina durante 5 minutos;
- e. Desidratação: sequência de três banhos de álcool absoluto e dois de xilol.
- f. Montagem: montagem das lâminas com meio Permount® (Fisher, New Jersey, EUA) e lamínula.

4.4.4 Técnica imuno-histoquímica (IHQ) para o neuropeptídeo Substância P (SP)

Para as reações imuno-histoquímicas, foram selecionadas as lâminas que apresentavam melhor qualidade de cortes histológicos, ou seja, ausência de dobras teciduais e presença do contorno dentário do primeiro molar, identificáveis a olho nu e/ou com o auxílio de lupa simples. Ao menos um corte histológico de cada animal foi submetido à técnica imuno-histoquímica, sendo que foi considerado apenas o lado teste para todos os grupos, ou seja, hemi-maxila esquerda.

Os cortes foram desparafinizados em uma sequência de três banhos de xilol, de 10 minutos cada, e hidratados em uma sequência decrescente de álcool etílico (100%, 90%, 70%, e 50%), seguido de dois banhos de água destilada.

A recuperação antigênica foi realizada pela imersão das lâminas histológicas em solução tampão citrato de sódio (pH 6,0) em banho-maria a 97,7°C durante 20 minutos, seguida de enxágue em água corrente por igual período de tempo, e banho em solução PBS (solução salina tamponada com fosfato - 0,1M e pH 7,4).

Realizou-se bloqueio da peroxidase endógena através da imersão das lâminas em três banhos de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 6% (20 volumes), sendo

de 10 minutos de duração cada banho. As lâminas foram, então, lavadas em água corrente durante 20 minutos, e depois em PBS.

Para o bloqueio dos sítios não específicos, os cortes foram incubados em solução de soro albumina bovina (BSA, *bovine serum albumin*) a 2% durante 1 hora em câmara úmida, à temperatura ambiente. Depois, novamente lavados em PBS.

Seguiu-se com a aplicação do anticorpo primário *mouse anti-rat* Substância P (*mouse anti-SP*, anticorpo monoclonal IgG₁, sc-58591, Santa Cruz Biotechnology®, Santa Cruz, CA, EUA) na diluição de 1:500 em solução de PBS com BSA a 1%. Os cortes foram incubados durante 20 horas em câmara úmida, em geladeira a 4°C. Lavou-se em três banhos de PBS, e aplicou-se a solução com anticorpo secundário biotinilado (sc-2017, ImmunoCruz™ mouse ABC Staining System, Santa Cruz Biotechnology®, Santa Cruz, CA, EUA), e incubou-se durante 30 minutos em câmara úmida a 37°C. Os cortes foram lavados em três banhos de PBS e incubados em solução de avidina e HRP (*horseradish peroxidase*) biotinilado (sc-2017, ImmunoCruz™ mouse ABC Staining System, Santa Cruz Biotechnology®, Santa Cruz, CA, EUA) durante 30 minutos em câmara úmida a 37°C.

Após enxágue dos cortes em três banhos de PBS, a reação foi revelada usando solução cromogênica de DAB (*3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride*) (sc-2017, ImmunoCruz™ mouse ABC Staining System, Santa Cruz Biotechnology®, Santa Cruz, CA, EUA), durante 5 minutos, seguida de enxágue em água corrente por 10 minutos, e banho único em água destilada.

A contra-coloração foi realizada com solução de Hematoxilina de Mayer durante 90 segundos, e enxágue em água corrente por 3 minutos.

Para montagem das lâminas, os cortes foram desidratados em sequência crescente de álcool etílico (50%, 70%, 80%, 95%, 100%), e imersos em xilol. Finalmente foram montadas com meio de montagem Permount® (Fisher, New Jersey, EUA) e lamínula de vidro.¹⁶⁶⁻¹⁶⁸

4.5 ANÁLISE DAS AMOSTRAS

4.5.1 Análise dos pesos dos animais

Os pesos dos animais (em gramas – g) foram avaliados ao longo do estudo, principalmente a fim de observar possíveis diferenças entre o peso inicial e aquele

após a instalação dos dispositivos metálicos intrabucais. Para tanto, verificou-se a normalidade dos dados e, ao ser observada uma distribuição não-paramétrica (tanto para os dados originais, quando para a sua transformação logarítmica), optou-se pela análise utilizando o teste de Friedman com pós-teste de Dunn's, considerando significância estatística se o valor de $p \leq 0,05$.

4.5.2 Obtenção das imagens em HE e análise histopatológica dos tecidos pulpaes

Com o auxílio do microscópio ótico binocular Olympus BX41 (Olympus, Tóquio, Japão) com câmera Olympus DP72 (Olympus, Tóquio, Japão), selecionaram-se os cortes histológicos nos quais era possível observar a região de interesse, ou seja, região de polpa coronária e cervical do primeiro molar (ver Figura 12). Prosseguiu-se com a captura de fotos da região de interesse, através do *software cellSens* (Olympus, Tóquio, Japão). Para cada amostra, foram selecionados 3 cortes histológicos, sendo que de cada corte foram fotografadas 4 regiões diferentes da polpa coronária e cervical, com a lente objetiva de 40x e ocular de 10x, gerando imagens com o aumento, portanto, de 400x. O critério para captura das imagens foi a observação, no campo de visão da objetiva de 40x, da maior quantidade de área pulpar, acompanhada de margem em dentina (ver Figura 12).

FIGURA12. Corte histológico de dente controle, indicando as regiões da polpa coronária



Fonte: A autora.

Para as análises foram consideradas como região de interesse apenas as regiões **A** (polpa mesial cervical) e **B** (polpa mesial média). Aumento de 40 vezes (objetiva de 4x).

Os critérios avaliados nas imagens em HE foram:

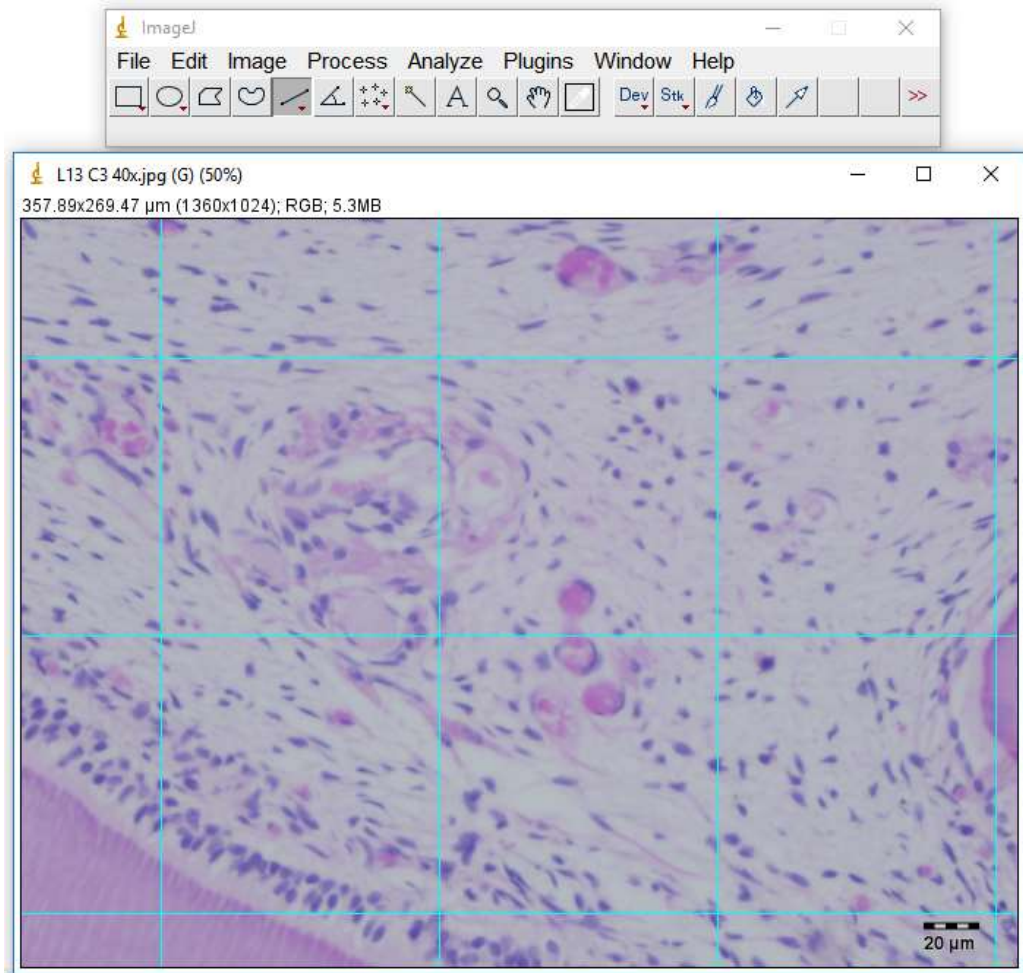
- a. Infiltrado inflamatório: Considerou-se uma avaliação qualitativa do infiltrado inflamatório, a partir da mensuração da concentração de células polimorfonucleares e mononucleares, segundo a classificação por escores utilizada por Scheffel e colaboradores (2015) (ver Quadro 1).¹³⁷ Para auxiliar no processo de identificação das células inflamatórias, empregamos as ferramentas *Grid* e *Zoom* do *software* livre ImageJ (ver Figura 13).¹⁶⁹
- b. Características do tecido pulpar: Realizou-se análise qualitativa das respostas dos tecidos moles de acordo com o apresentado no Quadro 1.
- c. Condição da camada de odontoblastos: Verificou-se qualitativamente a condição da camada de odontoblastos de acordo com o apresentado no Quadro 1.
- d. Resposta dos tecidos dentinários: Foi analisada, de forma qualitativa, a resposta dos tecidos duros de acordo com o apresentado no Quadro 1.
- e. Alterações vasculares: As alterações vasculares foram analisadas de forma quantitativa, através da mensuração da área ocupada por vasos sanguíneos nas imagens histológicas. Para tanto, utilizou-se das ferramentas *Set Scale*, *Grid*, *Zoom*, *Polygon selection* e *Area Measurement*, presentes no *software* ImageJ. Ou seja, após calibração da imagem através da barra de escala e da ferramenta *Set Scale*, realizou-se o contorno perimetral de todos os vasos sanguíneos presentes na imagem, usando a ferramenta *Polygon selection*. Na sequência, mensurou-se a área de cada vaso sanguíneo (ferramenta *Area Measurement*), e, por fim, obteve-se o somatório das áreas para cada imagem (ver Figura 14).

QUADRO 1 – Classificação por escores para o infiltrado inflamatório, características do tecido pulpar, condição da camada de odontoblastos, e resposta dos tecidos dentinários

Escore	Infiltrado inflamatório¹³⁷	Características do tecido pulpar¹⁷⁰	Condição da camada de odontoblastos¹⁷¹	Resposta dos tecidos dentinários¹⁷⁰
0	Nenhuma ou poucas células inflamatórias na área pulpar;	Não há mudanças detectáveis na estrutura dos tecidos moles da polpa;	Camada de odontoblastos intacta;	Ausência de dentina terciária;
1	Leve infiltrado de células inflamatórias;	Tecido pulpar fibrosado;	Camada de odontoblastos desorganizada;	Formação de dentina terciária;
2	Moderado infiltrado de células inflamatórias;	Algum nível de necrose do tecido pulpar.	Camada de odontoblastos rompida.	Nódulos pequenos no tecido pulpar;
3	Severo infiltrado de células inflamatórias.	- - -	- - -	Nódulos grandes no tecido pulpar.

Fonte: A autora.

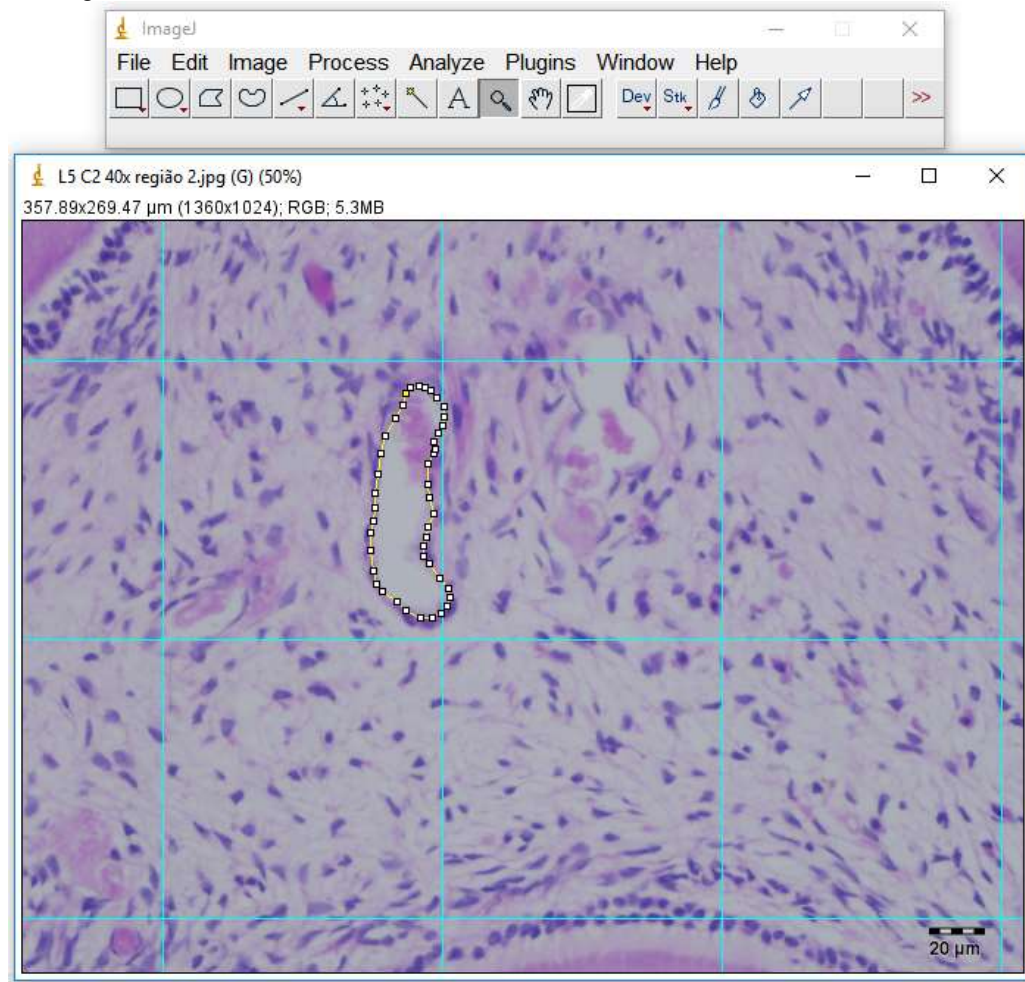
FIGURA 13. Polpa coronária méso-cervical de dente controle



Fonte: A autora.

A ferramenta *Grid* do *software ImageJ* facilitou o processo de análise da imagem ao dividi-la em sextantes. Este processo foi utilizado para a identificação das células inflamatórias e também para a mensuração dos vasos sanguíneos.

FIGURA 14. Polpa coronária méso-cervical de dente controle, durante a mensuração da área ocupada por vasos sanguíneos



Fonte: A autora.

A ferramenta *Grid* do *software ImageJ* facilitou o processo de análise da imagem ao dividi-la em sextantes. Já as ferramentas *Zoom*, *Polygon selection* e *Area Measurement* permitiram o contorno perimetral dos vasos sanguíneos, seguido da obtenção da área para cada vaso. Os valores das áreas dos vasos foram somados para obter o valor por imagem analisada.

4.5.3 Análise imuno-histoquímica da expressão do neuropeptídeo Substância P (SP) nos tecidos pulpaes

Os cortes histológicos tratados pela técnica de imuno-histoquímica para Substância P (SP) foram observados em microscópio ótico binocular Olympus BX41 (Olympus, Tóquio, Japão), e analisados de forma qualitativa por um único observador. Buscou-se identificar a presença de imuno-marcações na região de polpa coronária do primeiro molar (objetiva de 40x, aumento de 400x), e, quando possível, apontar a região tecidual na qual houve expressão da Substância P (SP) (objetiva de 100x, aumento de 1000x). Fotomicroscopias ilustrativas foram tomadas com o auxílio da

câmera Olympus DP72 (Olympus, Tóquio, Japão) e do *software* cellSens (Olympus, Tóquio, Japão).

4.5.4 Reprodutibilidade intraexaminador

A análise dos dados foi realizada por um único pesquisador calibrado e cego. Testes de confiabilidade e de concordância intraexaminador foram realizados para todos os critérios mensurados neste estudo. Tal calibração intraexaminador foi realizada em 10% das amostras, considerando os dados obtidos para cada corte histológico, e consistiu em duas mensurações, sendo que o intervalo de tempo entre a primeira e a segunda mensuração foi de 48 horas.¹⁷²

Para os dados quantitativos contínuos, referentes à mensuração da área dos vasos sanguíneos, foram utilizados os testes de Coeficiente de Correlação Intraclassa (CCI)^{173–175} e o gráfico de concordância de Bland-Altman,^{175–178} realizados através dos *softwares* SPSS (IBM® SPSS® Statistics, versão 20, SPSS Inc, Chicago, IL, EUA) e GraphPad Prism (versão 6.01 para Windows, GraphPad Software®, La Jolla California, EUA), respectivamente. O CCI foi realizado considerando: o modelo algorítmico misto de duas vias, por tratar-se de um único avaliador (teste intraexaminador); concordância absoluta, pois busca-se observar a concordância entre medidas repetidas, e; CCI de medidas médias, conforme sugerido por Koo e colaboradores (2015) e por Miot (2016).^{173,174}

Já para os dados qualitativos ordinais, ou seja, as avaliações por escores do infiltrado inflamatório, características do tecido pulpar, condição da camada de odontoblastos, e resposta dos tecidos dentinários, foi utilizada a distribuição de frequência através do *software* SPSS (IBM® SPSS® Statistics, version 20, SPSS Inc, Chicago, IL, EUA).

4.5.5 Análise estatística dos resultados

A análise estatística das variáveis qualitativas ordinais foi realizada após obtida a mediana dos escores das lâminas histológicas, para cada um dos animais. O teste não-paramétrico de Wilcoxon foi utilizado para comparações entre o dente submetido à recessão gengival e ao tratamento, e o dente homólogo (sem recessão e sem tratamento). Já para a comparação entre os diferentes grupos (considerando

apenas o dente que recebeu a recessão gengival e os tratamentos), foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis. Caso fossem encontradas diferenças entre os grupos, as comparações múltiplas seriam feitas com pós-teste de Dunn.

Para a análise da área ocupada por vasos sanguíneos, ou seja, variável quantitativa contínua, previamente foi testada a normalidade dos dados por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. Confirmada a não-normalidade da distribuição dos dados, os dados foram, então, submetidos à transformação logarítmica, em que também não foi obtida distribuição dentro da normalidade. Desta forma, os modelos estatísticos aplicados foram testes de natureza não-paramétrica. As comparações entre o dente-teste e o seu dente homólogo foram executadas com o teste de Wilcoxon. E as comparações intergrupos foram efetuadas com o teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn.

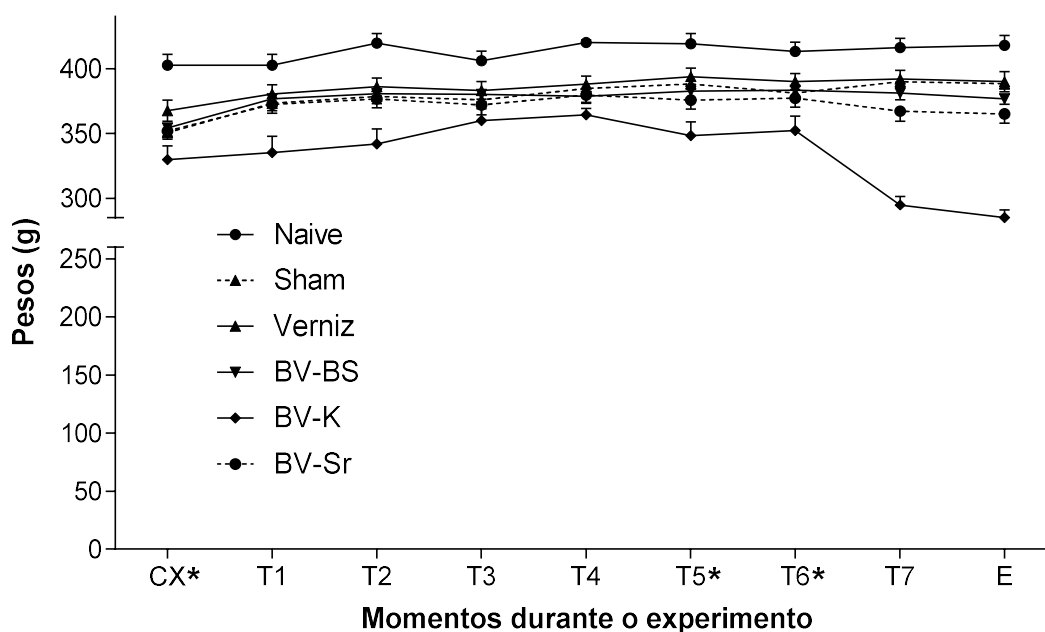
Para todos os testes realizados, adotou-se nível de significância de 0,05 ($p \leq 0,05$), e todos os cálculos foram realizados utilizando o *software* estatístico GraphPad Prism (versão 6.00 para Windows, GraphPad Software®, La Jolla California, EUA, www.graphpad.com).

5 RESULTADOS

5.1 PESOS DOS ANIMAIS

Observou-se, independentemente do grupo ao qual pertenciam os animais, considerando os diferentes tempos de tratamento, um aumento gradativo no peso, desde o momento do primeiro procedimento (CX - cirurgia de recessão gengival, seguida de instalação do dispositivo metálico). Um aumento significativo foi apontado pelos testes estatísticos entre o momento CX e o momento T5 (momento do tratamento 5), e também entre o momento CX e o momento T6 (momento do tratamento 6). É possível visualizar graficamente (ver Figura 15) certa diminuição no peso dos animais a partir do momento T7 (momento do tratamento 7) no grupo BV-K, porém, esta diferença não foi considerada estatisticamente significativa. Também se observa que todos os grupos apresentaram gráficos com comportamentos bastante similares.

FIGURA 15. Gráfico com representação ilustrativa dos pesos médios (g) dos ratos, por grupo, ao longo dos diferentes momentos do experimento



Fonte: A autora.

No eixo Y observam-se os pesos (g) dos animais (média e erro padrão), e no eixo X estão os diferentes momentos ao longo do experimento. CX - cirurgia de recessão gengival, seguida de instalação do dispositivo metálico; T1 - remoção do dispositivo metálico, seguido da aplicação do primeiro tratamento (dia zero); T2 - aplicação do segundo tratamento (dia 4); T3 - aplicação do terceiro tratamento (dia 8); T4 - aplicação do quarto tratamento (dia 12); T5 - aplicação do quinto tratamento (dia 16); T6 - aplicação do sexto tratamento (dia 20); T7 - aplicação do sétimo tratamento (dia 24); E - eutanásia.

5.2 REPRODUTIBILIDADE INTRAEXAMINADOR

Para os critérios qualitativos ordinais (infiltrado inflamatório, características do tecido pulpar, condição da camada de odontoblastos, e resposta dos tecidos dentinários), realizou-se a comparação entre as duas mensurações, correspondentes ao processo de calibração intraexaminador, através da análise de frequência disponível no programa SPSS (IBM® SPSS® Statistics, versão 20, SPSS Inc, Chicago, IL, EUA). Para as análises de concordância, nas mensurações quanto ao infiltrado inflamatório, consideraram-se os escores provenientes de cada um dos grids avaliados, sendo que o programa estatístico apontou 74% referente à frequência concordante entre as duas avaliações realizadas em momentos distintos pelo mesmo examinador, indicando que há reprodutibilidade para a maioria das amostras analisadas.

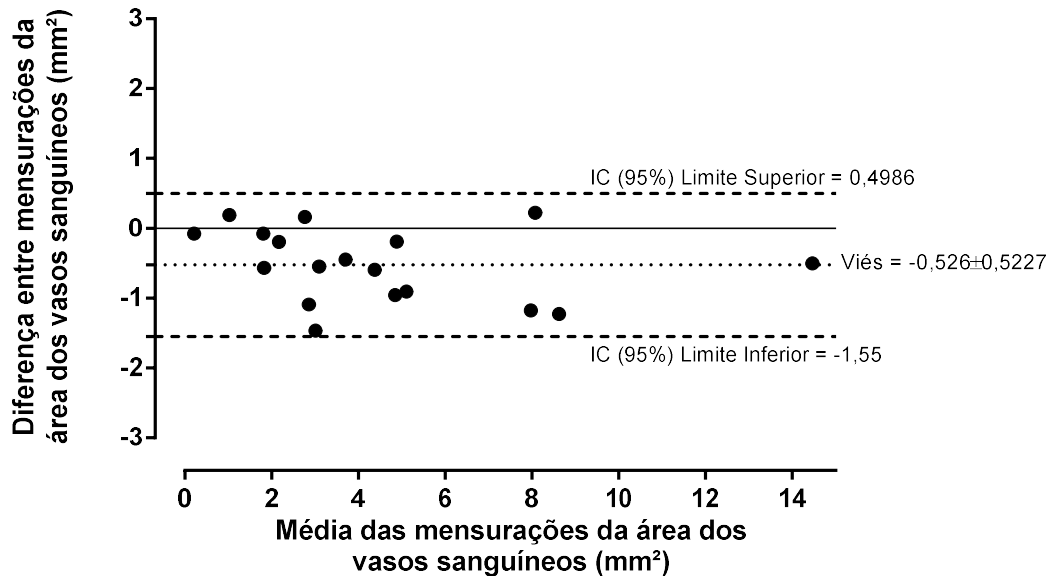
Quanto à análise de tecido pulpar, da camada de odontoblastos e de tecidos dentinários, observou-se 100% de concordância entre os escores da primeira e da segunda mensurações, ao aplicar a análise de frequências absolutas para a diferença igual a zero.

Quanto aos dados quantitativos contínuos, ou seja, mensuração da área vascular, a análise de confiabilidade intraexaminador, obtida a partir do teste de Coeficiente de Correlação Intraclassa (CCI), para os dados de área dos vasos sanguíneos, mostrou que, para o Intervalo de Confiança (IC) de 95% (de 0,892 a 0,997), a confiabilidade é 0,989, considerada excelente.¹⁷⁴ No entanto, a literatura demonstra que essa alta confiabilidade, quando associada a um conjunto de dados heterogêneos (no caso deste estudo houve variação entre 0,1730 a 14,7167 nas mensurações realizadas), trata-se, na verdade, de uma superestimação do valor de CCI (0,989), e que, quando há uma precisão tão alta, é importante adotar outros métodos, como, por exemplo, o gráfico de concordância de Bland-Altman.¹⁷⁵

A análise de Bland-Altman revelou que há concordância entre as duas mensurações realizadas em diferentes momentos para a determinação da área dos vasos sanguíneos, sendo que todas as medidas se encontravam dentro do Intervalo de Confiança (de -1,55 a 0,4986) (ver Figura 16). Portanto, o gráfico de Bland-Altman confirmou que há forte reprodutibilidade entre as duas mensurações realizadas em momentos diferentes por um mesmo examinador, ou seja, a mensuração manual através de fotomicroscopia e das ferramentas disponíveis no *software* ImageJ (NIH)¹⁶⁹

foi válida e confiável para a obtenção da área dos vasos sanguíneos presentes em uma determinada amostra histológica.

FIGURA 16. Gráfico de Bland-Altman



Fonte: A autora.

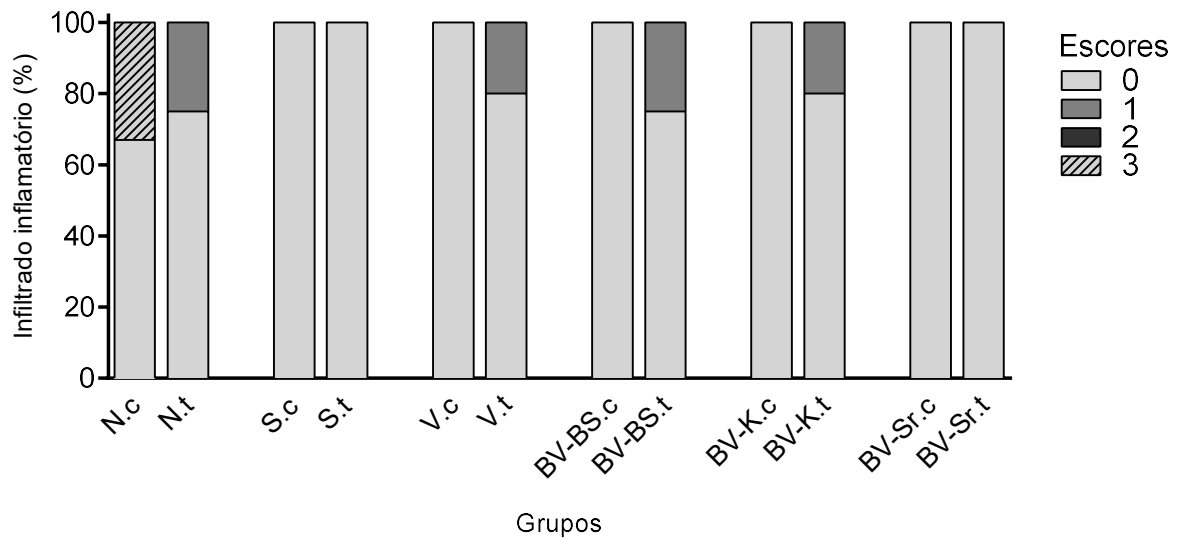
Concordância intraexaminador das mensurações da área dos vasos sanguíneos na polpa dos primeiros molares superiores de ratos (grupos controle e experimentais), realizadas em dois momentos diferentes com intervalo de 48h. Não há pontos sobrepostos. Todas as medidas estão dentro do intervalo de confiança.

5.3 RESULTADOS DAS ANÁLISES HISTOPATOLÓGICAS DOS TECIDOS PULPARES

5.3.1 Infiltrado inflamatório

A comparação intragrupos dos dados para infiltrado inflamatório é apresentada na Figura 17.

FIGURA 17. Distribuições da frequência percentual dos escores de infiltrado inflamatório, na comparação intragrupos (dente controle e dente teste)

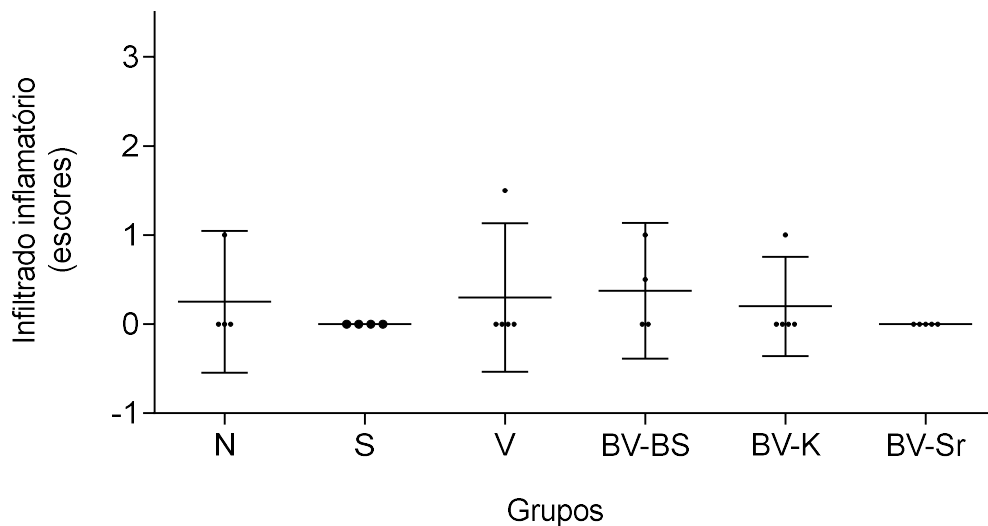


Fonte: A autora.

Escore 0 – Nenhuma ou poucas células inflamatórias na área pulpar; Escore 1 – Leve infiltrado de células inflamatórias; Escore 2 – Moderado infiltrado de células inflamatórias; Escore 3 – Severo infiltrado de células inflamatórias. Diferença não significativa ($p \leq 0,05$, Teste de Wilcoxon).

Na comparação intergrupos (considerando apenas os dentes do lado teste), a maioria dos grupos apresentou valores médios abaixo do escore 1, sendo que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (ver Figura 18).

FIGURA 18. Média e intervalo de confiança (95%) dos valores dos escores de infiltrado inflamatório, na comparação intergrupos

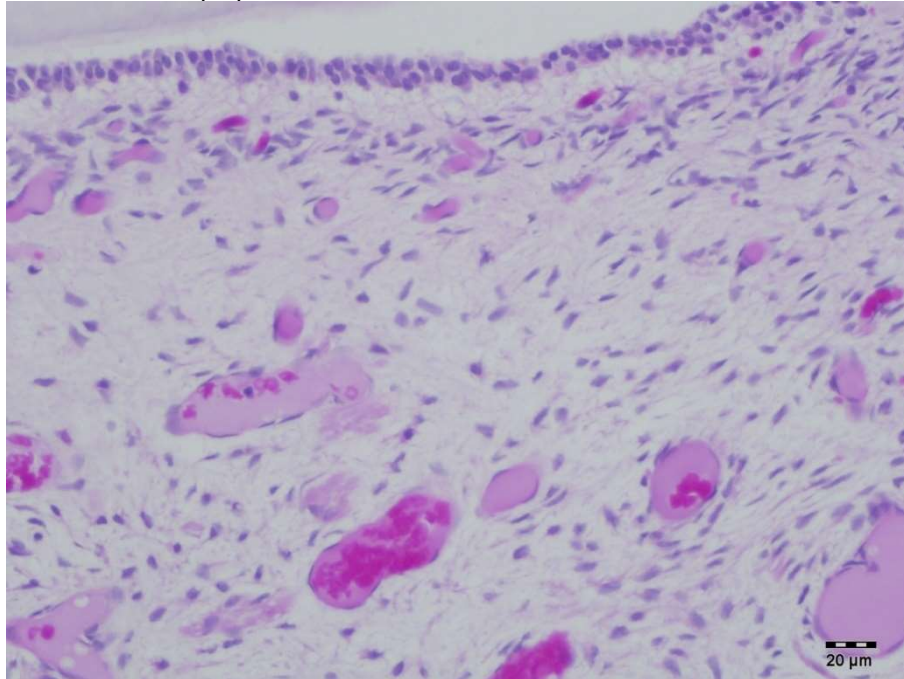


Fonte: A autora.

Escore 0 – Nenhuma ou poucas células inflamatórias na área pulpar; Escore 1 – Leve infiltrado de células inflamatórias; Escore 2 – Moderado infiltrado de células inflamatórias; Escore 3 – Severo infiltrado de células inflamatórias. Diferença não significativa ($p \leq 0,05$, Teste de Kruskal-Wallis).

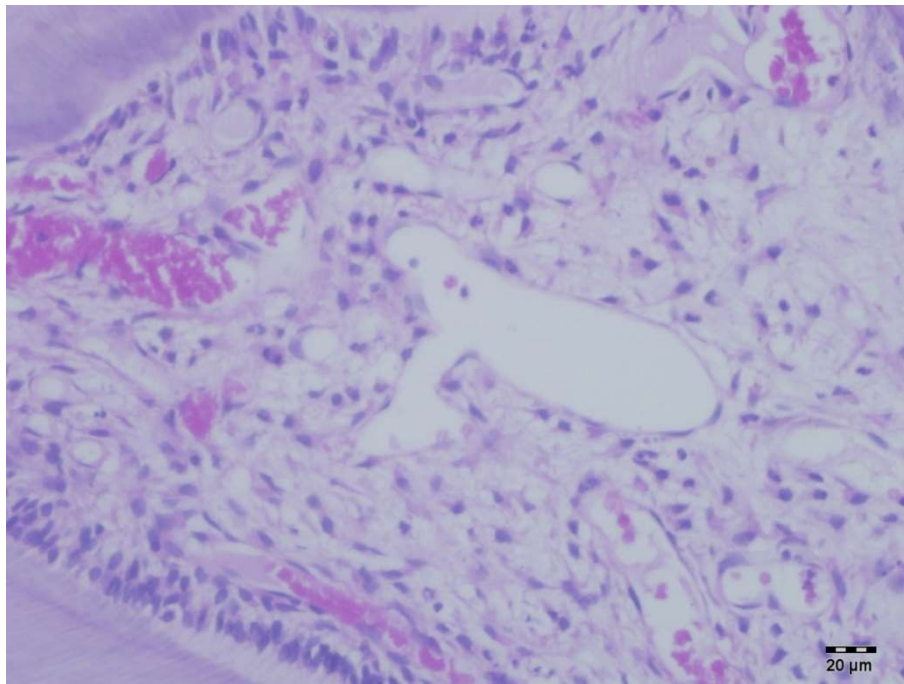
Na sequência, apresentam-se imagens histológicas representativas dos diferentes escores para infiltrado inflamatório (ver Figuras 19, 20, 21 e 22).

FIGURA 19. Região representativa de infiltrado inflamatório de escore 0, ou seja, “nenhuma ou poucas células inflamatórias na área pulpar”



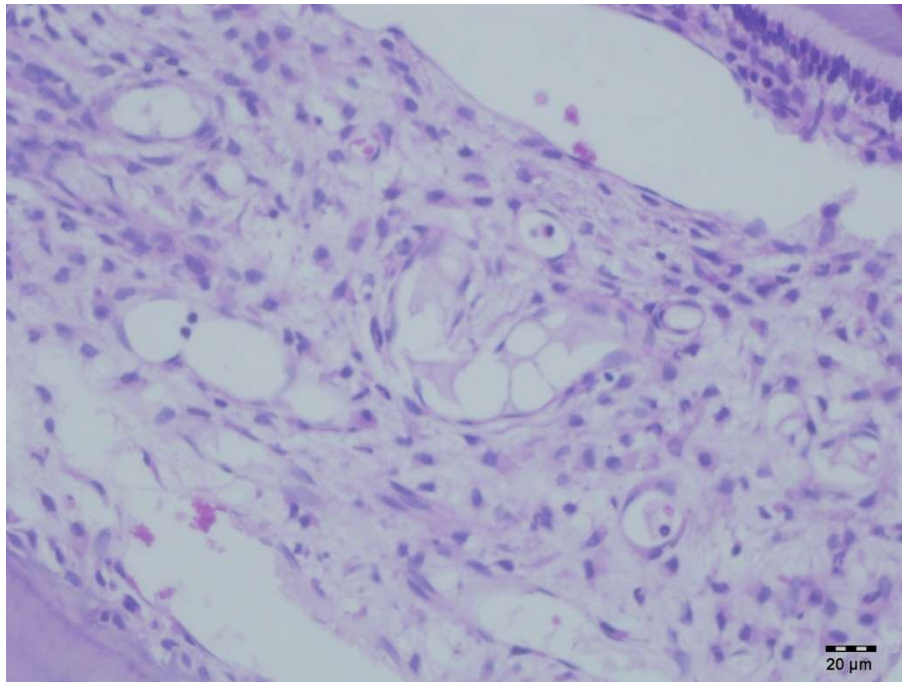
Fonte: A autora.
Polpa coronária de dente do lado controle do grupo V.

FIGURA 20. Região representativa de infiltrado inflamatório de escore 1, ou seja, “leve infiltrado de células inflamatórias”



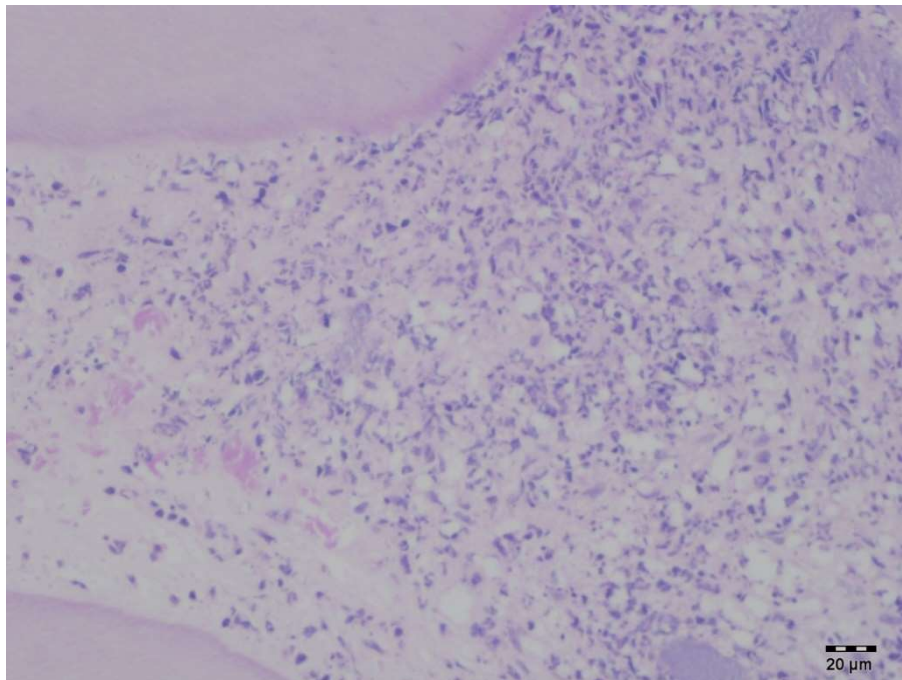
Fonte: A autora.
Polpa coronária de dente do lado teste do grupo BV-BS.

FIGURA 21. Região representativa de infiltrado inflamatório de escore 2, ou seja, “moderado infiltrado de células inflamatórias”



Fonte: A autora.
Polpa coronária de dente do lado teste do grupo BV-BS.

FIGURA 22. Região representativa de infiltrado inflamatório de escore 3, ou seja, “severo infiltrado de células inflamatórias”

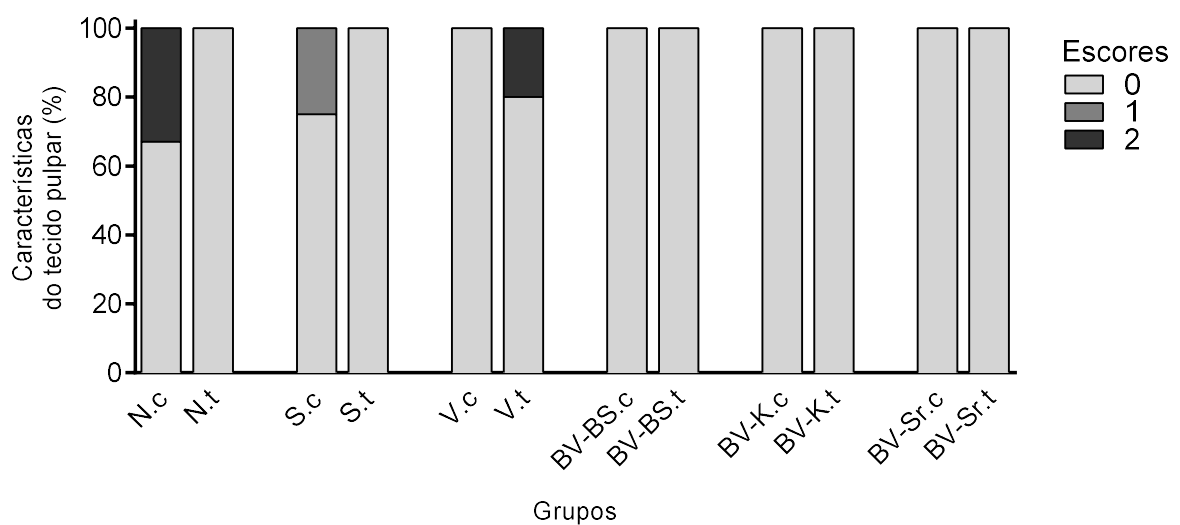


Fonte: A autora.
Polpa coronária de dente do lado teste do grupo BV-BS.

5.3.2 Características do tecido pulpar

Na comparação intragrupos (comparação entre dente controle e dente teste) observamos que a média dos escores para as alterações nas características do tecido pulpar, para a maioria dos grupos, manteve-se abaixo de 1, indicando ausência de alterações pulpares. Sendo que nenhum grupo apresentou diferença entre teste e controle (ver Figura 23).

FIGURA 23. Distribuições da frequência percentual dos escores das características do tecido pulpar, na comparação intragrupos (dente controle e dente teste)

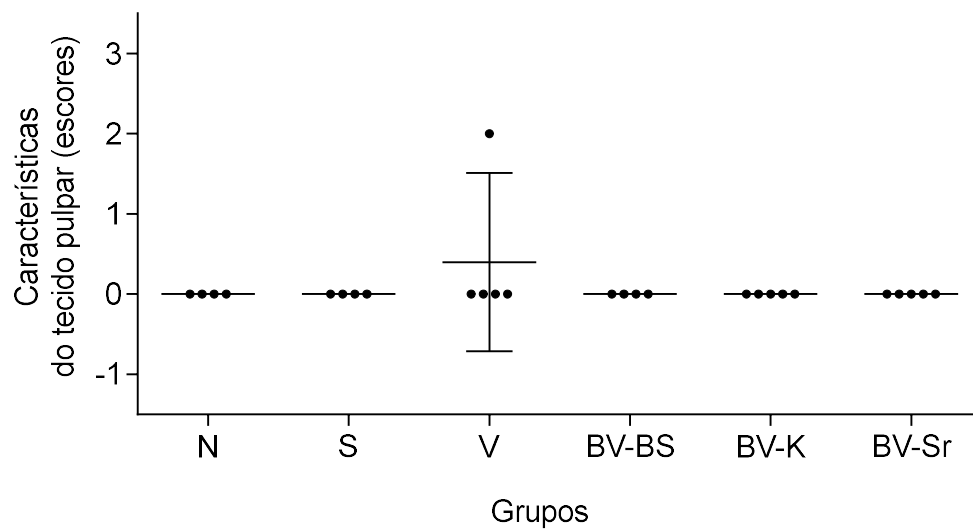


Fonte: A autora.

Escore 0 – Não há mudanças detectáveis na estrutura dos tecidos moles da polpa; Escore 1 – Tecido pulpar fibrosado; Escore 2 – Algum nível de necrose do tecido pulpar. Diferença não significativa ($p \leq 0,05$, Teste de Wilcoxon).

Quanto aos testes intergrupos (lado teste), observou-se que não houve nenhuma diferença estatisticamente significativa para as alterações das características do tecido pulpar (ver Figura 24).

FIGURA 24. Média e intervalo de confiança (95%) dos valores dos escores das características do tecido pulpar, na comparação intergrupos

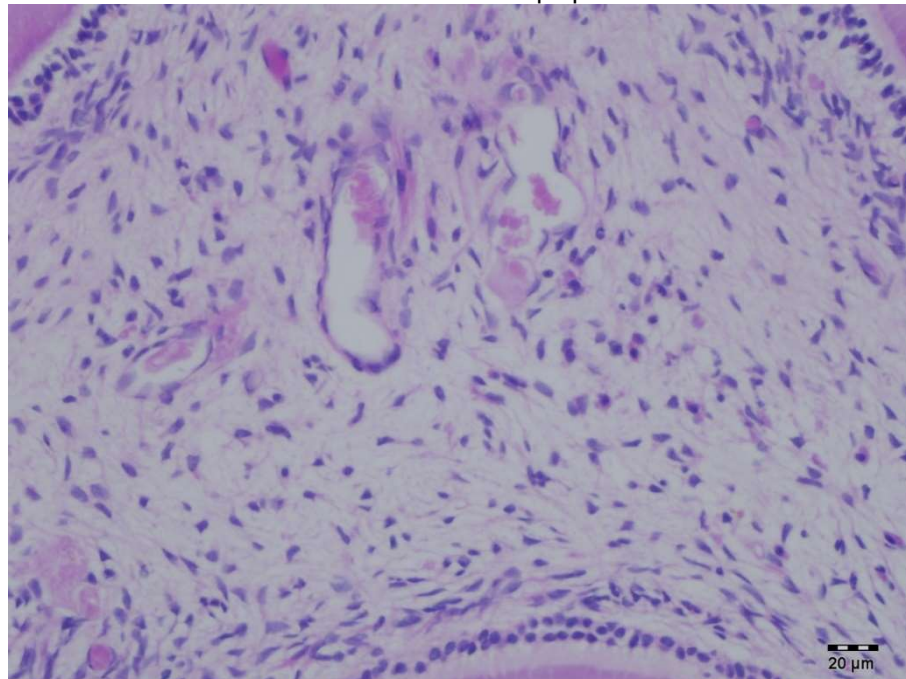


Fonte: A autora.

Escore 0 – Não há mudanças detectáveis na estrutura dos tecidos moles da polpa; Escore 1 – Tecido pulpar fibrosado; Escore 2 – Algum nível de necrose do tecido pulpar. Diferença não significativa ($p \leq 0,05$, Teste de Kruskal-Wallis).

Na sequência, apresentam-se imagens histológicas representativas dos diferentes escores para características do tecido pulpar (ver Figuras 25, 26 e 27).

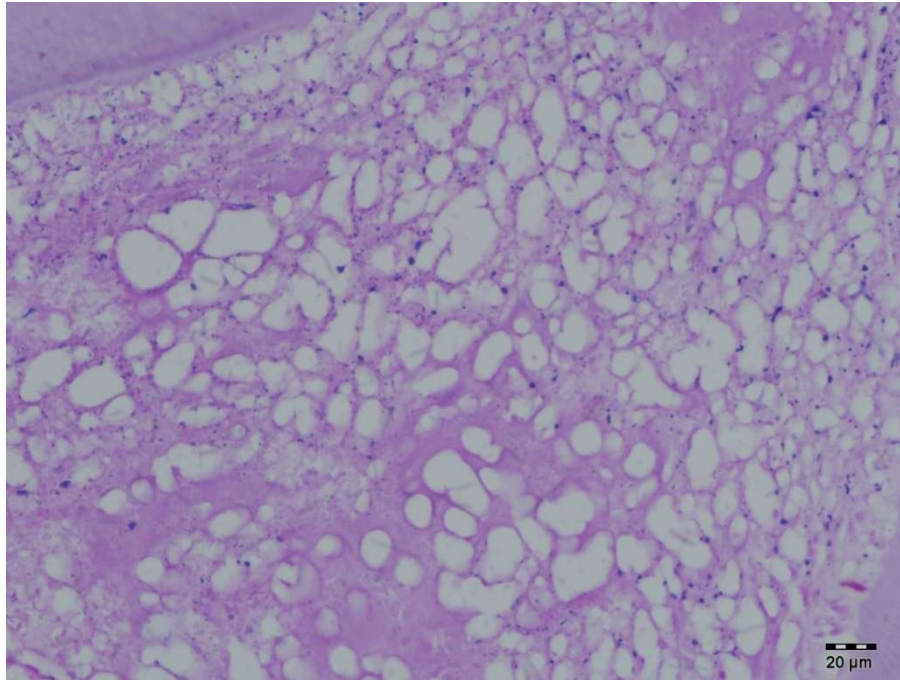
FIGURA 25. Região representativa de características do tecido pulpar de escore 0, ou seja, “não há mudanças detectáveis na estrutura dos tecidos moles da polpa”



Fonte: A autora.

Polpa coronária de dente do lado teste do grupo N.

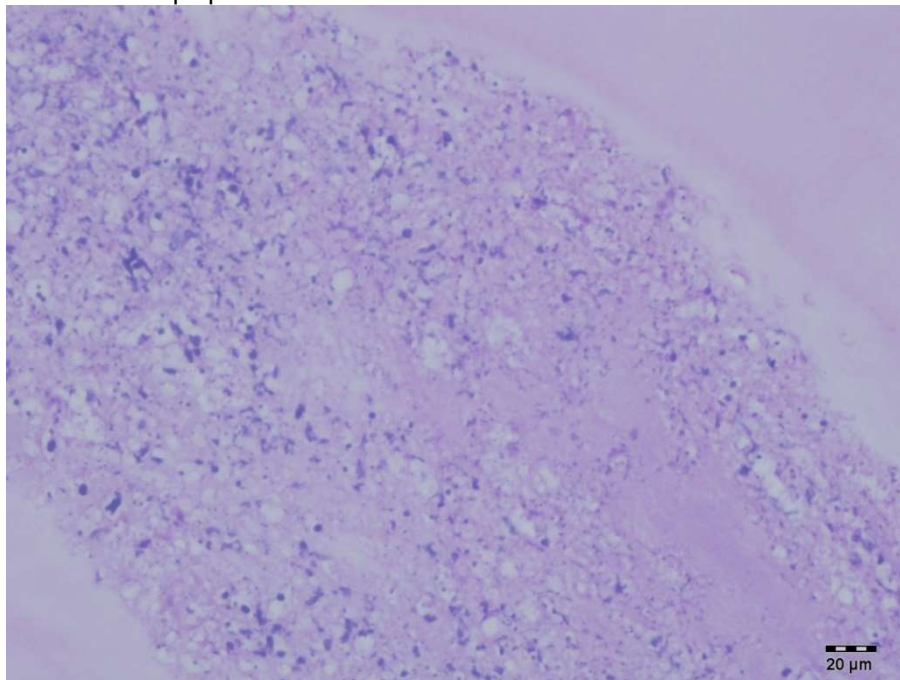
FIGURA 26. Região representativa de características do tecido pulpar de escore 1, ou seja, “tecido pulpar fibrosado”



Fonte: A autora.

Polpa coronária de dente do lado controle do grupo N.

FIGURA 27. Região representativa de características do tecido pulpar de escore 2, ou seja, “algum nível de necrose do tecido pulpar”



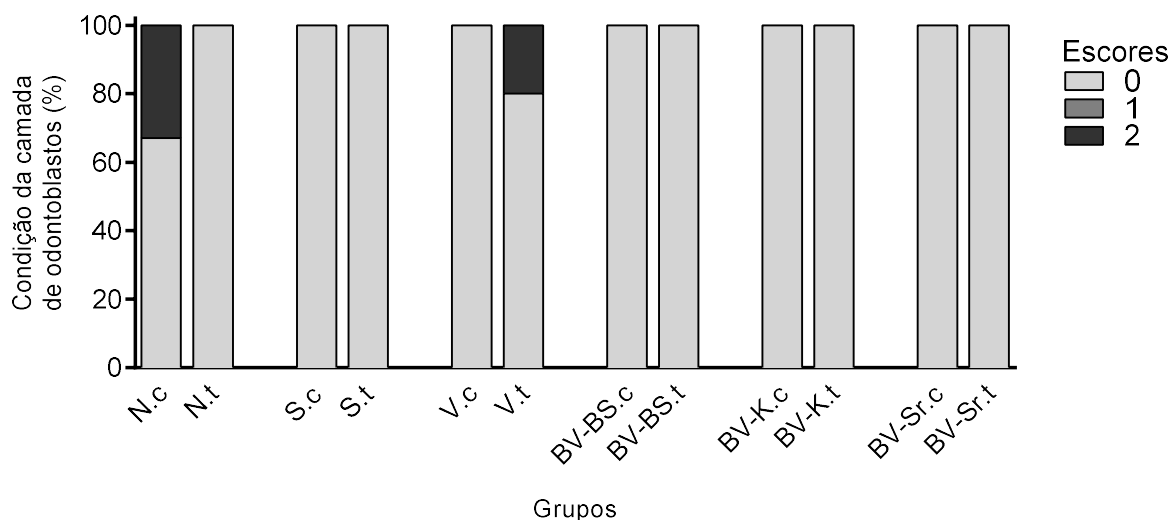
Fonte: A autora.

Região mesial da polpa coronária de dente do lado teste do grupo BV-K. Nesta amostra, apenas a região mesial da polpa coronária apresentou características de necrose.

5.3.3 Condição da camada de odontoblastos

A média dos escores para as alterações na condição da camada de odontoblastos mostra que não houve diferenças significativas entre dente controle e dente teste, em qualquer um dos grupos pesquisados (ver Figura 28).

FIGURA 28. Distribuições da frequência percentual dos escores da condição da camada de odontoblastos, na comparação intragrupos (dente controle e dente teste)

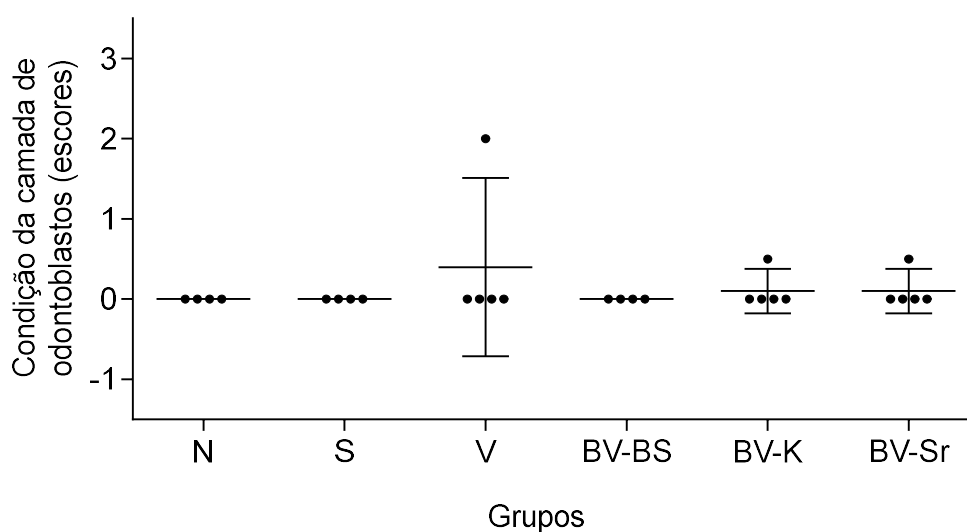


Fonte: A autora.

Não houve diferença significativa entre os grupos. Escore 0 – Camada de odontoblastos intacta; Escore 1 – Camada de odontoblastos desorganizada; Escore 2 – Camada de Odontoblastos rompida. Diferença não significativa ($p \leq 0,05$, Teste de Wilcoxon).

Nos testes comparando os grupos (lado teste), não há diferenças significativas quanto às alterações na condição da camada de odontoblastos (ver Figura 29).

FIGURA 29. Média e intervalo de confiança (95%) dos valores dos escores das alterações na condição da camada de odontoblastos, na comparação intergrupos

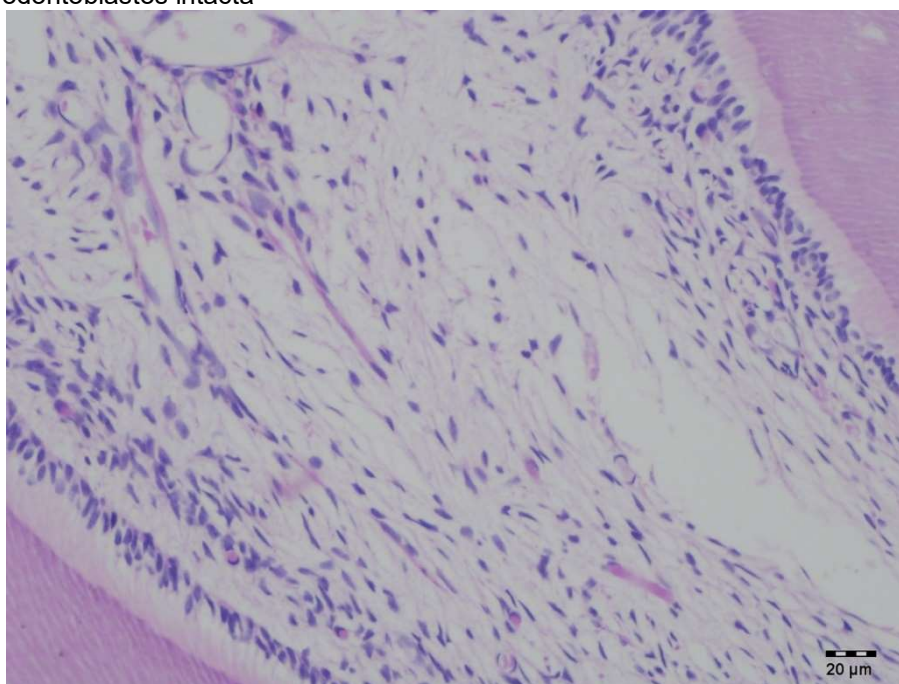


Fonte: A autora.

Escore 0 – Camada de odontoblastos intacta; Escore 1 – Camada de odontoblastos desorganizada; Escore 2 – Camada de Odontoblastos rompida. Diferença não significativa ($p \leq 0,05$, Teste de Kruskal-Wallis).

Na sequência, apresentam-se imagens histológicas representativas dos diferentes escores para características da camada de odontoblastos (ver Figuras 30, 31 e 32).

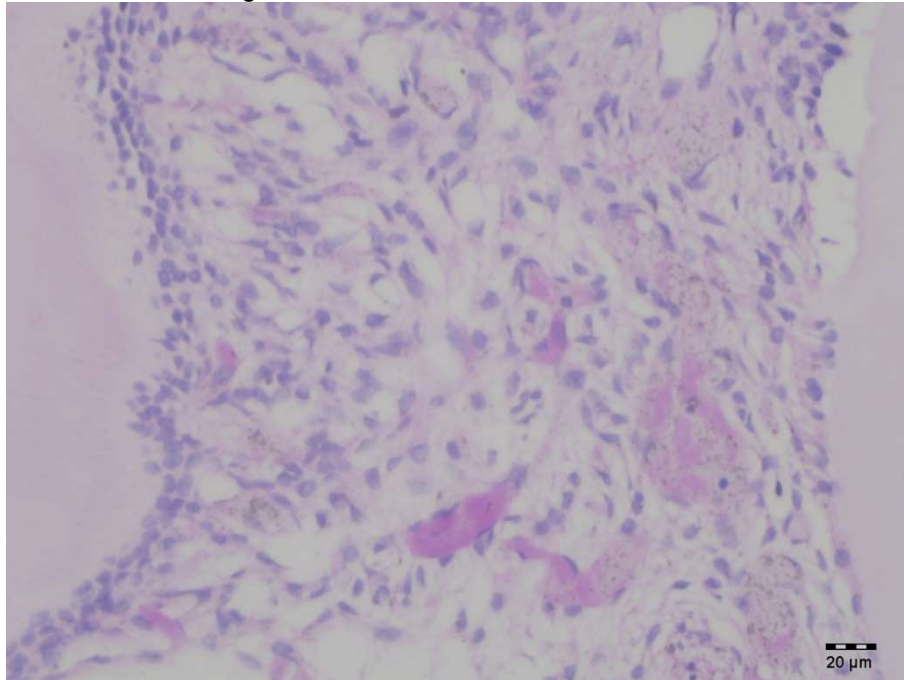
FIGURA 30. Região representativa da condição da camada de odontoblastos de escore 0, ou seja, “camada de odontoblastos intacta”



Fonte: A autora.

Polpa coronária de dente do lado controle do grupo BV-Sr.

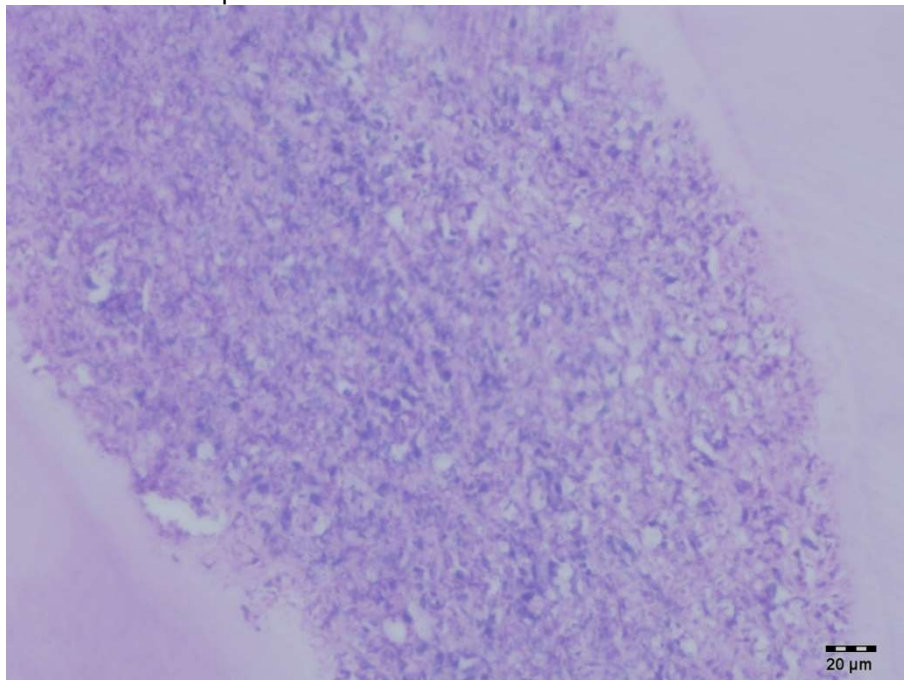
FIGURA 31. Região representativa da condição da camada de odontoblastos de escore 1, ou seja, “camada de odontoblastos desorganizada”



Fonte: A autora.

Polpa coronária de dente do lado teste do grupo BV-K.

FIGURA 32. Região representativa da condição da camada de odontoblastos de escore 2, ou seja, “camada de odontoblastos rompida”



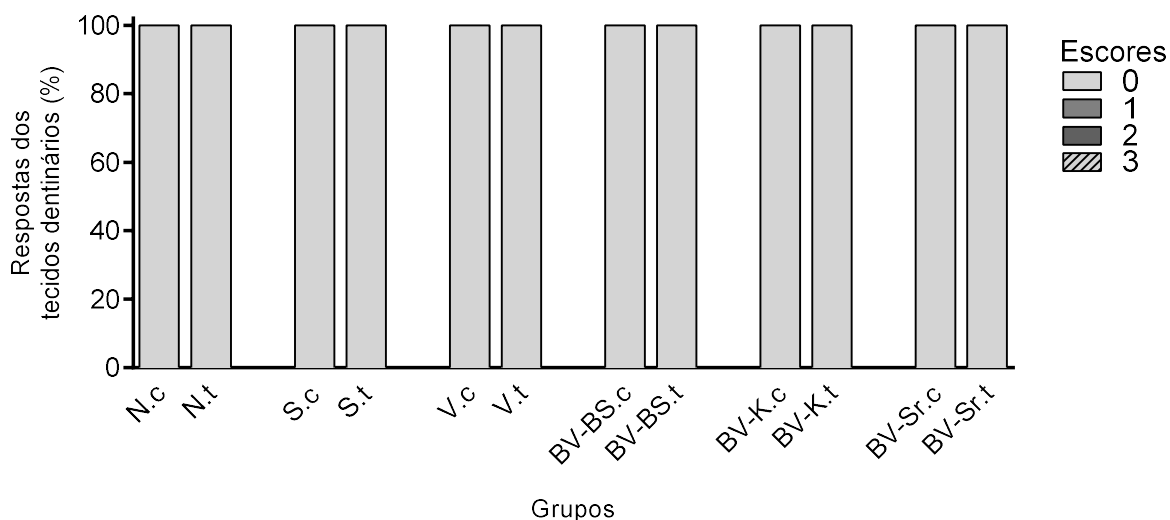
Fonte: A autora.

Polpa coronária de dente do lado teste do grupo BV-Sr.

5.3.4 Resposta dos tecidos dentinários

Os escores para as alterações em relação a resposta dos tecidos dentinários mostram que não houve diferenças significativas entre dente controle e dente teste, em qualquer um dos grupos pesquisados (ver Figura 33).

FIGURA 33. Distribuições da frequência percentual dos escores da resposta dos tecidos dentinários, na comparação intragrupos (dente controle e dente teste)

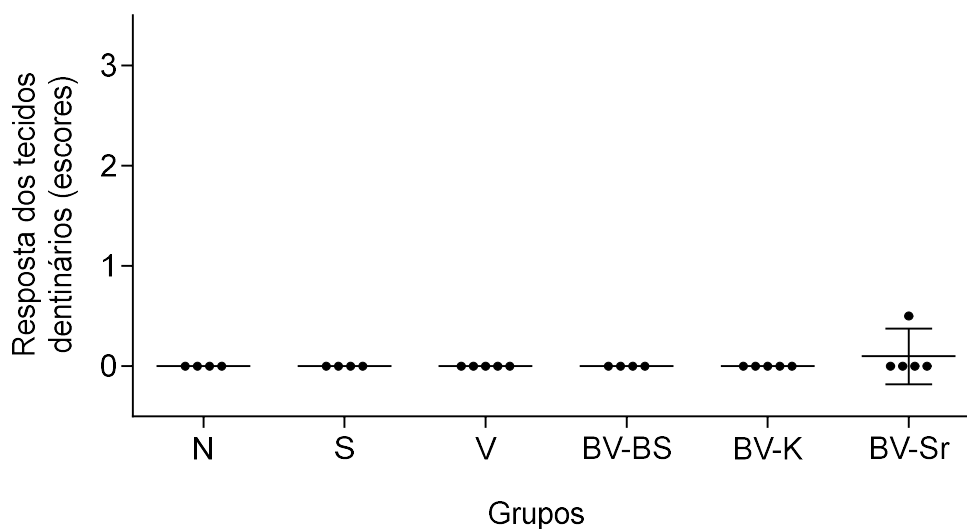


Fonte: A autora.

Escore 0 – Ausência de dentina reparadora; Escore 1 – Formação de dentina reparadora; Escore 2 – Nódulos pequenos no tecido pulpar; Escore 3 – Nódulos grandes no tecido pulpar. Diferença não significativa ($p \leq 0,05$, Teste de Wilcoxon).

Na comparação entre os grupos, considerando apenas o lado teste (dente primeiro molar superior esquerdo) não foi constatada nenhuma diferença estatisticamente significativa (ver Figura 34).

FIGURA 34. Média e intervalo de confiança (95%) dos valores dos escores da resposta dos tecidos dentinários, na comparação intergrupos



Fonte: A autora.

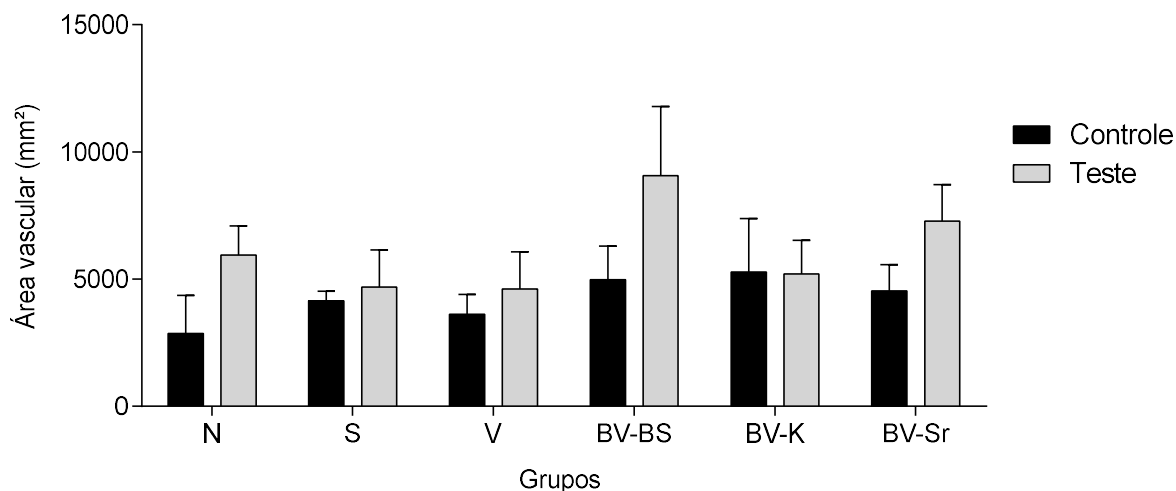
Escore 0 – Ausência de dentina reparadora; Escore 1 – Formação de dentina reparadora; Escore 2 – Nódulos pequenos no tecido pulpar; Escore 3 – Nódulos grandes no tecido pulpar. Diferença não significativa ($p \leq 0,05$, Teste de Kruskal-Wallis).

A ausência de diferenças estatísticas entre os grupos para o parâmetro da resposta dos tecidos dentinários ocorreu devido ao fato de que apenas uma amostra apresentou escore diferente de zero (correspondente à ausência de dentina terciária). Trata-se de uma amostra de um dente teste do grupo BV-Sr, que apresentou escore 1, ou seja, correspondente à formação de dentina terciária, em apenas uma das regiões histológicas analisadas.

5.3.5 Alterações vasculares

Na análise intragrupo, ou seja, comparando o lado teste com o lado controle, verificou-se que não ocorreram diferenças significativas entre o dente controle e o dente teste para nenhum dos grupos estudados (ver Figura 35).

FIGURA 35. Média e erro padrão da área ocupada por vasos sanguíneos na comparação intragrupos (dente controle e dente teste)

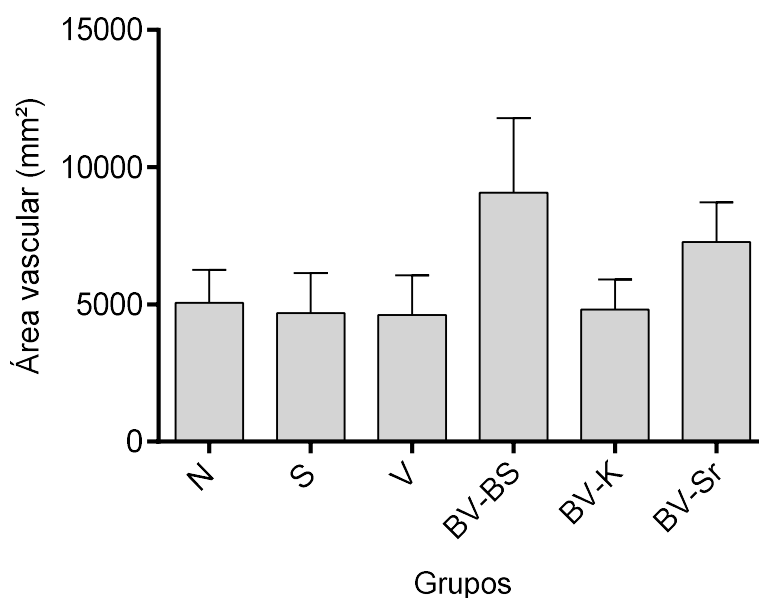


Fonte: A autora.

Não há diferenças estatisticamente significativas entre os grupos estudados. Diferença não significativa ($p \leq 0,05$, Teste de Wilcoxon).

Quanto às comparações intergrupos (lado teste), constatou-se que não há nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os grupos (ver Figura 36).

FIGURA 36. Média e erro padrão da área ocupada por vasos sanguíneos na comparação intergrupos

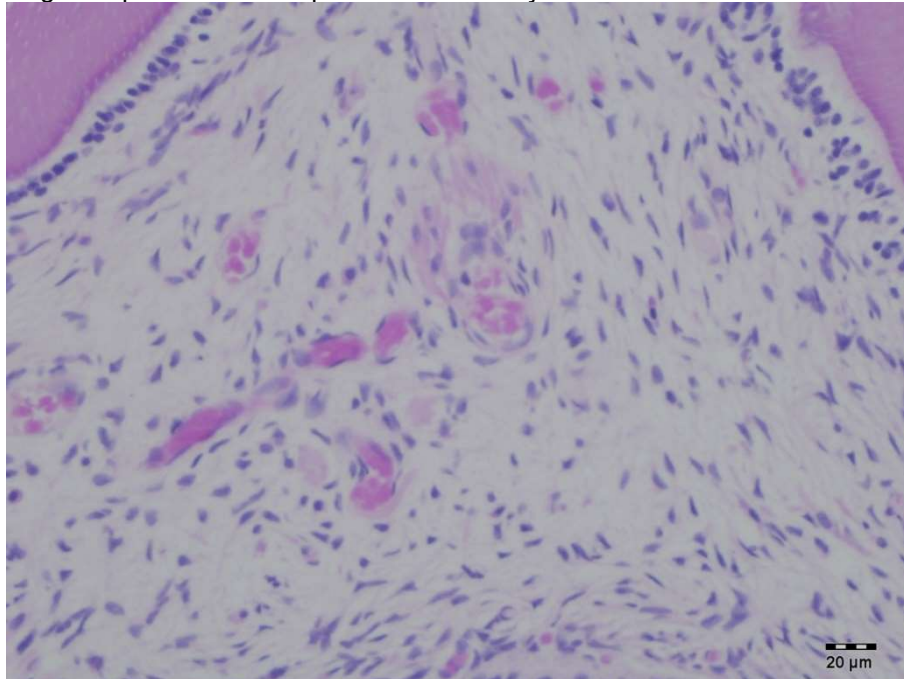


Fonte: A autora.

Não há diferenças estatisticamente significativas entre os grupos estudados. Diferença não significativa ($p \leq 0,05$, Teste de Kruskal-Wallis).

Na sequência, apresentam-se imagens histológicas representativas dos diferentes níveis de vascularização pulpar (ver Figuras 37 e 38).

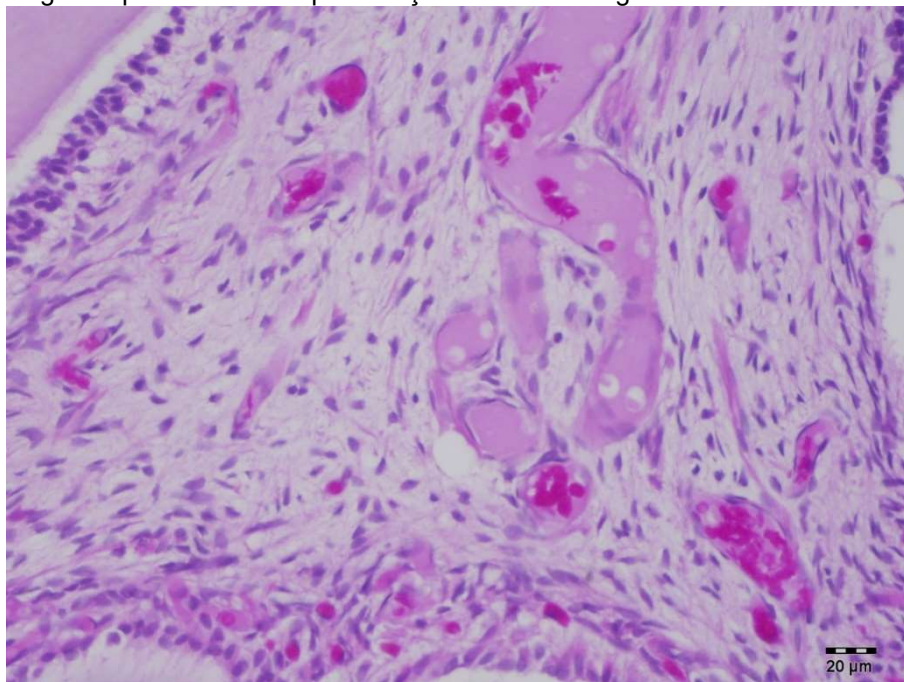
FIGURA 37. Região representativa de pouca vascularização



Fonte: A autora.

Polpa coronária de dente do lado controle do grupo N.

FIGURA 38. Região representativa de proliferação de vasos sanguíneos



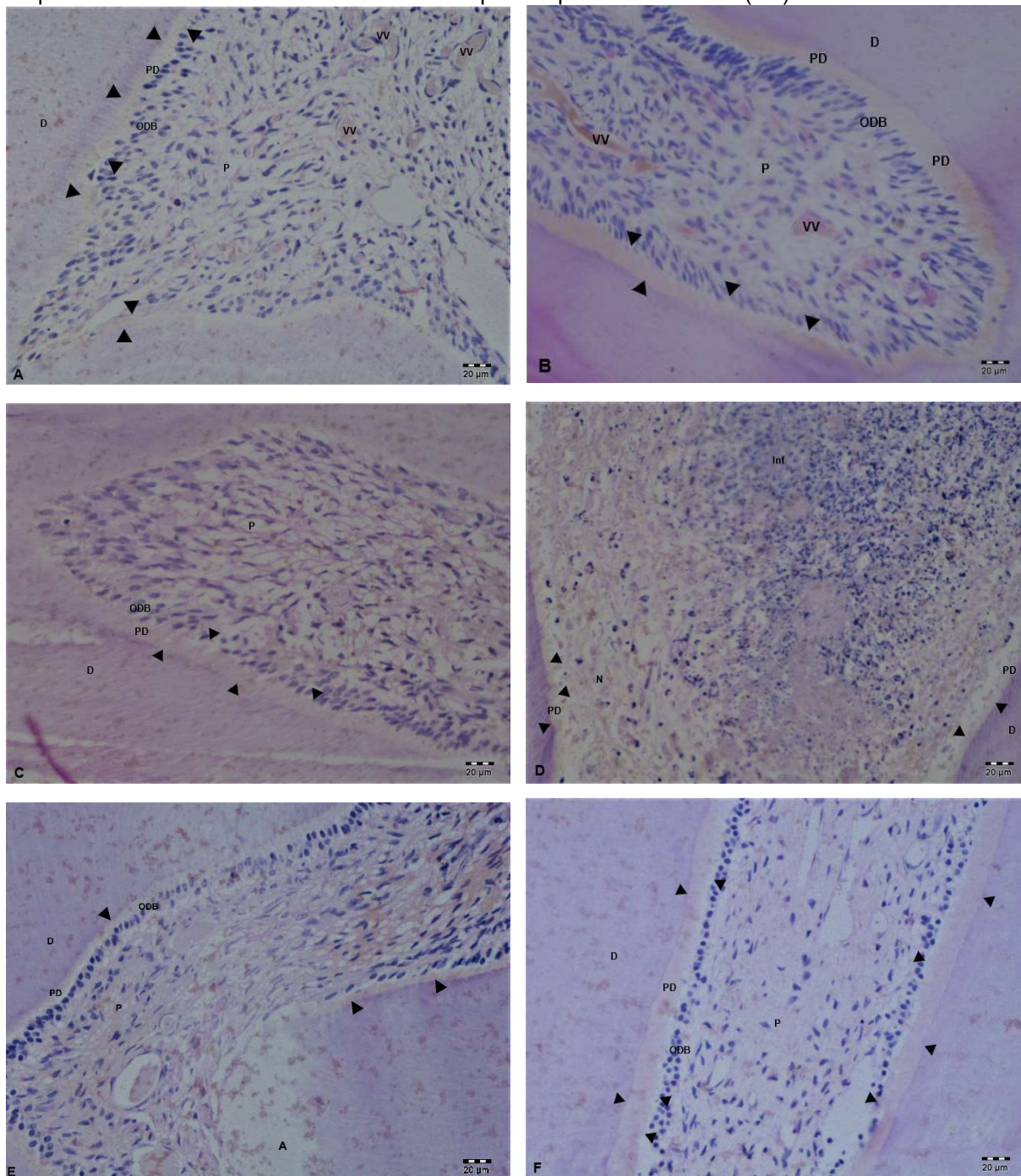
Fonte: A autora.

Polpa coronária de dente do lado teste do grupo BV-BS.

5.4 RESULTADOS DA EXPRESSÃO DO NEUROPEPTÍDEO SUBSTÂNCIA P (SP) NOS TECIDOS PULPARES

Considerando a técnica imuno-histoquímica para identificar presença de marcadores para a substância P (SP), foi possível identificar marcações em regiões específicas, ou seja, na camada de pré-dentina e no ligamento periodontal, em todos os grupos estudados. Contudo, na observação qualitativa, não foram identificadas diferenças entre os grupos quanto ao padrão de marcações, nem mesmo quanto à intensidade da coloração específica para SP (ver Figura 39).

FIGURA 39. Fotomicroscopias de cortes teciduais da polpa dentária do primeiro molar superior esquerdo submetidos à técnica de imuno-histoquímica para substância P (SP)



Fonte: A autora.

Em todos os grupos foi possível observar marcações na camada de pré-dentina (PD). **A.** Grupo Naive (N). **B.** Grupo Sham (S). **C.** Grupo Verniz (V). **D.** Grupo Biosilicato® (BV-BS), com presença de infiltrado inflamatório severo (Inf) e regiões de necrose (N). **E.** Grupo Biovidro contendo potássio (BV-K). **F.** Grupo Biovidro contendo estrôncio (BV-Sr). D – dentina; PD – pré-dentina; ODB – camada de odontoblastos; P – tecido pulpar; VV – vasos sanguíneos; Inf – infiltrado inflamatório severo; N – necrose tecidual; A – artefato da técnica; Seta – indica marcação pelo anticorpo. As imagens foram trabalhadas no aplicativo gratuito Fotos Microsoft para Windows® da Microsoft Corporation®¹⁷⁹ para melhorar brilho, profundidade e contraste entre as cores, a fim de facilitar a visualização das regiões com marcações específicas para SP.

6 DISCUSSÃO

Os resultados deste trabalho mostraram que não há diferenças entre os grupos controles com e sem recessão (N, S e V), e os experimentais (BV-BS, BV-K, BV-Sr) quanto às alterações pulpares, sejam quaisquer os critérios utilizados: severidade da resposta inflamatória (infiltrado inflamatório), presença ou ausência de fibrose ou necrose pulpar (características do tecido pulpar), desorganização ou ruptura da camada de odontoblastos (condição da camada de odontoblastos), presença ou ausência de dentina reparadora e/ou de nódulos pulpares (resposta dos tecidos dentinários), e alterações quanto a área histológica ocupada por vasos sanguíneos. Muito tem se pesquisado sobre as alterações pulpares associadas a condições dentárias, como a síndrome do dente rachado, erosão, abrasão, processos cariosos, aplicação de tratamentos adesivos, dentre outras.^{74,81,180} Porém, poucos estudos enfatizam as diferenças que caracterizariam a hipersensibilidade dentária e a dentinária, e indicam que a HSDC pode ser resultado de inflamação pulpar.^{8,28,181} Contudo, nossos resultados apontam que as condições envolvidas na HSDC parecem estar associadas com pouca ou nenhuma alteração pulpar tecidual verificável pelos métodos histológicos empregados no presente estudo.

Não foi possível observar, na análise qualitativa, diferenças entre os grupos para a intensidade e distribuição da imuno-marcação para o neuropeptídeo substância P (SP). A literatura, apesar de admitir que existem poucas evidências sólidas e conhecimento sobre a condição histopatológica da polpa^{5,181} nos casos de HSDC, indica que após estabelecida a recessão gengival, agentes irritantes externos podem induzir inflamação local na polpa periférica e promover aumento da inervação, levando à inflamação neurogênica pulpar, e ao aumento da sensibilidade dentinária.²⁸ Porém, essa condição de inflamação neurogênica parece estar mais associada às condições de inflamação irreversível da polpa, como a pulpíte, na qual haveria aumento da inervação e dos neuropeptídeos SP e CGRP nas fases iniciais, e aumento do NPY nas fases crônicas.^{28,181} Assim, esta pesquisa pode ser considerada pioneira quanto à avaliação pulpar *in vivo*, em um modelo experimental de exposição dentinária cervical, indicando que não há processo neuroinflamatório significativo, a ponto de ser detectável por imuno-histoquímica em cortes teciduais parafinizados.

Apesar de não terem sido observadas diferenças estatisticamente significativas entre os biomateriais utilizados, destacamos que a literatura traz vários

indícios da eficácia do Biosilicato®, tanto em estudos *in vitro* na obliteração de túbulos dentinários, como em estudos *in vivo* (estudos clínicos) na redução da dor na HSDC, quando empregado na formulação em gel a 1% e, principalmente, ao ser utilizado o seu preparado na concentração de 1:10 em água destilada.³²⁻³⁴

Quanto ao grupo que utilizou o a formulação experimental do biovidro contendo estrôncio, pontuamos que estudos com sais de estrôncio, principalmente o cloreto ou o acetato de estrôncio, em dentifrícios, têm demonstrado efeitos positivos na obliteração de túbulos dentinários e na dessensibilização nervosa em pacientes com HSDC. Bem como, estudos *in vitro* demonstraram diminuição da permeabilidade dentinária promovida por essas formulações, tendo sido relatada a afinidade dos íons de estrôncio à dentina.^{120,138,182}

Em relação ao grupo em que foi aplicado biovidro com potássio, frisamos que biomateriais contendo potássio são amplamente conhecidos na terapêutica para HSDC devido a sua capacidade de promover interrupção do processo álgico, pela liberação e dispersão de íons de potássio através dos túbulos dentinários, alcançando e dessensibilizando as terminações nervosas.^{31,68,120,138} Ainda não existem estudos que expliquem se há ou não a liberação dos íons de potássio quando empregado como componente da formulação de biovidros. Sabe-se que os íons K^+ presentes nos biovidros possuem maior taxa de liberação do que os íons Na^+ , resultando numa maior atividade biológica, ou seja, maior capacidade de, em superfície aquosa, iniciar as trocas iônicas necessárias para formar hidroxicarbonatoapatita.¹⁴⁸ Também se sabe que a composição básica da hidroxicarbonatoapatita, ou seja, $Ca_{10}(PO_4,CO_3)_6(OH)_2$, pode passar por variabilidades, dependendo do seu meio de formação.¹⁸³ Os conteúdos aniônico e/ou catiônico podem ser substituídos por outros íons, sendo que o K^+ pode ser encontrado em substituição ao Ca^{2+} .¹⁸³ Assim, provavelmente, o potássio presente nos biovidros permanece como constituinte do precipitado que se forma após a reação entre biovidro e dentina (hidroxicarbonatoapatita em suas possíveis variações), não alcançando profundidade suficiente dentro dos túbulos dentinários a fim de promover interrupção do impulso nas fibras nervosas. No entanto, apenas análises composicionais específicas, como a espectroscopia de raios X, da superfície do precipitado formado poderiam confirmar esta especulação.

Os resultados aparentemente desfavoráveis para o Biosilicato®, o biovidro de estrôncio, e o biovidro de potássio, ou seja, a ausência de diferenças significativas entre os grupos (N, S, V, BV-BS, BV-K, BV-Sr), na verdade, pode ser reflexo da

exposição dentinária, e não da aplicação do tratamento. Não podemos afirmar que houve injúrias teciduais ou consequências negativas pulpares decorrentes da aplicação dos biovidros.

Os grupos controle, N, S e V, têm especial importância por permitirem facilitar a interpretação dos resultados. O grupo Naive, que não recebeu procedimento cirúrgico, nem instalação de dispositivo metálico, apenas tratamento com substância inerte, teve o mesmo número de sessões de anestesia e, assim, permitiu que fatores, como, por exemplo, a manipulação dos animais, pudessem ser visualizados quanto aos seus possíveis reflexos em alterações pulpares. O grupo Sham, que recebeu procedimento cirúrgico e instalação de dispositivo para indução da recessão gengival, recebeu tratamento com substância inerte, permitindo observar as possíveis alterações pulpares consequentes da recessão gengival, situação *in vivo* ainda não relatada nas publicações científicas. O grupo controle Verniz, no qual foi induzida a recessão, e que recebeu tratamento apenas com o veículo (verniz cavitário), possibilitou a percepção da ação do veículo isolado, se este seria capaz de promover alterações (positivas ou negativas) no complexo dentino-pulpar, facilitando identificar se possíveis efeitos terapêuticos ou danosos seriam decorrentes dos biovidros (princípios ativos) ou se do veículo (verniz).

Em estudos *in vitro*, amplamente realizados nas pesquisas de terapias para HSDC, utilizam-se geralmente discos de dentina, e os grupos controle são essenciais pois permitem observar: o comportamento da dentina sem procedimento de abertura de túbulos e sem nenhum tratamento; o comportamento frente à abertura de túbulos sem tratamento; e o comportamento da dentina quando da aplicação isolada dos veículos, sem os princípios ativos.^{15,32,34,37,124-127,129,133,147,184-195}

O modelo animal utilizado tinha como um de seus principais objetivos simular o ambiente bucal humano, sendo que foi obtido sucesso ao reproduzir as condições de presença de saliva, biofilme, oclusão, alimentação e mastigação, bem como possíveis alterações na função mastigatória, e na saúde dos tecidos circunjacentes, ou seja, os animais permaneceram com todas as funções do sistema estomatognático viáveis, sem fraturas e/ou perdas dentárias. Além de ter sido possível reproduzir a condição de exposição dentinária que acontece no paciente periodontal após uma sessão de raspagem. Isto é, através do procedimento cirúrgico de indução da recessão gengival, que, em uma única sessão (estímulo “agudo”), promoveu remoção dos tecidos gengival, ósseo e cementário, expondo túbulos dentinários e

desobliterando-os pelo uso de EDTA. Sendo que uma das poucas características que não se conseguiu reproduzir foi a ação abrasiva decorrente de escovação dentária.

O procedimento cirúrgico de recessão gengival e exposição da dentina cervical que foi utilizado no modelo experimental do presente trabalho busca simular as características da HSDC que tipicamente ocorrem no paciente após tratamento periodontal não-cirúrgico. Sabe-se que a raspagem e aplainamento radicular resulta em um aumento da resposta dentária a estímulos,¹⁹⁶ sendo que a taxa de prevalência de HSDC nestes casos pode acometer metade dos pacientes.⁵³ A intensidade da HSDC tende a aumentar nas primeiras semanas após a raspagem, diminuindo em seguida.⁵³ Ou seja, o modelo experimental que foi empregado possui importante similaridade com as condições clínicas do paciente periodontal após as sessões de raspagem e alisamento radicular, visto que em ambas as situações, as circunstâncias responsáveis por desencadear a HSDC ocorrem de maneira “aguda”, isto é, um único procedimento que gera consistente exposição da dentina cervical.

Esta condição é diferente do que ocorre clinicamente nos casos de HSDC resultante da exposição gradativa da dentina cervical/radicular, como nos casos de recessão gengival e/ou perda dos minerais do esmalte cervical, por fatores como, por exemplo, o trauma, bruxismo, alimentação ácida, e refluxo gastro-esofágico.^{14,18,20,23,41} Nestas situações, os fatores causais atuam com uma determinada frequência, e com baixa intensidade, ou seja, de uma maneira “crônica”. Há, na literatura científica, estudos experimentais que simularam os fatores causais crônicos da HSDC através da utilização de bebidas de baixo pH em substituição à água de consumo em modelo animal (ratos),^{143,197,198} ou seja, trata-se de um modelo de HSDC induzida por perda mineral (erosão).

Havia, portanto, uma carência na literatura de modelos experimentais que tivessem similaridade com a recorrente situação clínica de HSDC consequente das sessões de tratamento periodontal não-cirúrgico. Isto posto, entende-se que o presente trabalho conseguiu trazer avanços dentro das pesquisas sobre HSDC.

A análise dos pesos dos animais ao longo de todo o tratamento nos permitiu verificar que houve ganho de peso de forma gradativa e contínua durante a maioria das etapas. O modelo empregado, tanto em relação à indução da recessão gengival associada à exposição de túbulos dentinários, quanto em relação à aplicação dos tratamentos, não se mostrou prejudicial, de um modo geral, à saúde sistêmica dos animais, pois aparentemente não exerceu influência substancial na alimentação.

Sendo este também um ponto a ser considerado favorável quanto à similaridade com uma situação clínica de HSDC.

O EDTA, como agente desobliterador de túbulos dentinários, tem sido amplamente utilizado em estudos *in vitro*. Há pesquisas que avaliam a estrutura dentinária após o uso de EDTA através de microscopia eletrônica de varredura (MEV),^{189,199–202} de microscopia a laser Confocal,^{203,204} de testes de permeabilidade,^{185,205} dentre outros métodos. A preocupação em reproduzir adequadamente túbulos dentinários abertos é essencial em estudos sobre HSDC, pois nas situações clínicas em que a HSDC se desenvolve frequentemente não ocorre apenas a exposição dentinária, mas sim ocorre uma grande quantidade de túbulos abertos e com diâmetros ampliados.^{3–6,8,27}

A estrutura química do EDTA é responsável pela sua capacidade quelante, tornando-o eficiente ao promover desobliteração de túbulos, penetrar nos mesmos, remover as camadas minerais da dentina peritubular, aumentar a permeabilidade dentinária e expor fibras colágenas, além de ser essencial para a remoção quase que completa da *smear layer*.^{185,199,200,204–206}

O fato do EDTA possuir um pH neutro o torna capaz de remover de forma seletiva os íons de cálcio da estrutura dentinária, e também ser potencialmente menos prejudicial à polpa vital, se compararmos com substâncias de pH baixo, como, por exemplo, os ácidos láctico, cítrico, fosfórico e ortofosfórico, os quais também são empregados em estudos *in vitro* com o intuito de expor os túbulos dentinários.^{184,189,200–202}

Estes ácidos, devido ao seu potencial de causar dano pulpar e de não serem tão eficientes na desmineralização seletiva e na remoção de *smear layer* quanto o EDTA, não seriam indicados para a desobliteração de túbulos nas condições de um modelo *in vivo*, como é o caso deste trabalho. Sendo, portanto, o EDTA a substância utilizada em estudos *in vitro* que melhor se enquadra nas necessidades deste modelo.

Quanto ao tempo de tratamento e a frequência das aplicações, foram considerados os trabalhos na literatura, envolvendo tanto testes *in vitro*, quanto estudos clínicos. Nestes estudos para o tratamento da hipersensibilidade dentinária através de métodos ou substâncias dessensibilizantes e/ou obliteradoras, foram utilizados tempos de tratamentos variáveis, desde aplicações únicas e de duração curta, como, por exemplo, de 5 minutos, a até o uso de substâncias por intervalos de tempo de 12 semanas.^{142,184,203} Há autores que destacam a relevância de se utilizar

um tempo de tratamento mínimo de 8 semanas para a hipersensibilidade dentinária, porém reconhecem que é necessário observar que o efeito máximo a ser alcançado depende do tipo de produto que está sendo testado.² Outros autores recomendam, ainda que as terapias para HSDC devem iniciar-se com produtos de uso domiciliar por 2 a 4 semanas, e em caso de não melhora dos sintomas, então, iniciar a terapia em consultório.¹⁵⁹ Os tempos de tratamentos mais comumente empregados na literatura variam de 7 a 28/30 dias,^{159–164,207,208} prevalecendo aqueles tratamentos de aproximadamente um mês de duração.^{159–162,164} Nestes trabalhos, as frequências de aplicação variaram desde aplicações diárias,^{161,162} até aplicações semanais,²⁰⁷ sendo que alguns trabalhos utilizaram intervalos de 48 ou 72 horas entre cada aplicação de produto.^{160,163} Desse modo, considerando os protocolos mais comumente utilizados na literatura nos estudos *in vitro* e clínicos para tratamento da HD, e considerando as possíveis periodicidades clínicas na rotina de consultório (praticidade para o cirurgião-dentista, e comodidade para o paciente), foi optado por um modelo de tratamento em que foi realizada 1 aplicação a cada 4 dias, durante 28 dias.

O ambiente bucal possui as suas características de agressividade à dentina exposta, como, por exemplo, a queda do pH devido à alimentação ácida ou ao acúmulo de biofilme.^{1,2,8,30,31} O pH baixo no ambiente bucal piora o quadro de HSDC e constitui-se num desafio importante aos biomateriais que, uma vez aplicados sobre a superfície dentinária exposta, se propõem a obliterar ou dessensibilizar o dente com HSDC.¹⁸² Para simular estas condições bucais que ocorrem clinicamente, realizou-se a aplicação tópica de ácido fosfórico a 10% em solução aquosa, durante 20 segundos.

O ácido fosfórico é amplamente utilizado na indústria alimentícia, como acidulante de bebidas, regulador de doçura, para realçar o paladar e como conservante, devido ao seu baixo custo comercial. A maioria dos refrigerantes possui teor de ácido fosfórico entre 0 e 1%.²⁰⁹ Cada vez mais, dietas ácidas, incluindo o consumo de refrigerantes, tornam-se comuns e frequentes, sendo que alguns estudos indicam associação de HSDC e LCNC com dietas ácidas.^{3,8,209} Além disso, sabe-se que minerais depositados sobre a dentina têm a sua dissolução facilitada pelo ambiente bucal ácido, o qual também é conhecido por reabrir túbulos e alterar a condutância hidráulica da dentina.^{196,210,211} A literatura demonstra que não há alterações significativas na resposta pulpar ao aplicar sobre a dentina exposta diferentes concentrações de ácido fosfórico (10%, 30%, 50% ou 70%).²¹² Portanto, no

presente estudo, optou-se pela aplicação tópica de ácido fosfórico a 10%, com o intuito de simular as condições bucais.

Apesar da aplicação tópica do ácido fosfórico não promover a diminuição do pH do meio bucal como um todo, como ocorreria de forma temporária numa situação clínica de dietas ácidas, esta forma de aplicação permite ao operador controle sobre local e quantidade de ácido, ou seja, sabe-se que há contato entre o ácido e o dente. Este controle não seria possível se fosse utilizada uma forma de administração em que o ácido fosse ingerido pelo animal.^{143,197,198} Além disso, a aplicação tópica não causa possíveis alterações estomacais e/ou sistêmicas, as quais poderiam influir como um viés do estudo.

Contudo, considera-se que dentre as limitações do nosso modelo está o desafio ácido. A aplicação de ácido fosfórico logo após os tratamentos pode promover a diminuição prematura do contato entre biovidro e superfície dentinária, seja por remoção ou diluição do princípio ativo.

Outra limitação que podemos apontar foi a utilização do verniz cavitário como veículo. A literatura demonstrou que outros veículos, como água destilada e formulações em gel, apresentaram eficácia no uso clínico de biovidros,³² porém a escolha do verniz cavitário deu-se pelas suas características adesivas temporárias, pois promoveria aumento do tempo de contato entre biovidro e dentina. No entanto, trata-se de um material de alta viscosidade, e esta característica pode ter dificultado o contato de uma maior quantidade do biovidro com a superfície da dentina. Essa viscosidade do verniz, e a aplicação de ácido fosfórico logo após os tratamentos, podem ter contribuído para não terem sido observadas diferenças estatísticas entre os grupos.

Também podemos apontar como limitação do estudo o fato de que, como mencionado anteriormente, nos casos de HSDC decorrentes dos procedimentos de tratamento periodontal não cirúrgico, as manifestações dolorosas costumam aumentar durante as primeiras semanas após a intervenção, e, na sequência, a sensação dolorosa tende a diminuir.⁵³ Neste modelo, a eutanásia nos animais deu-se no 25º dia após a intervenção (remoção do dispositivo metálico e desobliteração de túbulos com EDTA). Assim, é possível que algumas alterações pulpareas não tenham sido observadas pois podem ter ocorrido em tempo anterior ao da eutanásia.

Considerando todo o exposto, bem como as ressalvas concernentes às limitações deste trabalho, entende-se que o modelo *in vivo* apresentado possui

reprodutibilidade em relação às condições em humanos. Portanto, torna-se interessante dar continuidade às pesquisas, a fim de melhor elucidar os processos de alterações pulpares, principalmente quanto à participação dos variados neuropeptídeos relacionados à resposta neuroinflamatória, pois podem fornecer explicações relacionadas à transmissão do impulso nervoso. Em relação ao uso dos biovidros, deve-se considerar a utilização de diferentes veículos para a sua aplicação em dentina, buscando entender tanto como se caracterizam os diferentes precipitados, como seus possíveis efeitos sobre o complexo dentino-pulpar em momentos distintos do processo de indução da HSDC e de seu tratamento.

7 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos com o presente estudo, é possível concluir que não foram observadas alterações pulpares ou aumento de neuropeptídeos nos dentes com recessão gengival induzida com túbulos dentinários abertos após os diferentes tratamentos.

Assim, o uso das técnicas convencionais histológicas e imuno-histoquímicas via microtomia tecidual não foram capazes de identificar processos neuroinflamatório e neuroálgico associados à túbulos dentinários expostos. Ou seja, não foram verificadas alterações teciduais detectáveis pelos métodos aqui empregados.

Considerando que existe, na literatura científica, poucos estudos que investigam os mecanismos neuroinflamatórios pulpares da hipersensibilidade dentinária cervical, torna-se necessário dar continuidade a esta linha de investigação, sendo importante averiguar processos neuroinflamatórios sutis e imediatos, o que implicaria em modelos de estudo com diferentes tempos de eutanásia, associado a processos mais sensíveis de detecção de alterações e de neuropeptídeos presentes na neuroinflamação pulpar. Bem como, a utilização de tratamentos com biovidros em modelo *in vivo* também precisam continuar sendo explorados, objetivando melhor entender o comportamento destes biomateriais, seus precipitados minerais em superfície dentinária e seus efeitos sobre o complexo dentino-pulpar, após a indução da HSDC.

REFERÊNCIAS

1. CANADIAN ADVISORY BOARD ON DENTIN HYPERSENSITIVITY. Consensus-based recommendations for the diagnosis and management of dentin hypersensitivity. **Journal of the Canadian Dental Association**, v. 69, n. 4, p. 221–226, 2003.
2. HOLLAND, G. R. et al. Guidelines for the design and conduct of clinical trials on dentine hypersensitivity. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 24, p. 808–813, 1997.
3. WEST, N. X. et al. Dentin hypersensitivity: pain mechanisms and aetiology of exposed cervical dentin. **Clinical Oral Investigations**, v. 17, supl. 1, p. S9–S19, 2013.
4. ABSI, E. G.; ADDY, M.; ADAMS, D. Dentine hypersensitivity - a study of the patency of dentinal tubules in sensitive and non-sensitive cervical dentine. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 14, p. 280–284, 1987.
5. BARTOLD, P. M. Dentinal hypersensitivity: a review. **Australian Dental Journal**, v. 51, n. 3, p. 212–218, 2006.
6. CUMMINS, D. Dentin Hypersensitivity: From Diagnosis to a Breakthrough Therapy for Everyday Sensitivity Relief. **The Journal of Clinical Dentistry**, v. 20, n. 1, p. 1–9, 2009.
7. CUNHA-CRUZ, J. et al. The prevalence of dentin hypersensitivity in general dental practices in the northwest United States. **The Journal of the American Dental Association**, v. 144, n. 3, p. 288–296, 2013.
8. DABABNEH, R. H.; KHOURI, A. T.; ADDY, M. Dentine hypersensitivity — an enigma? A review of terminology, epidemiology, mechanisms, aetiology and management. **British Dental Journal**, v. 187, n. 11, p. 606–611, 1999.
9. ESTRELA, C. et al. Análise da redução da dor pós-tratamento da hipersensibilidade dentinária. **Revista Odontológica do Brasil Central**, v. 6, n. 17, p. 4–9, 1996.
10. FREITAS, S. D. S. et al. Dentin hypersensitivity treatment of non-carious cervical lesions – a single-blind, split-mouth study. **Brazilian Dental Journal**, v. 29, n. 1, p. 1–6, 2015.
11. HASHIM, N. T. et al. Effect of the clinical application of the diode laser (810 nm) in the treatment of dentine hypersensitivity. **BMC Research Notes**, v. 7, n. 31, p. 1–4, 2014.
12. PORTO, I. C. C. M.; ANDRADE, A. K. M.; MONTES, M. A. J. R. Diagnosis and treatment of dentinal hypersensitivity. **Journal of Oral Science**, v. 51, n. 3, p. 323–332, 2009.

13. VEITZ-KEENAN, A. et al. Treatments for hypersensitive noncarious cervical lesions - a Practitioners Engaged in Applied Research and Learning (PEARL) Network randomized clinical effectiveness study. **The Journal of the American Dental Association**, v. 144, n. 5, p. 495–506, 2013.
14. SPLIETH, C. H.; TACHOU, A. Epidemiology of dentin hypersensitivity. **Clinical Oral Investigations**, v. 17, supl. 1, p. S3–S8, 2013.
15. LOCHAIWATANA, Y. et al. The synthesis and characterization of a novel potassium chloride-fluoridated hydroxyapatite varnish for treating dentin hypersensitivity. **Dental Materials Journal**, v. 34, n. 1, p. 31–40, 2015.
16. DHALIWAL, J. et al. Prevalence of dentine hypersensitivity: a cross-sectional study in rural Punjabi Indians. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 16, n. 3, p. 426, 2012.
17. LIANG, X. et al. Prevalence of dentin hypersensitivity among the residents of Xi'an city, China. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 75, n. 6, p. 387–393, 2017.
18. ALBASHAIREH, Z. S.; ALJAMAL, M. K. Prevalence and pattern of dentin hypersensitivity in a Jordanian population in Irbid City. **Oral Hygiene & Health**, v. 2, n. 3, p. 1–4, 2014.
19. FISCHER, C.; FISCHER, R. G.; WENNERBERG, A. Prevalence and distribution of cervical dentine hypersensitivity in a population in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Dentistry**, v. 20, p. 272–276, 1992.
20. AL-KHAFAJI, H. Observations on dentine hypersensitivity in general dental practices in the United Arab Emirates. **European Journal of Dentistry**, v. 7, n. 4, p. 389–394, 2013.
21. REES, J. S. et al. The prevalence of dentine hypersensitivity in a hospital clinic population in Hong Kong. **Journal of Dentistry**, v. 31, p. 453–461, 2003.
22. COSTA, R. S. A. et al. Prevalence and risk indicators of dentin hypersensitivity in adult and elderly populations from Porto Alegre, Brazil. **Journal of Periodontology**, v. 85, n. 9, p. 1247–1258, 2014.
23. LIU, H.; LAN, W.; HSIEH, C. Prevalence and distribution of cervical dentin hypersensitivity in a population in Taipei, Taiwan. **Journal of Endodontics**, v. 24, n. 1, p. 45–47, 1998.
24. REES, J. S.; ADDY, M. A cross-sectional study of dentine hypersensitivity. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 29, p. 997–1003, 2002.
25. BERMAN, L. H. Dentinal sensation and hypersensitivity - a review of mechanisms and treatment alternatives. **Journal of Periodontology**, v. 56, n. 4, p. 216–222, 1984.

26. BRÄNNSTRÖM, M.; ÅSTRÖM, A. A study on the mechanism of pain elicited from the dentin. **Journal of Dental Research**, v. 43, n. 4, p. 619–625, 1964.
27. BRÄNNSTRÖM, M.; JOHNSON, G.; NORDENVALL, K.-J. Transmission and control of dentinal pain: resin impregnation for the desensitization of dentin. **Journal of the American Dental Association**, v. 99, p. 612–618, 1979.
28. NÄRHI, M. et al. Acute dental pain I: pulpal and dentinal pain. **Den Norske Tannlegeforenings Tidende**, v. 126, n. 1, p. 10–18, 2016.
29. LOPES, A. O.; EDUARDO, C. D. P.; ARANHA, A. C. C. Evaluation of different treatment protocols for dentin hypersensitivity: an 18-month randomized clinical trial. **Lasers in Medical Science**, v. 32, n. 5, p. 1023–1030, 2017.
30. KOPYCKA-KEDZIERAWSKI, D. T. et al. Management of dentin hypersensitivity by National Dental Practice-Based Research Network practitioners: results from a questionnaire administered prior to initiation of a clinical study on this topic. **BMC Oral Health**, v. 17, p. 1–7, 2017.
31. ORCHARDSON, R.; GILLAM, D. G. Managing dentin hypersensitivity. **Journal of the American Dental Association**, v. 137, p. 990–998, 2006.
32. CROVACE, M. C. et al. Biosilicate® — a multipurpose, highly bioactive glass-ceramic. In vitro, in vivo and clinical trials. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 432, n. A, p. 90–110, 2015.
33. SIQUEIRA, R. L.; ZANOTTO, E. D. Biosilicato®: histórico de uma vitrocerâmica brasileira de elevada bioatividade. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1231–1241, 2011.
34. TIRAPELLI, C. et al. A novel bioactive glass-ceramic for treating dentin hypersensitivity. **Brazilian Oral Research**, v. 24, n. 4, p. 381–387, 2010.
35. FERNANDO, D. et al. Bioactive glass for dentin remineralization: a systematic review. **Materials Science & Engineering: C**, v. 76, n. 1, p. 1369–1377, 2017.
36. HENCH, L. L. The story of bioglass. **The Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 17, p. 967–978, 2006.
37. ZHONG, Y. et al. Effect of a novel bioactive glass-ceramic on dentinal tubule occlusion: an in vitro study. **Australian Dental Journal**, v. 60, p. 96–103, 2015.
38. LOPEZ, T. C. C. et al. Bioactive glass plus laser phototherapy as promise candidates for dentine hypersensitivity treatment. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 105B, p. 107–116, 2017.
39. 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.

40. ADDY, M.; HUNTER, M. L. Can tooth brushing damage your health? Effects on oral and dental tissues. **International Dental Journal**, v. 53, p. 177–186, 2003.
41. SCARAMUCCI, T. et al. Investigation of the prevalence, clinical features, and risk factors of dentin hypersensitivity in a selected Brazilian population. **Clinical Oral Investigations**, v. 18, n. 2, p. 651–657, 2013.
42. KAMAL, H. et al. The prevalence of dentine hypersensitivity and gingival recession among Jordanian patients at JUST Dental Teaching Center. **Open Journal of Stomatology**, v. 4, p. 497–506, 2014.
43. NAIDU, G. M. et al. Prevalence of dentin hypersensitivity and related factors among adult patients visiting a dental school in Andhra Pradesh, Southern India. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 8, n. 9, p. 11–14, 2014.
44. NASCIMENTO, M. M. et al. Abrasion lesions: etiology, diagnosis, and treatment options. **Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry**, v. 8, p. 79–87, 2016.
45. BRAEM, M.; LAMBRECHTS, P.; VANHERLE, G. Stress-induced cervical lesions. **Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 67, n. 5, p. 718–722, 1992.
46. LYNCH, C. D. et al. Hunter-Schreger Band patterns in human tooth enamel. **Journal of Anatomy**, v. 217, p. 106–115, 2010.
47. LEE, H. E. et al. Stresses at the cervical lesion of maxillary premolar — a finite element investigation. **Journal of Dentistry**, v. 30, p. 283–290, 2002.
48. SILVA, A. G. et al. The association between occlusal factors and noncarious cervical lesions: a systematic review. **Journal of Dentistry**, v. 41, p. 9–16, 2013.
49. BEVENIUS, J.; LINDSKOG, S.; HULTENBY, K. The micromorphology in vivo of the buccocervical region of premolar teeth in young adults: A replica study by scanning electron microscopy. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 52, n. 6, p. 323–334, 2015.
50. SMITH, R. G. Gingival recession - reappraisal of an enigmatic condition and a new index for monitoring. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 24, p. 201–205, 1997.
51. TUGNAIT, A.; CLEREHUGH, V. Gingival recession - its significance and management. **Journal of Dentistry**, v. 29, p. 381–394, 2001.
52. WENNSTRÖM, J. L. et al. Periodontal conditions of adult regular dental care attendants - A 12-year longitudinal study. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 20, p. 714–722, 1993.
53. VON TROIL, B.; NEEDLEMAN, I.; SANZ, M. A systematic review of the

prevalence of root sensitivity following periodontal therapy. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 29, n. Suppl. 3, p. 173–177, 2002.

54. CALSINA, G.; RAMÓN, J.-M.; ECHEVERRÍA, J.-J. Effects of smoking on periodontal tissues. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 29, p. 771–776, 2002.

55. AH-BAUMERT, M. K. et al. The effect of smoking on the response to periodontal therapy. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 21, p. 91–97, 1994.

56. CHABANSKI, M. B. et al. Prevalence of cervical dentine sensitivity in a population of patients referred to a specialist Periodontology Department. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 23, n. 11, p. 989–992, 1996.

57. GUSMÃO, E. S. et al. Dentin hypersensitivity before and after periodontal treatment. **Acta Stomatologica Croatica**, v. 44, n. 4, p. 251–261, 2010.

58. SALAH, S.; GHANBARI, M.; MOOSAALI, F. Effect of three common desensitizers in reduction of the dentin hypersensitivity after periodontal surgery. **Journal of Dental Biomaterials**, v. 3, n. 1, p. 169–176, 2016.

59. CUENIN, M. F. et al. An in vivo study of dentin sensitivity: the relation of dentin sensitivity and the patency of dentin tubules. **Journal of Periodontology**, v. 62, n. 11, p. 668–73, 1991.

60. SUDA, T. et al. Desensitizing agent reduces dentin hypersensitivity during ultrasonic scaling: a pilot study. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 9, n. 9, p. ZC46–ZC49, 2015.

61. GORMAN, W. J. Prevalence and etiology of gingival recession. **Journal of Periodontology**, v. 38, n. 4, p. 50–56, 1967.

62. GILLETTE, W. B.; VAN HOUSE, R. L. III effects of improper oral hygiene procedures. **Journal of the American Dental Association**, v. 101, p. 476–481, 1980.

63. SLOTS, J. Update on general health risk of periodontal disease. **International Dental Journal**, v. 53, p. 200–207, 2003.

64. GILLAM, D. G. et al. Perceptions of dentine hypersensitivity in a general practice population. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 26, p. 710–714, 1999.

65. ADDY, M.; MOSTAFA, P.; NEWCOMBE, R. G. Dentine hypersensitivity: the distribution of recession, sensitivity and plaque. **Journal of Dentistry**, v. 15, p. 242–248, 1987.

66. VAN DER WEIJDEN, G. A. et al. Toothbrushing force in relation to plaque removal. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 23, p. 724–729, 1996.

67. KNOCHT, A. et al. Gingival recession in relation to history of hard toothbrush use. **Journal of Periodontology**, v. 64, p. 900–905, 1993.

68. WEST, N.; SEONG, J.; DAVIES, M. Dentine hypersensitivity. **Monographs in Oral Science**, v. 25, p. 108–122, 2014.
69. TOKUDA, M. et al. Dentin and pulp sense cold stimulus. **Medical Hypotheses**, v. 84, n. 5, p. 442–444, 2015.
70. YADAV, B. K. et al. Dentine hypersensitivity: a review of its management strategies. **Journal of International Oral Health**, v. 7, n. 10, p. 137–143, 2015.
71. TÜRKER, M. N. A method for studying the peripheral mediators of the dental pain induced by electrical stimulation. **Archives Internationales de Physiologie et de Biochimie**, v. 83, p. 553–561, 1975.
72. KUKLETOVÁ, M.; ZAHŘÁDKA, J.; LUKÁŠ, Z. Monoaminergic and cholinergic nerve fibres in the human dental pulp. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 16, p. 154–155, 1968.
73. FISH, E. W. The circulation of lymph in dentin and enamel. **The Journal of the American Dental Association**, v. 14, n. 5, p. 804–817, 1927.
74. BRÄNNSTRÖM, M. The Hydrodynamic theory of dentinal pain: sensation in preparations, caries, and the dentinal crack syndrome. **Journal of Endodontics**, v. 12, n. 10, p. 453–457, 1986.
75. HOTTA, T. H. et al. Uso de laser e placa oclusal na sensibilidade dentinária de bruxômanos. **Revista Gaúcha de Odontologia**, v. 54, n. 2, p. 195–198, 2006.
76. LIMA, E. G. **Dicionário de termos e nomenclaturas em nanotecnologia, biotecnologia e novas ciências**. 1. ed. São Paulo: Estudos Acadêmicos, 2005.
77. HARGREAVES, K. M.; BERMAN, L. H. **Cohen - Caminhos da polpa**. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017. 1144 p.
78. MATTHEWS, B.; VONGSAVAN, N. Interactions between neural and hydrodynamic mechanisms in dentine and pulp. **Archives of Oral Biology**, v. 39, suppl., p. 87S–95S, 1994.
79. PASHLEY, D. H. Dynamics of the pulpo-dentin complex. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, v. 7, n. 2, p. 104–133, 1996.
80. ABSI, E. G.; ADDY, M.; ADAMS, D. Dentin hypersensitivity - the development and evaluation of a replica technique to study sensitive and non-sensitive cervical dentine. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 16, p. 190–195, 1989.
81. LOVE, R. M.; JENKINSON, H. F. Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, v. 13, n. 2, p. 171–183, 2002.
82. RIMONDINI, L.; BARONI, C.; CARRASSI, A. Ultrastructure of hypersensitive

and non-sensitive dentine - a study on replica models. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 22, n. 1, p. 899–902, 1995.

83. BYERS, M. R. Dental sensory receptors. **International Review of Neurobiology**, v. 25, p. 39–94, 1984.

84. HONMA, S. et al. Immunohistochemical localization of SNARE core proteins in intrapulpal and intradental nerve fibers of rat molar teeth. **Archives of Oral Biology**, v. 73, p. 248–252, 2017.

85. HOLLAND, G. R.; ROBINSON, P. P. The number and size of axons at the apex of the cat's canine tooth. **The Anatomical Record**, v. 205, p. 215–222, 1983.

86. HILDEBRAND, C. et al. Teeth and tooth nerves. **Progress in Neurobiology**, v. 45, p. 165–222, 1995.

87. BYERS, M. R.; SUZUKI, H.; MAEDA, T. Dental neuroplasticity, neuro-pulpal interactions, and nerve regeneration. **Microscopy Research and Technique**, v. 60, p. 503–515, 2003.

88. JOHNSEN, D.; JOHNS, S. Quantitation of nerve fibres in the primary and permanent canine and incisor teeth in man. **Archives of Oral Biology**, v. 23, p. 825–829, 1978.

89. READER, A.; FOREMAN, D. W. An ultrastructural quantitative investigation of human intradental innervation. **Journal of Endodontics**, v. 7, n. 11, p. 493–499, 1981.

90. BYERS, M. R.; NÄRHI, M. V. O. Dental injury models: experimental tools for understanding neuroinflammatory interactions and polymodal nociceptor functions. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, v. 10, n. 1, p. 4–39, 1999.

91. NÄRHI, M. V. O. The characteristics of intradental sensory units and their responses to stimulation. **Journal of Dental Research**, v. 64, n. especial, p. 564–571, 1985.

92. JYVÄSJÄRVI, E.; KNIFFKI, K.-D. Cold stimulation of teeth: a comparison between the responses of cat intradental A-delta and C fibres and human sensation. **Journal of Physiology**, v. 391, p. 193–207, 1987.

93. BEASLEY, W. L.; HOLLAND, G. R. A quantitative analysis of the innervation of the pulp of the cat's canine tooth. **Journal of Comparative Neurology**, v. 178, p. 487–494, 1978.

94. SACERDOTE, P.; LEVRINI, L. Peripheral mechanisms of dental pain: the role of substance P. **Mediators of Inflammation**, v. 2012, n. ID 951920, p. 6, 2012.

95. MAGGI, C. A. Tachykinins and calcitonin gene-related peptide (CGRP) as co-transmitters released from peripheral endings of sensory nerves. **Progress in Neurobiology**, v. 45, p. 1–98, 1995.

96. WAKISAKA, S.; AKAI, M. Immunohistochemical observation on neuropeptides around the blood vessel in feline dental pulp. **Journal of Endodontics**, v. 15, n. 9, p. 413–416, 1989.
97. GAZELIUS, B. et al. Vasodilatory effects and coexistence of calcitonin gene-related peptide (CGRP) and substance P in sensory nerves of cat dental pulp. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 130, p. 33–40, 1987.
98. HAUG, S. R.; HEYERAAS, K. J. Modulation of dental inflammation by the sympathetic nervous system. **Journal of Dental Research**, v. 85, n. 6, p. 488–495, 2006.
99. KIMBERLY, C. L.; BYERS, M. R. Inflammation of rat molar pulp and periodontium causes increased calcitonin gene-related peptide and axonal sprouting. **The Anatomical Record**, v. 222, p. 289–300, 1988.
100. TAYLOR, P. E.; BYERS, M. R.; REDD, P. E. Sprouting of CGRP nerve fibers in response to dentin injury in rat molars. **Brain Research**, v. 461, p. 371–376, 1988.
101. HAUG, S. R.; HEYERAAS, K. J. Effects of sympathectomy on experimentally induced pulpal inflammation and periapical lesions in rats. **Neuroscience**, v. 120, p. 827–836, 2003.
102. BRAIN, S. D. Sensory neuropeptides: their role in inflammation and wound healing. **Immunopharmacology**, v. 37, p. 133–152, 1997.
103. CHIU, I. M.; VON HEHN, C. A.; WOOLF, C. J. Neurogenic inflammation - the peripheral nervous system's role in host defense and immunopathology. **Nature Neuroscience**, v. 15, n. 8, p. 1063–1067, 2013.
104. HAUG, S. R.; BERGGREEN, E.; HEYERAAS, K. J. The effect of unilateral sympathectomy and cavity preparation on peptidergic nerves and cells in rat dental pulp. **Experimental Neurology**, v. 169, p. 182–190, 2001.
105. TAYLOR, P. E.; BYERS, M. R. An immunocytochemical study of the morphological reaction of nerves containing calcitonin gene-related peptide to microabscess formation and healing in rat molars. **Archives of Oral Biology**, v. 35, n. 8, p. 629–638, 1990.
106. VONGSAVAN, N.; MATTHEWS, B. The permeability of cat dentine in vivo and in vitro. **Archives of Oral Biology**, v. 36, n. 9, p. 641–646, 1991.
107. MATTI, N. et al. Activation of heat-sensitive nerve fibres in the dental pulp of the cat. **Pain**, v. 14, p. 317–326, 1982.
108. VONGSAVAN, N.; MATTHEWS, B. The relationship between the discharge of intradental nerves and the rate of fluid flow through dentine in the cat. **Archives of Oral Biology**, v. 52, p. 640–647, 2007.

109. HARRISON, S.; GEPPETTI, P. Substance P. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 33, p. 555–576, 2001.
110. O'CONNOR, T. M. et al. The role of substance P in inflammatory disease. **Journal of Cellular Physiology**, v. 201, p. 167–180, 2004.
111. LENZI, H. L. et al. Four whole-istic aspects of schistosome granuloma biology: fractal arrangement, internal regulation, autopoietic component and closure. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, supl. 1, p. 219–231, 2006.
112. CAVIEDES-BUCHELI, J. et al. Substance P receptor expression in healthy and inflamed human pulp tissue. **International Endodontic Journal**, v. 40, p. 106–111, 2007.
113. CAVIEDES-BUCHELI, J. et al. Quantification of neuropeptides (calcitonin gene-related peptide, substance P, neurokinin A, neuropeptide Y and vasoactive intestinal polypeptide) expressed in healthy and inflamed human dental pulp. **International Endodontic Journal**, v. 39, p. 394–400, 2006.
114. KIDO, M. A. et al. Immunocytochemical localization of the neurokinin 1 receptor in rat dental pulp. **Archives of Histology and Cytology**, v. 68, n. 4, p. 259–265, 2005.
115. AWAWDEH, L. A. et al. Quantitative analysis of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide in gingival crevicular fluid associated with painful human teeth. **European Journal of Oral Sciences**, v. 110, p. 185–191, 2002.
116. AWAWDEH, L. et al. Quantitative analysis of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide in pulp tissue from painful and healthy human teeth. **International Endodontic Journal**, v. 35, p. 30–36, 2002.
117. SATTARI, M. et al. Substance P and CGRP expression in dental pulps with irreversible pulpitis. **Australian Endodontic Journal**, v. 36, p. 59–63, 2010.
118. KRAYCHETE, D. C.; CALASANS, M. T. D. A.; VALENTE, C. M. L. Citocinas pró-inflamatórias e dor. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 46, n. 3, p. 199–206, 2006.
119. DA-COSTA, L. M. et al. A utilização da laserterapia para o tratamento da hipersensibilidade dentinária: revisão da literatura. **Journal of Health Science**, v. 18, n. 3, p. 210–216, 2016.
120. ZADO, L. N.; PILATTI, G. L. Hipersensibilidade dentinária: recentes avanços e tratamentos - revisão de literatura. **Brazilian Journal of Periodontology**, v. 26, n. 02, p. 28–33, 2016.
121. PETERSSON, L. G. The role of fluoride in the preventive management of dentin hypersensitivity and root caries. **Clinical Oral Investigations**, v. 17, n. Suppl 1, p. S63–S71, 2013.

122. CUNHA-CRUZ, J. et al. Dentin hypersensitivity and oxalates: a systematic review. **Journal of Dental Research**, v. 90, n. 3, p. 304–310, 2011.
123. CUNHA-CRUZ, J. et al. Treating dentin hypersensitivity - therapeutic choices made by dentists of the Northwest PRECEDENT network. **Journal of the American Dental Association**, v. 141, n. 9, p. 1097–1105, 2010.
124. PASHLEY, D. H. et al. Effects of the degree of tubule occlusion on the permeability of human dentine in vitro. **Archives of Oral Biology**, v. 23, p. 1127–1133, 1978.
125. PASHLEY, D. H. et al. Dentin permeability - effects of desensitizing dentifrices in vitro. **Journal of Periodontology**, v. 55, n. 9, p. 522–525, 1984.
126. GREENHILL, J. D.; PASHLEY, D. H. The effects of desensitizing agents on the hydraulic conductance of human dentin in vitro. **Journal of Dental Research**, v. 60, n. 3, p. 686–698, 1981.
127. PASHLEY, D. H.; GALLOWAY, S. E. The effects of oxalate treatment on the smear layer of ground surfaces of human dentine. **Archives of Oral Biology**, v. 30, n. 10, p. 731–737, 1985.
128. ABSI, E. G.; ADDY, M.; ADAMS, D. Dentine hypersensitivity: uptake of toothpastes onto dentine and effects of brushing, washing and dietary acid – SEM in vitro study. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 22, n. 3, p. 175–182, 1995.
129. PEREIRA, J. C.; SEGALA, A. D.; GILLAM, D. G. Effect of desensitizing agents on the hydraulic conductance of human dentin subjected to different surface pre-treatments-an in vitro study. **Dental Materials**, v. 21, p. 129–138, 2005.
130. POULSEN, S. et al. Potassium nitrate toothpaste for dentine hypersensitivity (Review). **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 1, p. 1–11, 2000.
131. AL-SABBAGH, M.; BROWN, A.; THOMAS, M. V. In-office treatment of dentinal hypersensitivity. **Dental Clinics of North America**, v. 53, p. 47–60, 2009.
132. BEKES, K. et al. The influence of application of different desensitisers on root dentine demineralisation in situ. **International Dental Journal**, v. 59, p. 121–126, 2009.
133. BETKE, H. et al. Influence of bleaching agents and desensitizing varnishes on the water content of dentin. **Operative Dentistry**, v. 31, n. 5, p. 536–542, 2006.
134. RÖSING, C. K. et al. Dentine hypersensitivity: analysis of self-care products. **Brazilian Oral Research**, v. 23, n. Special 1, p. 56–63, 2009.
135. ARANHA, A. C. C.; PIMENTA, L. A. F.; MARCHI, G. M. Clinical evaluation of desensitizing treatments for cervical dentin hypersensitivity. **Brazilian Oral Research**,

v. 23, n. 3, p. 333–339, 2009.

136. SPANÓ, J. C. E.; BARBIN, E. L.; PÉCORA, J. D. Análise “in vitro” da capacidade impermeabilizante de diversos vernizes cavitários. **Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo**, v. 7, n. 2, p. 121–124, 1993.

137. SCHEFFEL, D. L. S. et al. Transdental cytotoxicity of glutaraldehyde on odontoblast-like cells. **Journal of Dentistry**, v. 43, p. 997–1006, 2015.

138. GODINHO, C. J.; GRIPPI, M. F.; COSTA, L. C. Avaliação clínica do uso de dois novos cremes dentais no tratamento da hipersensibilidade dentinária. **Revista de Pós-Graduação da FOUSP**, v. 18, n. 2, p. 72–78, 2011.

139. KARIM, B. F. A.; GILLAM, D. G. The efficacy of strontium and potassium toothpastes in treating dentine hypersensitivity: a systematic review. **International Journal of Dentistry**, v. 2013, n. ID 573258, p. 13, 2013.

140. KIMURA, Y. et al. Treatment of dentine hypersensitivity by lasers: a review. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 27, p. 715–721, 2000.

141. SGOLASTRA, F. et al. The effectiveness of lasers to reduce dentinal hypersensitivity remains unclear. **The Journal of Evidence-Based Dental Practice**, v. 11, n. 4, p. 178–179, 2011.

142. SCHIFF, T. et al. Clinical evaluation of the efficacy of an in-office desensitizing paste containing 8% arginine and calcium carbonate in providing instant and lasting relief of dentin hypersensitivity. **American Journal of Dentistry**, v. 22, n. Special Issue a, p. 8A–15A, 2009.

143. BARBOSA, F. M. et al. Depressive behavior induced by unpredictable chronic mild stress increases dentin hypersensitivity in rats. **Archives of Oral Biology**, v. 80, p. 164–174, 2017.

144. HU, S. et al. Study on antibacterial effect of 45S5 bioglass. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 20, p. 281–286, 2009.

145. BAKRY, A. S. et al. Cytotoxicity of 45S5 bioglass paste used for dentine hypersensitivity treatment. **Journal of Dentistry**, v. 39, p. 599–603, 2011.

146. JHA, P.; SINGH, K. Effect of MgO on bioactivity, hardness, structural and optical properties of SiO₂–K₂O–CaO–MgO glasses. **Ceramics International**, p. 1–9, 2015.

147. BAKRY, A. S. et al. The durability of phosphoric acid promoted bioglass – dentin interaction layer. **Dental Materials**, v. 29, p. 357–364, 2013.

148. ZANOTTO, E. D. et al. **Process and compositions for preparing particulate, bioactive or resorbable biosilicates for use in the treatment of oral ailments**. Patente WO 2004/074199 A1. 2004.

149. RORIZ, V. M. et al. Efficacy of a bioactive glass-ceramic (Biosilicate) in the maintenance of alveolar ridges and in osseointegration of titanium implants. **Clinical Oral Implants Research**, v. 21, p. 148–155, 2010.
150. FANGEL, R. **Os efeitos do laser de baixa intensidade e do Biosilicato®, utilizados independentemente ou associados, sobre o reparo ósseo em ratas osteopênicas**. 2009. 137 f. Dissertação (Mestrado em Fisioterapia) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.
151. DECHANDT, I. C. J. **Bioatividade de vidros no sistema $2\text{Na}_2\text{O} \cdot 1\text{CaO} \cdot 3\text{SiO}_2 \cdot \text{P}_2\text{O}_5$** . 2015. 112 f. Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2015.
152. ACEVEDO, L. F. A. **Caracterização e avaliação *in vitro* de biovidro experimental em micropartículas para o tratamento da hipersensibilidade dentinária cervical**. 2016. 78 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2016.
153. AZENHA, M. R.; PEITL, O.; BARROS, V. M. DA R. Bone response to Biosilicates® with different crystal phases. **Brazilian Dental Journal**, v. 21, n. 5, p. 383–389, 2010.
154. FAUL, F. et al. **G*Power Version 3.1.9.2**. Düsseldorf: Universität Düsseldorf, 2014. 8,29 MB. Plataforma Windows 10. Disponível em: <<http://www.gpower.hhu.de/>>. Acesso em: 05 mar. 2018.
155. VACHON, P. et al. A pathophysiological study of abdominal organs following intraperitoneal injections of chloral hydrate in rats: comparison between two anaesthesia protocols. **Laboratory Animals**, v. 34, p. 84–90, 2000.
156. TURNER, P. V et al. Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 50, n. 5, p. 600–613, 2011.
157. FIELDI, K. J.; WHITE, W. J.; LANG, M. A. X. Anaesthetic effects of chloral hydrate, pentobarbitone and urethane in adult male rats. **Laboratory Animals**, v. 27, p. 258–269, 1993.
158. DE-SALLES, C. L. F. et al. Influência de vasoconstritores associados a anestésicos locais sobre a pressão arterial de ratos hipertensos e normotensos. **Acta Scientiarum**, v. 21, n. 2, p. 395–401, 1999.
159. DAVARI, A. R.; ATAIEI, E.; ASSARZADEH, H. Dentin hypersensitivity: etiology, diagnosis and treatment; a literature review. **Journal of Dentistry, Shiraz University of Medical Sciences**, v. 14, n. 3, p. 136–145, 2013.
160. MACHADO, A. C. et al. Is photobiomodulation (PBM) effective for the treatment of dentin hypersensitivity? A systematic review. **Lasers in Medical Science**, v. 33, n. 4, p. 745-753, 2017.

161. VANO, M. et al. Reducing dentine hypersensitivity with nano-hydroxyapatite toothpaste: a double-blind randomized controlled trial. **Clinical Oral Investigations**, v. 22, p. 313–320, 2018.
162. SALIAN, S. et al. A randomized controlled clinical study evaluating the efficacy of two desensitizing dentifrices. **The Journal of Clinical Dentistry**, v. 21, n. 3, p. 82–7, 2010.
163. FLECHA, O. D. et al. Cyanoacrylate versus laser in the treatment of dentin hypersensitivity: a controlled, randomized, double-masked and non-inferiority clinical trial. **Journal of Periodontology**, v. 84, n. 3, p. 287–294, 2013.
164. SHIAU, H. J. Dentin hypersensitivity. **The Journal of Evidence-Based Dental Practice**, v. 1, n. S1, p. 220–228, 2012.
165. BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI). Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). **Normativas do CONCEA para produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica - lei, decreto, portarias, resoluções, normativas, orientações técnicas**. Brasília, 2015. 328 p.
166. SANTOS, R. T. M. et al. Procedimentos laboratoriais em imuno-histoquímica e hibridização “in situ”. In: ALVES, V. A. F.; BECCHI, C. E.; VASSALLO, J. **Manual de imuno-histoquímica**. Sociedade Brasileira de Patologia (SBP), 1999. p. 237–257.
167. GOMES, J. R. et al. Immunolocalization and activity of the MMP-9 and MMP-2 in odontogenic region of the rat incisor tooth after post shortening procedure. **Journal of Molecular Histology**, v. 42, n. 2, p. 153–159, 2011.
168. GOMES, J. R. et al. Increase of MT1-MMP, TIMP-2 and Ki-67 proteins in the odontogenic region of the rat incisor post-shortening procedure. **Journal of Molecular Histology**, v. 41, p. 333–341, 2011.
169. Rasband, W. S. USA National Institutes of Health. **ImageJ**. Bethesda, Maryland, EUA, 2016. 2789 KB. Plataforma Windows 10. Disponível em: <<https://imagej.nih.gov/>>. Acesso em: 05 mar. 2018.
170. LAZZARETTI, D. N. et al. Histologic evaluation of human pulp tissue after orthodontic intrusion. **Journal of Endodontics**, v. 40, n. 10, p. 1537–1540, 2014.
171. CINTRA, L. T. A. et al. Evaluation of an experimental rat model for comparative studies of bleaching agents. **Journal of Applied Oral Science**, v. 24, n. 1, p. 95–104, 2016.
172. DERHON, V. et al. Intra- and inter-examiner reliability in angular measurements of the knee with a smartphone application. **Human Movement**, v. 18, n. 2, p. 38–43, 201.

173. MIOT, H. A. Análise de concordância em estudos clínicos e experimentais. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 15, n. 2, p. 89–92, 2016.
174. KOO, T. K.; LI, M. Y. A guideline of selecting and reporting intraclass correlation coefficients for reliability research. **Journal of Chiropractic Medicine**, v. 15, p. 155–163, 2016.
175. BRAZ, R. G.; GOES, F. P. D. C.; CARVALHO, G. A. Confiabilidade e validade de medidas angulares por meio do Software para Avaliação Postural. **Fisioterapia em Movimento**, v. 21, n. 3, p. 117–126, 2008.
176. KIM, H.-Y. Statistical notes for clinical researchers: Evaluation of measurement error 2: Dahlberg's error, Bland-Altman method, and Kappa coefficient. **Restorative Dentistry & Endodontics**, v. 38, n. 3, p. 182, 2013.
177. BLAND, J. M.; ALTMAN, D. G. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. **The Lancet**, p. 307–310, 1986.
178. GIAVARINA, D. Understanding Bland Altman analysis. **Biochemia Medica**, v. 25, n. 2, p. 141–151, 2015.
179. MICROSOFT CORPORATION. **Fotos Microsoft**. Redmond, 2014. 316,95 MB. Plataforma Windows 10. Disponível em: < <https://www.microsoft.com/pt-br/p/fotos-microsoft/9wzdncrfjbh4>> Acesso em: 05 mar. 2018.
180. WANACHANTARARAK, S. et al. Effect of cavity depth on dentine sensitivity in man. **Archives of Oral Biology**, v. 66, p. 120–128, 2016.
181. ADDY, M. Dentine hypersensitivity: new perspectives on an old problem. **International Dental Journal**, v. 52, n.5, supl. 1, p. 367–375, 2002.
182. TRENTIN, M. S.; BERVIAN, J. Hipersensibilidade dentinária cervical: uma revisão da literatura. **Revista da Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo**, v. 19, n. 2, p. 252–257, 2014.
183. TOLEDO, M. C. M. DE; PEREIRA, V. P. A variabilidade de composição da apatita associada a carbonatitos. **Revista do Instituto Geológico**, v. 22, n. 1/2, p. 27–64, 2001.
184. YANG, J. C. et al. In vitro evaluation of dentin tubule occlusion for novel calcium lactate phosphate (CLP) paste. **Materials**, v. 10, n. 3, p. 1–7, 2017.
185. CHIANG, Y. C. et al. A novel mesoporous biomaterial for treating dentin hypersensitivity. **Journal of Dental Research**, v. 89, n. 3, p. 236–240, 2010.
186. ISHIHATA, H. et al. In vitro dentin permeability after application of Gluma® desensitizer as aqueous solution or aqueous fumed silica dispersion. **Journal of Applied Oral Science**, v. 19, n. 2, p. 147–153, 2011.

187. ENDO, H. et al. Evaluation of a calcium phosphate desensitizer using an ultrasonic device. **Dental Materials Journal**, v. 32, n. 3, p. 456–461, 2013.
188. JOSHI, S.; GOWDA, A. S.; JOSHI, C. Comparative evaluation of NovaMin desensitizer and Gluma desensitizer on dentinal tubule occlusion: a scanning electron microscopic study. **Journal of Periodontal & Implant Science**, v. 43, p. 269–275, 2013.
189. WANG, T. et al. Use of poly (amidoamine) dendrimer for dentinal tubule occlusion: a preliminary study. **PLoS ONE**, v. 10, n. 4, p. e0124735, 2015.
190. WANG, Z. et al. Effect of desensitising toothpastes on dentinal tubule occlusion: a dentine permeability measurement and SEM in vitro study. **Journal of Dentistry**, v. 38, p. 400–410, 2010.
191. DONG, Z. et al. Tricalcium silicate induced mineralization for occlusion of dentinal tubules. **Australian Dental Journal**, v. 56, p. 175–180, 2011.
192. YUAN, P. et al. Effects of dentifrice containing hydroxyapatite on dentinal tubule occlusion and aqueous hexavalent chromium cations sorption: a preliminary study. **PLoS ONE**, v. 7, n. 12, p. e45283, 2012.
193. SAURO, S.; WATSON, T. F.; THOMPSON, I. Dentine desensitization induced by prophylactic and air-polishing procedures: An in vitro dentine permeability and confocal microscopy study. **Journal of Dentistry**, v. 38, p. 411–422, 2010.
194. GANDOLFI, M. G. et al. Calcium silicate coating derived from Portland cement as treatment for hypersensitive dentine. **Journal of Dentistry**, v. 36, p. 565–578, 2008.
195. ZHU, L. et al. In vitro and in vivo evaluation of a nanoparticulate bioceramic paste for dental pulp repair. **Acta Biomaterialia**, v. 10, n. 12, p. 5156–5168, 2014.
196. TAMMARO, S.; WENNSTRÖM, J. L.; BERGENHOLTZ, G. Root-dentin sensitivity following non-surgical periodontal treatment. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 27, p. 690–697, 2000.
197. BERGAMINI, M. R. et al. Stress and its role in the dentin hypersensitivity in rats. **Archives of Oral Biology**, v. 73, p. 151–160, 2017.
198. BERGAMINI, M. R. et al. Dentin hypersensitivity induces anxiety and increases corticosterone serum levels in rats. **Life Sciences**, v. 98, n. 2, p. 96–102, 2014.
199. SOUSA, C. P. et al. Comparação in vitro da eficácia de diferentes formulações do gel de EDTA 24% no condicionamento da superfície radicular. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 42, n. 1, p. 7–12, 2013.
200. THEODORO, L. H. et al. Comparative analysis of root surface smear layer removal by different etching modalities or erbium: yttrium–aluminum–garnet laser irradiation. A scanning electron microscopy study. **Lasers in Medical Science**, v. 25,

p. 485–491, 2010.

201. FABIANI, C. et al. Removal of surgical smear layer. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 6, p. 836–838, 2011.

202. SAMPAIO, J. E. C. et al. A scanning electron microscopy study of root surface smear layer removal after topical application of EDTA plus a detergent. **Journal of Applied Oral Science**, v. 13, n. 3, p. 247–252, 2005.

203. WANG, R. et al. Enhancement of nano-hydroxyapatite bonding to dentin through a collagen/calcium dual-affinitive peptide for dentinal tubule occlusion. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 29, n. 2, p. 268–277, 2014.

204. KUÇI, A. et al. Sealer penetration into dentinal tubules in the presence or absence of smear layer: a confocal laser scanning microscopic study. **Journal of Endodontics**, v. 40, n. 10, p. 1627–1631, 2014.

205. ROSA, R. R. M. et al. Effects of different desensitizing treatments on root dentin permeability. **Brazilian Oral Research**, v. 30, n. 1, p. e111, 2016.

206. LI, F. et al. Evaluation of antibacterial and remineralizing nanocomposite and adhesive in rat tooth cavity model. **Acta Biomaterialia**, v. 10, p. 2804–2813, 2014.

207. CAMILOTTI, V. et al. Desensitizing treatments for dentin hypersensitivity: a randomized, split-mouth clinical trial. **Brazilian Oral Research**, v. 26, n. 3, p. 263–268, 2012.

208. JENA, A.; SHASHIREKHA, G. Comparison of efficacy of three different desensitizing agents for in-office relief of dentin hypersensitivity: A 4 weeks clinical study. **Journal of Conservative Dentistry**, v. 18, n. 5, p. 389–393, 2015.

209. WEST, N. X.; HUGHES, J. A; ADDY, M. The effect of pH on the erosion of dentine and enamel by dietary acids in vitro. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 28, n. 9, p. 860–864, 2001.

210. PASHLEY, D. H. Dentine permeability and its role in the pathobiology of dentine sensitivity. **Archives of Oral Biology**, v. 39, n. SUPPL., p. 73S–80S, 1994.

211. VANDANA, K. L. et al. Effects of tetracycline, EDTA and citric acid application on fluorosed dentin and cementum surfaces: an in vitro study. **The Open Corrosion Journal**, v. 10, p. 109–116, 2016.

212. JENDRESEN, M. D. et al. Special report: report of the Committee on Scientific Investigation of the American Academy of Restorative Dentistry. **The Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 45, n. 6, p. 643–669, 1981.

ANEXO A - Aprovação da CEUA 039/2015

UEPG

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA DO USO DE ANIMAL

CARTA DE APROVAÇÃO

Processo CEUA – 039/2015

Protocolo UEPG – 10039/2015

Título – “Avaliação de um biovidro em nanopartículas para o tratamento da hipersensibilidade dentinária cervical. Estudo em ratos”

Interessado: Fábio André dos Santos

Data de Entrada – 13/07/2015

Resultado: Aprovado

Data/Prazo – 29/09/2015 a 28/09/2017

Considerações

Prezado Professor Fábio André dos Santos

Em relação à utilização de animais no projeto de pesquisa sob sua responsabilidade, a CEUA deliberou pela sua aprovação, por dois anos, o uso de 84 Ratos Wistar, machos, de 2 a 3 meses. APROVADO.

Atenciosamente,

Prof^a Dr^a Maria Marta Loddi
Coordenadora

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PROPESP - CEUA - Comissão de Ética do Uso de Animal

Prof^a Dr^a Maria Marta Loddi
Coordenadora

Av. Gen. Carlos Cavalcanti, nº 4748, CEP 84.030-900 Campus Universitário em Uvaranas
Ponta Grossa - Paraná
Bloco da Reitoria - anexo a PROPESP
Fone: (042) 3220-3264