

**UNIVERSIDADE DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

Influência de agentes dessensibilizantes, de uso profissional e não profissional, na adesão do coágulo sanguíneo à superfície radicular

Luana Kelle Batista Moura

Orientador: *Prof. Dr. Carlos Eduardo Miranda Saraiva*

Co-orientadora: *Profa. Dra. Andrea Marcia Marcaccini*

Ribeirão Preto

2015

Luana Kelle Batista Moura

Influência de agentes dessensibilizantes, de uso profissional e não profissional, na adesão do coágulo sanguíneo à superfície radicular

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade de Ribeirão Preto, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Odontologia, área de concentração Endodontia.

Orientador: *Prof. Dr. Carlos Eduardo Miranda Saraiva*
Co-orientadora: *Profa. Dra. Andrea Marcia Marcaccini*

Ribeirão Preto

2015

Ficha catalográfica preparada pelo Centro de Processamento
Técnico da Biblioteca Central da UNAERP

- Universidade de Ribeirão Preto -

M929i Moura, Luana Kelle Batista, 1987-
Influência de agentes dessensibilizantes, de uso profissional e não
profissional, na adesão do coágulo sanguíneo na superfície radicular /
Luana Kelle Batista Moura. - - Ribeirão Preto, 2015.
75 f.: il. color.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Miranda Saraiva

Tese (doutorado) – Universidade de Ribeirão Preto, UNAERP,
Odontologia, área de concentração: Endodontia. Ribeirão Preto,
2015.

1. Periodontia. 2. Endodontia. 3. Coágulo sanguíneo. I. Título.

CDD 617.6342



Este trabalho foi realizado no Laboratório de Pesquisas em Odontologia da Universidade de Ribeirão Preto, com apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES – PROSUP.



Dedicatórias

A **Deus**, pois sem "Ele" eu não teria forças para enfrentar todas as adversidades com coragem e força. Por me guiar e iluminar todos os meus caminhos, por colocar pessoas abençoadas na minha trajetória e me direcionar nas escolhas, por me proteger e sempre me amparar nos momentos de fraquezas, e por sempre me lembrar que vale a pena insistir e enfrentar os momentos difíceis, pois ao final tudo dará certo.

Aos meus queridos pais, **Dionísio Moura Filho** e **Maria Eliete Batista Moura**, e aos meus irmãos, **Samuel Ricardo Batista Moura** e **Guilherme César Batista Moura**, aos quais só tenho a agradecer, pois são e sempre serão meu suporte, meus guias e referências de vida. Obrigada pelo amor incondicional, incentivo, dedicação, zelo, esmero, cuidado, conselhos, apoio e demonstração de exemplo nos aspectos familiar, religioso e profissional. Sem vocês, não teria conseguido a realização deste sonho que todos nós sonhamos juntos, mesmo com todas as dificuldades, distância e minha ausência durante estes anos em que vocês sempre fizeram por mim ao cuidarem dos nossos pais. Esta vitória é por vocês, a quem eu amo muito.

À minha **família**, agradeço o apoio, força nos momentos difíceis e compreensão pela minha ausência em momentos que foram importantes em suas vidas.

Às minhas melhores amigas, **Ana Márcia Silva**, **Luma Elis Barbosa Bezerra**, **Edwiges Sidonio de Melo**, **Maria da Cruz Pereira Moura**, **Fabíola Frazão Lira**, **Amanda Carvalho**, muito obrigada por terem sido meu suporte, mesmo com toda a distância, amizade contínua fiel e verdadeira, sempre juntas nos momentos bons e ruins!

Ao meu namorado, **Alan Cássio Sousa Silva**, obrigada por estar ao meu lado em todos os momentos, por ser minha família e meu companheiro, por sempre demonstrar seu carinho, amizade, amor, paciência, compreensão e ser meu suporte diariamente com incentivos para que eu pudesse terminar com sucesso esta etapa e ter objetivos futuros. Você é e sempre será importante na minha vida. Amo você!



Agradecimento Especial

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Carlos Eduardo Miranda Saraiva**, agradeço pela orientação, pela paciência, disponibilidade, amizade e pela forma que pudemos construir esse trabalho. Agradeço imensamente, e terei orgulho sempre de dizer que fui sua orientada, pois além de ser meu conterrâneo (o que é já é um imenso elogio), és uma pessoa amiga, presente, dedicada, ímpar e fácil de trabalhar, um modelo de professor e profissional que admiro, pois constroi o conhecimento de diferentes formas, explorando interessantes pontos ao correlacionar a química e a odontologia, sempre compartilhando o conhecimento com os alunos. Obrigada por tudo.

À minha co-orientadora, **Profa. Dra. Andrea Marcia Marcaccini**, obrigada pelo apoio, presença, amizade sincera e constante, e acolhimento em todos os momentos. Essa trajetória só foi concretizada devido às suas ideias e estímulos. Agradeço a abertura que me proporcionou e pela grande parceria que formamos. Sempre terei orgulho de falar que fui sua orientada, pois é uma professora excepcional, que sempre esteve presente em todos os momentos, tornando o difícil trabalho diário mais prazeroso. Para mim, você é referência completa do significado de professor, pois além de amiga, cativadora, traz consigo o conhecimento científico e a sabedoria do ser humano, pois com humildade e simplicidade consegue passar aos seus alunos e a todos que estão ao seu redor os verdadeiros valores que devemos adquirir na vida. Obrigada por tudo e espero que esta parceria continue para sempre. Esta vitória também é sua!



Agradecimentos

À Universidade de Ribeirão Preto, na pessoa da sua Magnífica Reitora **Profa. Elmara Lúcia de Oliveira Bonini**, personalidade constante e pioneira na educação nacional. Obrigada pela oportunidade de realizar mais esse sonho, de tornar-me doutora em Odontologia.

À Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade de Ribeirão Preto, **Profa. Dra. Yara T. C. Silva Sousa**, obrigada pelo apoio, colaboração e pela oportunidade de ingressar no Doutorado. Obrigada pelo carinho, acolhimento e presença constante nesta etapa da minha vida, seja no ambiente acadêmico ou pessoal, pois sem você não teria conseguido enfrentar as dificuldades e adversidades, a distância familiar. Obrigada por preencher este espaço e ter sido minha professora, e por me incentivar sempre a continuar e conseguir finalizar mais este ciclo.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade de Ribeirão Preto, **Profa. Dra. Andrea Marcia Marcaccini, Profa. Dra. Camila Fávero de Oliveira, Prof. Dr. Carlos Eduardo Saraiva Miranda, Prof. Celso Bernardo de Souza Filho, Profa. Dra. Danielle Cristine Furtado Messias, Prof. Dr. Edson Alfredo, Profa. Dra. Érica Alves Gomes, Prof. Dr. Fuad Jacob Abi Rached Junior, Prof. Dr. Paulo Esteves Pinto Faria, Prof. Dr. Sílvio Rocha Correa da Silva, Profa. Dra. Vivian Colucci, Prof. Dr. Walter Raucci Neto, Profa. Dra. Yara T. C. Silva Sousa**, pela dedicação, atenção, pelos conhecimentos transmitidos, disponibilidade e colaboração na minha formação.

Agradeço em especial **Prof. Dr. Walter Raucci Neto, Profa. Dra. Danielle Cristine Furtado Messias, Profa. Dra. Vivian Colucci, Prof. Dr. Sílvio Rocha**

Correa da Silva, que intermediaram contatos em outras instituições e possibilitaram a realização de algumas etapas deste trabalho, além de contribuir de forma integral neste trabalho.

À **Profa. Dra. Danielle Cristine Furtado Messias**, em especial por ter contribuído na minha formação desde o momento inicial no mestrado até a defesa do doutorado. Não pude lhe agradecer naquela época quando foi minha orientadora, mas quero que saiba que também contribuiu para o meu crescimento profissional e sempre serei grata pela atenção, acolhimento e respeito para comigo, mas principalmente agradeço pelo incentivo quando decidi retornar para iniciar o doutorado. Por suas palavras de força quando pensei em desistir. Obrigada por ter me falado "Se você não fizer, sempre vai sentir a sensação de inacabado, de fracasso." Você foi essencial para realização deste trabalho e também merece comemorar esta vitória.

Aos meus colegas de pós-graduação, **João Felipe Bruniera, Lígia Texeira Moraes, Cleusa Vieira, Juliana Santos Oliveira, Laís Fichina, Luciana Macedo, Danilo Gueleri, Natália Spadini de Faria, Fernanda Silva Fernandes, Felipe Posses, Vitória Bombig e Eider Mesquita, Fernanda Brandão, Mário Lúcio da Costa Azevedo, Karina Toralles, Simone Guardieiro e Érica Zanconato**, e aos outros colegas que me antecederam e aos que vieram posteriormente à minha turma, por todos os momentos que passamos juntos no convívio cotidiano, pelo incentivo, pelas palavras, ensinamentos, pela convivência e aprendizado em conjunto durante estes quatro anos.

Em especial, aos meus grandes amigos e companheiros fiéis, **Natália Spadini de Faria, Arthur Iozzi Vieta, Luciana Domingues Macedo, Geraldo Monteiro Ribeiro e Ana Beatriz Rocca Oliveira**, obrigada pela ajuda na realização deste trabalho, pelo apoio nos momentos difíceis, conselhos e amizade incondicional em todos os momentos.

Às minhas companheiras de turmas e amigas especiais, **Juliana Santos Oliveira, Cleusa Vieira, Simone Guardieiro, Érica Zanconato**, só tenho agradecer pela amizade, incentivo e todos os momentos partilhados com muita conversa. Obrigada pelo apoio emocional nos mais diversos momentos que partilhamos nesta jornada, que sabemos que foram duros e árduos. Saibam sempre que poderão contar comigo sempre que precisarem, pois nossa amizade só aumentará com o passar dos anos!

À pós-doutoranda **Carolina de Andrade Lima Chaves**, pela ajuda nos momentos em que precisei, principalmente, nos momentos difíceis, nos quais você se tornou um porto-seguro, pelos conselhos, pela amizade verdadeira concedida, pelo incentivo todos os dias, e pelo quanto me lembrou, todos os dias, que a conclusão deste trabalho será importante para as próximas etapas da minha vida.

A todos os alunos de graduação do curso de odontologia que contribuíram direta ou indiretamente para a construção deste trabalho, em especial, à **Samara Tosetto, Camila Quadros, Rosimeire Brabo e Júlia Roque**, pois a amizade e os ensinamentos adquiridos só vieram enriquecer minha experiência acadêmica e criar em

mim os laços afetivos que devem existir sempre entre alunos e professor, fazendo nascer uma amizade sincera pontuada por mútua admiração.

Às secretárias da pós-graduação, **Joana Néia Vieira, Patrícia Machado, Marcela Euzébio Berti e Cecília Maria Zanferdini (*in memoriam*)**, pela atenção, amizade e convívio que me dispensaram durante esses anos.

Aos amigos e funcionários da Universidade de Ribeirão Preto, **Cláudio de Paula Joaquim, Fabíola D. Sousa, Lúcia Helena Bianchi, Regina Lúcia Ramos, Luís Murilo de Oliveira, Érika K. Paulinelli, Marilena Heredia, Evaldo Antonio Evangelista, Amarildo Marques da Silva, Joice Alessandra Cerri da Costa, Ana Maria Ferreira, Amanda Estrela e Samuel B. Brito**, por todos os momentos, pela dedicação, atenção e carinho durante esses anos de convívio.

À **Prof. Dra. Francisca Tereza Coelho de Matos** agradeço não somente hoje, mas sempre! Esta conquista, assim como dedico aos meus pais, dedico à senhora, minha madrinha! Obrigada por ter sido minha orientadora nas minhas iniciações e na graduação, obrigada por sempre acreditar em mim e me proporcionar oportunidades que nunca teria conseguido sozinha. Obrigada por me incentivar a realizar o mestrado e a continuar e, mesmo com todas as adversidades, a enfrentar o doutorado. Obrigada por pensar em mim, e me direcionar o futuro que me espera! Obrigada por me apresentar a minha profissão, no qual me sinto realizada! Obrigada por ser uma grande amiga e sempre me ter em pensamento e em suas orações! Obrigada por estar em minha vida, pois sem a senhora ela não teria tomado esta imensidão no qual se

transformou! Saiba que a senhora sempre será inesquecível para mim, pois faz e fez parte de todos os momentos importantes, tanto acadêmicos, quanto pessoal de minha vida! Obrigada por tudo!

Ao técnico **José Augusto Maulim**, do Laboratório Multiusuário de Microscopia Eletrônica do Departamento de Biologia Celular, Molecular e Bioagentes Patogênicos da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, pela atenção e disposição em me receber.

À estagiária **Thais Pereira Siqueira**, ao Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da Faculdade de Odontologia do Campus de Araraquara da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) que executou a análise em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Ao Dr. Gabriel Gustinelli Arantes de Carvalho, pós-doutorando do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, pela imprescindível ajudas nas análises por LIBS no Laboratório de Química Analítica do CENA/USP.

Ao Prof. Dr. Francisco José Krug, da Seção de Química Analítica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo (CENA-USP) que, gentilmente, cedeu seu laboratório para a realização do experimento envolvendo as análises por LIBS.

À **CAPES** pelo apoio financeiro concedido durante o Doutorado.

" Pensar é o trabalho mais difícil que existe.

Talvez por isso poucos se

dediquem a ele."

(Henry Ford)



Resumo

O objetivo no presente estudo foi avaliar, *in vitro*, a influência de diferentes agentes dessensibilizantes de uso profissional e não profissional na morfologia da superfície radicular tratada e na adesão de coágulo à dentina, por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Foram utilizados espécimes de superfícies radiculares de incisivos inferiores bovinos que foram submetidos ao tratamento dentinário, de acordo com o grupo a que foram alocados (n=20), sendo: G1: Raspagem e alisamento (RAR); G2: RAR + EDTA 24%; G3 ao G17: RAR + EDTA 24% + agentes dessensibilizantes. Para identificar presença de elementos químicos foram realizadas as análises EDS-X, LIBS e EDXRF. A adesão dos elementos sanguíneos e características morfológicas dos espécimes tratados foram avaliados qualitativamente por MEV. Os dados quantitativos foram submetidos à análise estatística ($p < 0,05$). Nas análises EDS-X, LIBS e EDXRF foi possível observar a presença de Ca, Sr, Ti, Zn, componentes presentes na estrutura dental e na fórmula dos dessensibilizantes. Na caracterização morfológica encontrou-se superfície radicular (SR) homogênea craquelada sem presença tubular (G1), SR lisa, sem *smear*, grande quantidade de túbulos abertos (G2); e os demais grupos apresentaram obliteração tubular, porém com diferença na dimensão, rugosidade e espaçamento entre as partículas (G3 a G17). Na adesão dos elementos sanguíneos, o G15 apresentou ausência de rede de fibrinas e células; no G1, G4, G5, G10 e G13 havia fina rede e escassez celular; G2 apresentou densa rede com escassez celular; G3, G8 e G14 demonstraram fina rede com aglomerados celulares; G6, G7, G9, G11, G12, G16, G17 apresentaram densa rede e grande quantidade celular. Conclui-se que, em única aplicação, os agentes foram capazes de obliterar os túbulos radiculares. Em relação a adesão dos elementos sanguíneos, os agentes dessensibilizantes de uso não profissional

(citrato de zinco, triclosan, fosfosilicato de cálcio e cloreto estano) e profissional (dessa sensibilize Nano P, Flugel e Duraphat) apresentaram resposta favorável à formação de rede de fibrinas com elementos sanguíneos.

Palavras-chave: Endodontia, Periodontia, agente dessensibilizante, coágulo sanguíneo, dentina radicular



Summary

The aim of this study was to evaluate in vitro the influence of different desensitizing agents for professional use and unprofessional in the morphology of the treated root surface and clot adhesion to dentin, using scanning electron microscopy (SEM). Root surfaces of specimens of bovine incisive were used which were subjected to dentin treatment, according to the group they were assigned (n = 10), G1: scaling and root planing (SRP); G2: SRP + 24% EDTA; G3 to G17: SRP + 24% + EDTA desensitizing agents. To identify the presence of chemicals were made of the EDS-X, LIBS and EDXRF analysis. The adherence of blood elements and morphological characteristics of the treated specimens were evaluated qualitatively by SEM. Quantitative data were analyzed statistically ($p < 0.05$). In the EDS, X-LIBS and EDXRF analyzes was possible to observe the presence of Ca, Sr, Ti, Zn, components in the dental structure and formula of desensitizing agents. In the morphological characterization met root surface (SR) homogeneous cracked without tubular presence (G1), SR smooth without smear, lots of open tubules (G2); and the other groups showed tubular obliteration, but with difference in size, roughness and spacing between particles (G3 to G17). Adherence of blood elements, the G15 presented absence of fibrin network and cells; the G1, G4, G5, G10 and G13 were fine mesh and cell shortage; G2 showed dense network with cell shortage; G3, G8 and G14 showed fine mesh with cell clusters; G6, G7, G9, G11, G12, G16, G17 showed dense and large cell amount. It concludes that, in a single application, the agents were able to obliterate the root tubules. Regarding adherence of blood elements, desensitizing agents for non-professional use (zinc citrate, triclosan, calcium

phosphosilicate and stannous chloride) and professional (desensitize Nano P, Flugel and Duraphat) had a favorable response to the formation of fibrin network blood elements.

Keywords: Endodontics, Periodontics, desensitizing agent, blood clot formation, root dentin



Sumário

Resumo

Summary

Introdução	01
Proposição.....	05
Material e Métodos.....	07
Resultados.....	21
Discussão.....	39
Conclusão.....	55
Referências Bibliográficas.....	57

Anexo

Apêndice



Introdução

A hipersensibilidade dentinária (HD) é, ainda hoje, uma das grandes dificuldades encontradas pelo cirurgião dentista e pelo paciente (SANTOS et al., 2010). Tal circunstância é descrita como sensação dolorosa (SILVA et al., 2011) e pode ocorrer devido à cárie dentária (ADRIAENS et al., 1988; NAKAJIMA et al., 2011), fraturas (ANDREASEN et al., 2010), erosão e abrasão (MJOR et al., 2001; LUSSI et al., 2004; BAKRY et al., 2014), ou recessões gengivais (MARÍN et. al., 2014).

Esta condição clínica se manifesta como consequência da exposição da dentina ao meio bucal. A Teoria Hidrodinâmica, proposta por BRANNSTRÖM em 1996, explica que este fenômeno ocorre a partir da exposição dos túbulos dentinários, que levam o estímulo indiretamente às extremidades dos nervos pulpares, provocando a sintomatologia dolorosa (MATIAS et al., 2010).

De acordo com esta teoria, quanto maior o movimento dos fluidos nos túbulos dentinários, em conjunto com aumento de estímulos mecânicos, térmicos e osmóticos, mais rápido ocorrerá o deslocamento de odontoblastos ou nervos adjacentes, o que promove a sensação dolorosa. Esta teoria tem sido relatada na literatura como principal justificativa para o surgimento da HD (ORCHARDSON; GILLIAM, 2006; AYAD et al., 2009). Normalmente, a dentina quando recoberta não apresenta dor, porém quando as terminações periféricas estão expostas aos estímulos, ocorre a hipersensibilidade (BRANNSTROM, 1996).

Quando há queixa de hipersensibilidade pelo paciente, há dificuldade para o profissional realizar o diagnóstico diferencial, e remeter a um diagnóstico equivocado de alteração endodôntica, correlacionado ou não com recessão gengival. Em muitos casos, a dificuldade do paciente no relato dos sintomas apresentados, aliada à precipitação do profissional durante o exame, pode levar a uma intervenção endodôntica não justificada (ABBOTT; YU, 2007) e até mesmo à exodontia (ADDY, 2002).

Pacientes que realizam tratamento periodontal, tanto cirúrgico como conservador, ou mesmo indivíduos que possuem recessões gengivais sem doença periodontal inflamatória, apresentam exposição da superfície radicular (OZCELIK et al., 2015) com

dentina remanescente mais permeável e canalículos de maior diâmetro na área cervical. Esse aspecto resultará em maior movimentação de fluidos na dentina com probabilidade de ocorrer a HD (TAMMARO et al., 2000; PEIXOTO et al., 2010; RÖSING; GAIO, 2013).

Agentes dessensibilizantes, utilizados tanto para tratamento profissional (CATELAN et al., 2010) como não profissional (MAGALHÃES et al., 2011), têm sido propostos como alternativa conservadora para minimizar, ou se possível extinguir, a HD por diferentes mecanismos de ação, com a finalidade de penetrar, bloquear o estímulo nervoso da polpa e vedar a passagem de fluidos (SANTOS et al., 2010). Estas substâncias têm a capacidade de produzir um efeito adstringente sobre os estímulos dentinários, objetivando alterar a permeabilidade dentinária por meio da obliteração dos túbulos dentinários expostos e reduzir a excitabilidade dos nervos intradentais com diminuição da transmissão dolorosa (CARRANZA et al., 2012). Esta permeabilidade pode ser definida como a soma de todos os processos na passagem de fluido através dos tecidos dentinários e é diretamente afetada pelo grau de obliteração dos canalículos (BRANNSTRÖM, 1996).

Os agentes podem ser classificados em diversos grupos, tais como bloqueadores de estímulos nervosos (nitrato de potássio), drogas anti-inflamatórias, precipitantes de proteínas (glutaraldeído, nitrato de prata, cloreto de zinco, hexahidrato de cloreto de estrôncio), agentes que promovem a oclusão ou selamento dos túbulos dentinários (vernizes fluoretados, fluoreto de sódio, fluoreto estanoso, cloreto de estrôncio, oxalato de potássio, fosfato de cálcio, carbonato de cálcio e moléculas de vidro bioativo), selantes ou adesivos dentinários, resina e ácido oxálico, cimento de ionômero de vidro,

resina composta e agentes adesivos dentinários), ápico e fitoderivados (própolis) e laserterapia (laser de Nd-YAG, GaAlAs e Erbium-YAG) (MIGLANI et al., 2010; GODINHO et al., 2011;). Os agentes dessensibilizantes podem ser encontrados comercialmente na forma de géis, dentifrícios, enxaguatórios bucais, vernizes dentre outros (GODINHO et al., 2011; LOCHAIWATANA et al., 2015).

O uso dos agentes dessensibilizantes pode ser a primeira escolha terapêutica conservadora. Caso não haja eficácia no controle da HD, opta-se pelo tratamento cirúrgico de recobrimento gengival (cirurgia mucogengival) ou nova formação de tecidos periodontais saudáveis (cirurgia regenerativa) sobre a superfície exposta para exercer seu papel protetor sobre a superfície tratada (CHAMBRONE et al., 2010; TONETTI et al., 2014; KIM; NEIVA, 2015).

A cicatrização do tratamento cirúrgico ocorre pela inserção de novas fibras colágenas ou pela formação de epitélio juncional longo em resposta ao tratamento periodontal (HAMMERLE; GIANNOBILE, 2014). Entretanto, para que o evento de neoformação de fibras possa ocorrer, este deve ser precedido pela formação do coágulo sanguíneo sobre a superfície radicular, sucedido pela presença de fibrinas que irão se organizar como fibras colágenas e, posteriormente, como novo tecido periodontal (POLSON e PROYE, 1983; STEINBERG e WILLEY, 1988).

Tendo em vista que agentes químicos aplicados anteriormente ao procedimento cirúrgico podem interferir na formação de fibrinas, torna-se relevante avaliar *in vitro* a influência de agentes dessensibilizantes na adesão de coágulo sanguíneo.



Proposição

O objetivo do presente estudo foi avaliar, *in vitro*, a influência de diferentes agentes dessensibilizantes de uso profissional e não profissional, na morfologia da superfície radicular tratada e na adesão de coágulo à dentina, por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV).



Material e Métodos

1. Delineamento Experimental

O fator em estudo foi agente dessensibilizante, de uso profissional e não profissional (Figura 1), em 17 níveis. Os nomes comerciais e a composição química fornecida pelos fabricantes encontram-se na Tabela I (Apêndice 1).



Figura 1: Agentes dessensibilizantes utilizados no experimento. A a I Produtos de uso não profissional; J a O Produtos de uso profissional.

O delineamento experimental está representado no fluxograma da Figura 2.

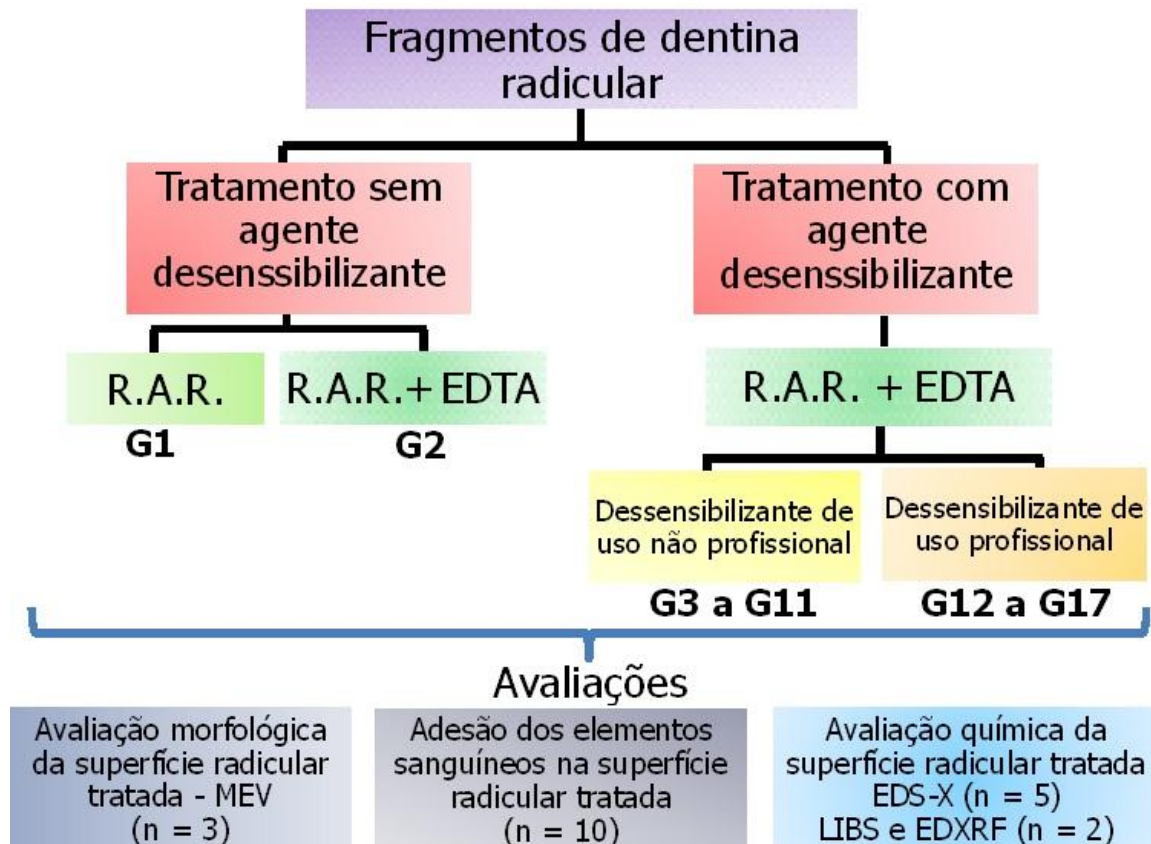


Figura 2: Fluxograma do delineamento experimental.

2. Preparo dos Espécimes

Para a realização do experimento, utilizaram-se 171 dentes bovinos, provenientes de abatedouro, que foram preparados como descrito a seguir, e originaram 221 fragmentos de dentina radicular com dimensões de 2,5 × 5 mm para a análise de MEV e 119 fragmentos de 5 × 5 mm para as análises químicas (EDS-X, LIBS e EDXRF). Após a extração, foram lavados em água destilada para a remoção de sangue e outros

depósitos, mantidos em temperatura ambiente em solução de tampão fosfatado pH 7.0 (PBS), para conservar sua hidratação até a realização do experimento.

Inicialmente, as superfícies radiculares foram raspadas e aplainadas, empregando 50 movimentos de tração cérvico-oclusal por meio de cureta Gracey 5/6 (Hu-Friedy Manufacturing Inc., Chicago, IL, EUA) (Figura 3A) por um único operador (THEODORO et al., 2006). Os terços cervicais das raízes foram delimitados por dois sulcos, um no limite esmalte-cimento e outro distando 5 mm em direção apical (Figura 3B). Foram seccionados com o auxílio de disco diamantado (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil) montado em baixa rotação (Figura 3C). A seguir, foram realizadas secções no sentido vestibulo-lingual para obtenção de 2 fragmentos de 5 × 5 mm das faces mesiais e distais.

Dos fragmentos obtidos, 119 foram separados para as análises químicas e o restante, 111 fragmentos foram seccionados ao meio obtendo-se dois fragmentos de 2,5 × 5 mm para as análises em MEV (Figura 3D). As amostras obtidas foram distribuídas para cada análise entre os 17 grupos e fixadas, por meio de cera utilidade, em placas de Petri previamente numeradas (Figura 3D) para serem submetidas aos tratamentos com os agentes dessensibilizantes.

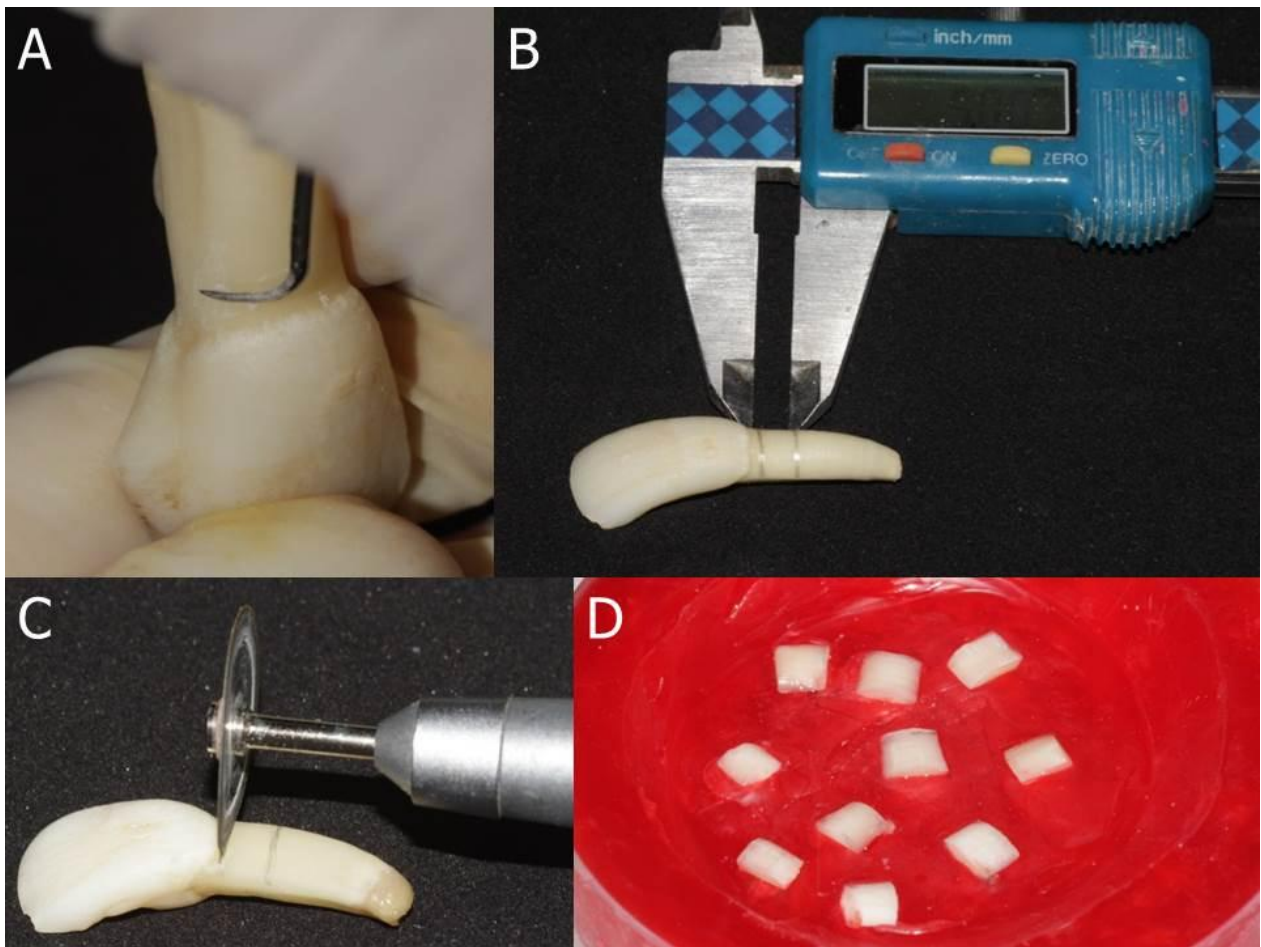


Figura 3: Etapas de preparo das amostras da região cervical de dente bovino. (A) Raspagem e alisamento radicular realizados com cureta de Gracey 5/6; (B) Determinação da área de 5 mm a ser seccionada; (C) Disco diamantado utilizado para recortar os fragmentos. (D) Fragmentos de 2,5 por 2,5 mm preparadas e fixadas em placa de petri.

Grupo 1 (G1) - as amostras foram irrigadas com 100 mL de água destilada com o auxílio de seringa e agulha hipodérmica.

Grupo 2 (G2) ao Grupo 17 (G17) -as amostras tiveram superfície cobertas por EDTA 24% na forma de gel (Farmácia DaTerra, Ribeirão Preto, SP, Brasil), pH 6,7, que foi aplicado individualmente e constantemente movimentado por 3 min com auxílio de microbrush com o objetivo de remoção da camada de *smear* e abertura dos túbulos. Em

seguida, as amostras foram irrigadas com 100 mL de água destilada com o auxílio de seringa e agulha hipodérmica (Figura 4).

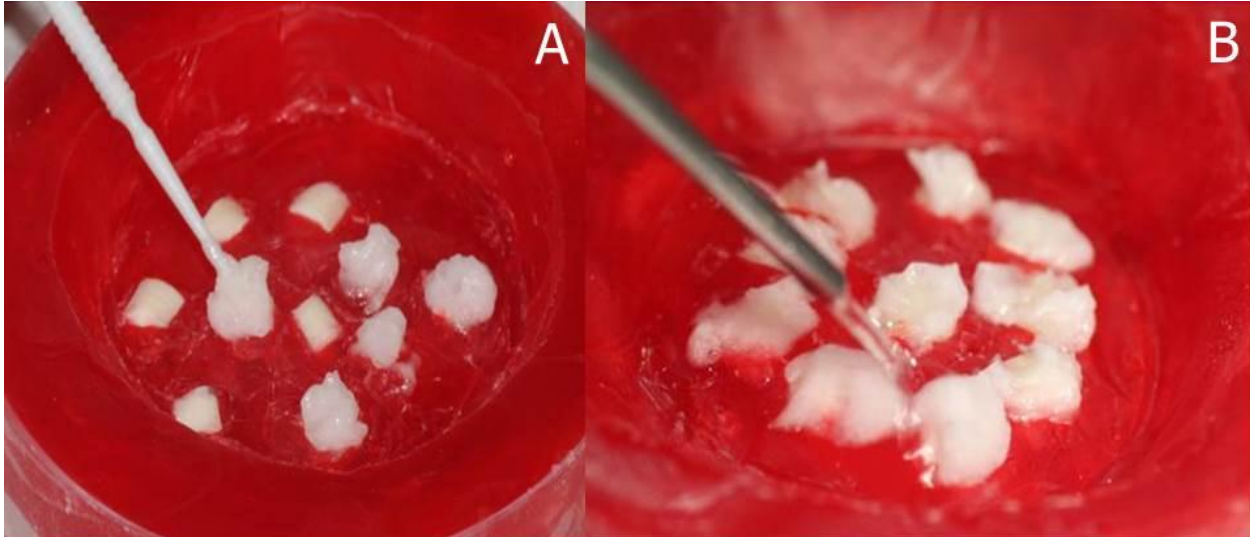


Figura 4: (A) Aplicação de EDTA 24% sobre as amostras. (B) Lavagem abundante com água destilada para remoção do gel de EDTA.

Nos espécimes de G3 a G11, foram aplicados os agentes dessensibilizantes de uso não profissional. Em cada grupo, as pastas foram aplicadas e constantemente movimentadas por 3 min com auxílio de microbrush. Em seguida, as amostras foram irrigadas com 100 mL de água destilada com o auxílio de seringa e agulha hipodérmica.

Os agentes dessensibilizantes propostos por grupo foram:

- **G3:** citrato de potássio 5.04% com 1450 ppm de flúor (Colgate Sensitive Original);
- **G4:** arginina limonene 8% com 1450 ppm de flúor (Colgate Sensitive Pró-Alívio, com fórmula Pró-Argin);
- **G5:** arginina dipenteno 8% com 1450 ppm de flúor (Colgate Sensitive Pró-Alívio Multiproteção, com fórmula Pró-Argin);
- **G6:** citrato de zinco 2% com 1450 ppm de flúor (Colgate Sensitive Multiproteção);

- **G7:** triclosan 0,3% com 1450 ppm de flúor (Colgate Total 12 Sensitive);
- **G8:** cloreto de estrôncio 10% com 1450 ppm de flúor (Sensodyne original);
- **G9:** fosfosilicato de cálcio com 1450 ppm de flúor (Sensodyne Repair & Protect, tecnologia Novamin);
- **G10:** acetato de estrôncio com 1450 ppm de flúor (Sensodyne Rápido Alívio & Proteção Duradoura);
- **G11:** cloreto estano com 1450 ppm de flúor (Oral-B Pró-Saúde Clinical Protection Sensitive).

Nos espécimes de G12 a G17, foram aplicados os agentes dessensibilizantes de uso profissional com protocolo semelhante aos grupos anteriores, alterando-se apenas o tempo de aplicação do produto conforme descrito a seguir:

- **G12:** fosfato de cálcio nanométrico (Dessensibilize Nano P) aplicado por 10 min;
- **G13:** CPP-ACP (MI Paste) aplicado por 1,5 min;
- **G14:** CPP-ACP com 900 ppm de flúor (MI Paste Plus) aplicado por 1,5 min;
- **G15:** verniz fluoretado manipulado com fluoreto de cálcio 6% e fluoreto de sódio 6% (Duofluorid), aplicado por 20 s;
- **G16:** flúor gel neutro a 2% com 9.000 ppm de flúor (Flugel), aplicado por 3 min;
- **G17:** verniz fluoretado com 22.600 ppm de flúor (Duraphat), aplicado por 20 s;

3. Caracterização morfológica da superfície radicular tratada por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Após tratamento, três amostras de cada grupos (G1 a G17) foram desidratadas em série de etanol com concentração ascendente (25%, 50%, 75%, 95% e 100%), durante 10 min em cada solução. Foram então retiradas do suporte de cera utilidade e colocadas em microtubos plásticos identificados, contendo álcool 100% até o processamento e análise.

As amostras foram submetidas à análise por meio de MEV com o propósito de caracterizar morfológicamente a superfície radicular tratada.

As amostras foram coladas em placa de alumínio, com fita adesiva de carbono dupla face, e metalizadas com liga de ouro-paládio (Balt-Tec SCD-050, Flórida, EUA), com tempo de 120 s. Após metalização, as amostras foram analisadas em microscópio eletrônico de varredura (JSM- 6610LV, JEOL, Tokyo, Japão), com magnificação de 500×, 2000×, 10.000× e 20.000×.

As fotomicrografias, obtidas de áreas distintas (superior direita, central e inferior esquerda) representativas das amostras de cada grupo, foram analisadas por dois examinadores com experiência na área e previamente calibrados. Foi realizada análise descritiva e comparativa dos espécimes.

4. Avaliação da adesão do coágulo e de elementos sanguíneos sobre superfície radicular tratada, por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV)

O projeto de pesquisa deste estudo foi encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Ribeirão Preto (UNAERP), por utilizar amostra sanguínea de humanos, aprovado com número CAAE 38987614.8.0000.5498 (Anexo1).

Amostras de sangue foram obtidas de três indivíduos sistemicamente saudáveis, por meio de punção venosa com auxílio de seringa e agulha descartável da vascularização periférico antebraço, sem uso de anticoagulante.

Após tratamento com os agentes dessensibilizantes conforme descrito anteriormente, 10 amostras de cada grupo foram recobertas por sangue, imediatamente após a coleta (Figura 5). As amostras permaneceram por 20 min em câmara umidificadora e, em seguida, foram irrigadas com PBS durante 5 min, por 3 vezes (BAKER et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2012).

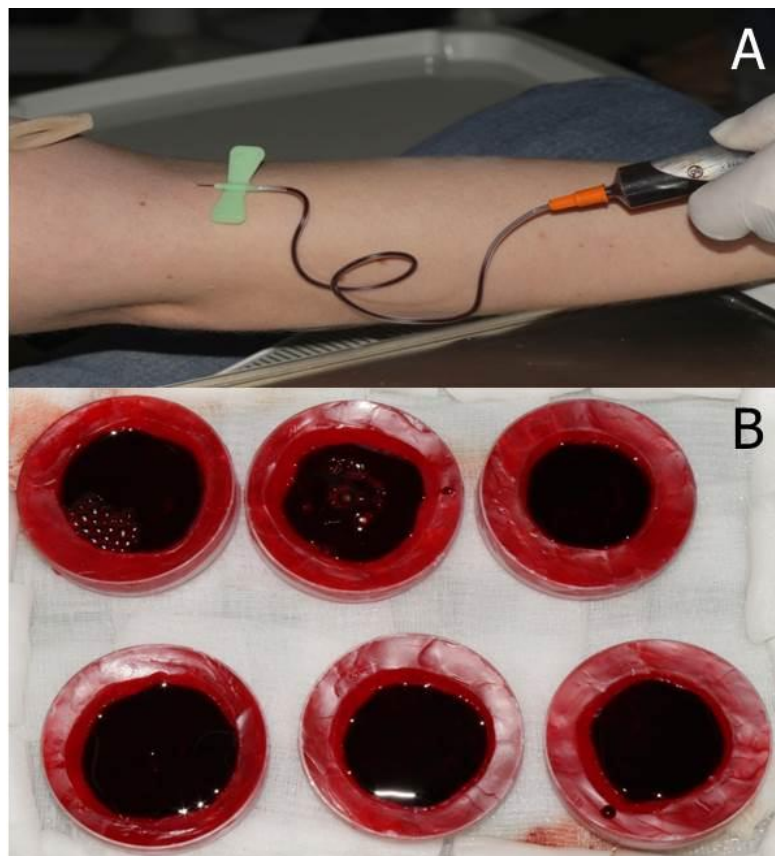


Figura 05: (A) Realização da coleta sanguínea. (B) Imersão total das amostras em sangue fresco.

Após serem lavadas, as amostras foram fixadas em solução de tampão fosfato (PBS) com formaldeído 1% durante 15 min. Após 3 lavagens, de 5 min cada, com solução de PBS, as amostras foram incubadas por 10 min em PBS com 0,02 mol/L de glicina e lavadas novamente como descrito anteriormente. Posteriormente foram fixadas em PBS com gluteraldeído 2,5% durante 30 min e lavadas 3 vezes com PBS durante 5 min cada (BAKER et al., 2000). As amostras foram então desidratadas em série com concentração ascendente de etanol (25%, 50%, 75%, 95% e 100%) durante 10 min em cada solução, retiradas do suporte de cera utilidade, colocadas em microtubos plásticos identificados, e mantidas em álcool 100% até o processamento.

As amostras foram levadas em um sistema de ponto crítico com CO₂ (Bal-Tec CPD 030, Fürstentum, Liechtenstein, Alemanha), com a finalidade de se obter secagem uniforme mantendo o formato original da célula sanguínea.

Após este procedimento, as amostras de cada grupo foram metalizadas e analisadas em MEV conforme descrito anteriormente, com magnificação de 500×, 2000×, 10.000× e 20.000×.

As fotomicrografias obtidas foram analisadas, por três examinadores cegos para este estudo e previamente calibrados para verificar a formação do coágulo de fibrina, adesão de elementos sanguíneos e as características celulares após os tratamentos, assim como o grau de maturação do coágulo sanguíneo (LEITE et al., 2005; THEODORO et al., 2006).

5. Caracterização química dos agentes dessensibilizantes

Com a finalidade de complementar a análise morfológica e possibilitar o entendimento de como os agentes dessensibilizantes podem ter interferido na adesão de coágulo de fibrina e de elementos sanguíneos sobre a superfície dental tratada, amostras de cada grupo foram submetidas aos tratamentos anteriormente descritos e analisadas por meio de espectroscopia de raios X por energia dispersiva (EDS-X) (n=5); espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS) (n=2) e espectrometria de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF) (n=2) para caracterização química das superfícies.

5.1. Análise química por meio de espectroscopia de raios X por energia dispersiva (EDS-X)

Após tratamento dos espécimes de acordo com o grupo a que pertenciam, as cinco amostras foram desidratadas em uma série de etanol com concentração ascendente (25%, 50%, 75%, 95% e 100%) durante 10 min em cada solução, sendo mantidas em etanol 100% até o processamento e análise.

As amostras de cada grupo foram montadas em placa de alumínio, coladas com fita adesiva de carbono dupla face, e submetidas à leitura em microscópio (JEOL JSM-6610LV Scanning Electron Microscope, Tokyo, Japão) equipado com espectrofotômetro de energia dispersiva (EDS-X) para caracterizar quimicamente os agentes por meio da comparação de elementos de superfície (500 – 700 nm de espessura) com voltagem de 15 kV, para avaliação dos elementos, conforme descrito anteriormente por FRANKOVÁ

et al. (2013). Após análise, os dados foram tabulados com o objetivo de caracterizar quimicamente cada grupo de amostras de forma qualitativa.

5.2. Análise química por meio da espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS)

Para esta metodologia, os fragmentos de 5 × 5 mm fixados em cera utilidade receberam o tratamento dispensado para cada grupo, as amostras foram levadas ao dessecador de sílica em gel com a finalidade de reduzir a umidade presente nas amostras por 24 h. Após a secagem, foram submetidas à análise por meio da LIBS.

O equipamento utilizado para a espectroscopia de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS) foi um sistema comercial de bancada da OceanOptics, modelo LIBS 2500 plus, com uma fonte a laser de ND:YAG (Brilliant, Quantel, França) operado a 1064, 532 e 266 nm, com taxa de repetição de 10 Hz e até 350 mJ/pulso, espectrômetro modelo ESA3000 (LLA Instruments, Berlin, Alemanha) com fibra óptica Echelle e detector ICCD.

Foram adquiridos todos os espectros a partir de 3 pontos (central, mesial e distal) da amostra a fim de obter confiabilidade nos resultados, devido ao fato desta porção da amostra possuir menor concavidade. Para manter o foco do laser sobre a amostra, esta foi posicionada e mantida o mais plana possível por duas placas de alumínio dotadas de um orifício central e fixadas com presilhas. Três espectros de cada amostra foram coletados, o que permitiu contornar o problema relacionado a uma provável

heterogeneidade da amostra, em função da característica intrínseca da técnica que utiliza uma área amostral restrita (SILVA, 2008).

A região a ser selecionada nos espectros de LIBS foi correspondente à parcela captada pelo primeiro espectrômetro, devido à alta resolução do equipamento e ao tratamento de todo o espectro, o qual foi laborioso do ponto de vista computacional. Esta derivada foi calculada através do método derivado da simétrica de sete pontos. O resultado foi submetido à análise dos elementos principais resultantes de cada conjunto, com um estudo preliminar dos dados através do software Diagnóstico.

Foi realizada análise qualitativa que permitiu demonstrar, através de gráficos, o elemento que apresentou maior magnitude dentro da amostra, por meio de sinais de intensidade de emissão óptica.

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística. Após a verificação da homogeneidade e normalidade foram empregados Análise de Variância e teste de Tukey. Os cálculos foram realizados com o auxílio do software SPSS 17 (SPSS Inc., Ill, EUA), com nível de significância de 5%.

5.3. Caracterização química por meio da espectrometria de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF)

As amostras de dente preparadas conforme descrito para análise por meio de LIBS foram acondicionadas dentro de uma cubeta de raios X, com filme Proplene de 4 µm de espessura. Cada grupo continha dois espécimes, identificadas como "a" e "b".

Cada espécime foi lida em triplicata, no mesmo ponto. O diâmetro do colimador foi de 1 mm. Estas amostras foram as mesmas utilizadas para a metodologia LIBS.

Depois de acondicionadas em microtubos (Eppendorf) que haviam sido identificados de 1 a 17 de acordo com o grupo experimental a que pertenciam, as amostras foram levadas para leitura no microscópio. O programa para a aquisição foi "matriz_dente". O tempo de aquisição foi de 200 s para as amostras e 300 s para o branco. A excitação foi realizada com tubos de raios X com ânodo de Rh, sem filtro, operado em 50 kV e tempo morto máximo de 30%.

Estes dados foram obtidos e baseados na intensidade de sinal emitido por cada elemento químico presente na amostra. No final, havia 100% na somatória de todos os elementos químicos. Os dados que foram transferidos para a planilha eram de resultados mensurados em ppm, quantificados em leitura de diferentes keV em intensidade medida por contagem por segundo por unidade de absorbância (cps/uA).

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística. Após a verificação da homogeneidade e normalidade foram ser empregados Análise de Variância e teste de Tukey. Os cálculos foram realizados com o auxílio do software SPSS 17 (SPSS Inc., Ill, EUA), com nível de significância de 5%.



Resultados

1. Caracterização morfológica da superfície radicular tratada por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A análise qualitativa, realizada por meio das fotomicrografias obtidas por MEV, dos espécimes submetidos ao tratamento com agentes dessensibilizantes evidenciou que os grupos G1 e G2 apresentaram aspecto típico para os procedimentos realizados.

No G1 observou-se superfície com aspecto craquelado, distribuído de forma homogênea, sem túbulos dentinários aparentes, sugestiva de dentina submetida à raspagem e alisamento radicular (Figura 6A). O G2 apresentou superfície lisa, isenta de camada de *smear*, com grande densidade de túbulos dentinários abertos, característico da utilização de agentes quelantes (Figura 6B).

Nos grupos tratados observaram-se os seguintes achados:

Os espécimes do G3 apresentaram superfície heterogênea recoberta por partículas grosseiras de diferentes tamanhos, com maioria dos túbulos dentinários recobertos e alguns aparentes (Figura 6C). Da mesma forma nos espécimes dos grupos G4, G6 e G13 as superfícies também apresentaram-se heterogêneas com grande parte dos túbulos dentinários obstruídos, porém com partículas pequenas de aspecto arenoso (Figura 6D).

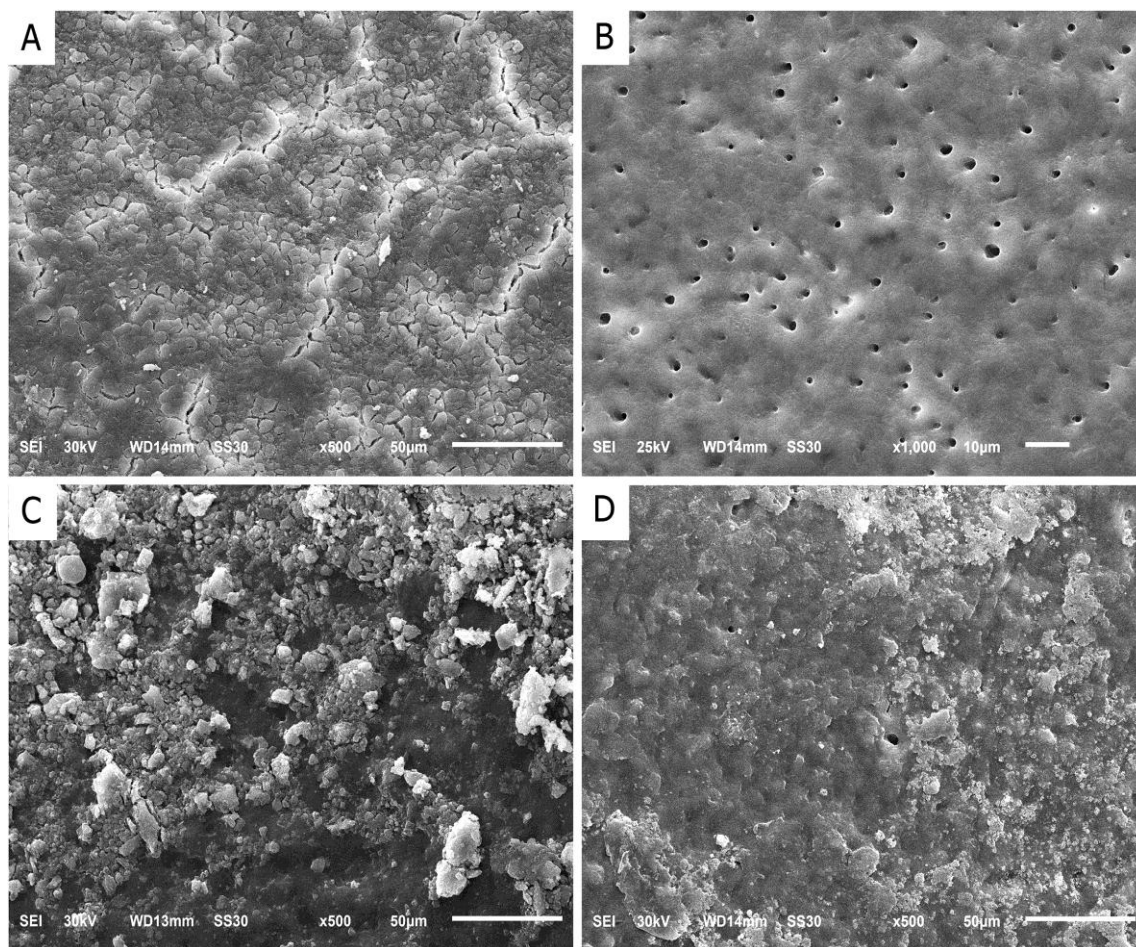


Figura 6. A: G1 – Superfície radicular após raspagem radicular (500×). **B:** G2 – Superfície radicular após aplicação dos agentes quelantes (1000×). **C:** Imagem representativa do G3 após aplicação do agente dessensibilizante (500×). **D:** Imagem representativa dos grupos G4, G6, G13 após aplicação do agente dessensibilizante (500×).

Nos grupos G8, G11, G12 notaram-se superfície com túbulos dentinários ocluídos apresentando partículas de dimensões variadas distribuídas em todo o campo (Figura 7B).

Nos espécimes do G5, G7, G9 e G10, por outro lado, observaram-se superfícies com aspecto homogêneo e túbulos dentinários ocluídos, apresentando pequenas partículas distribuídas esparsamente (Figura 7A). De forma semelhante, os grupos G15, G16 e G17 apresentaram superfície homogênea com túbulos ocluídos e pequenas partículas esparsas; porém, nestes espécimes a superfície era, de uma forma geral,

mais lisa (Figura 7D). No G14 a superfície apresentou-se também mais lisa e com túbulos ocluídos, porém observou-se em algumas regiões acúmulo de material de aspecto mais compacto (Figura 7C).

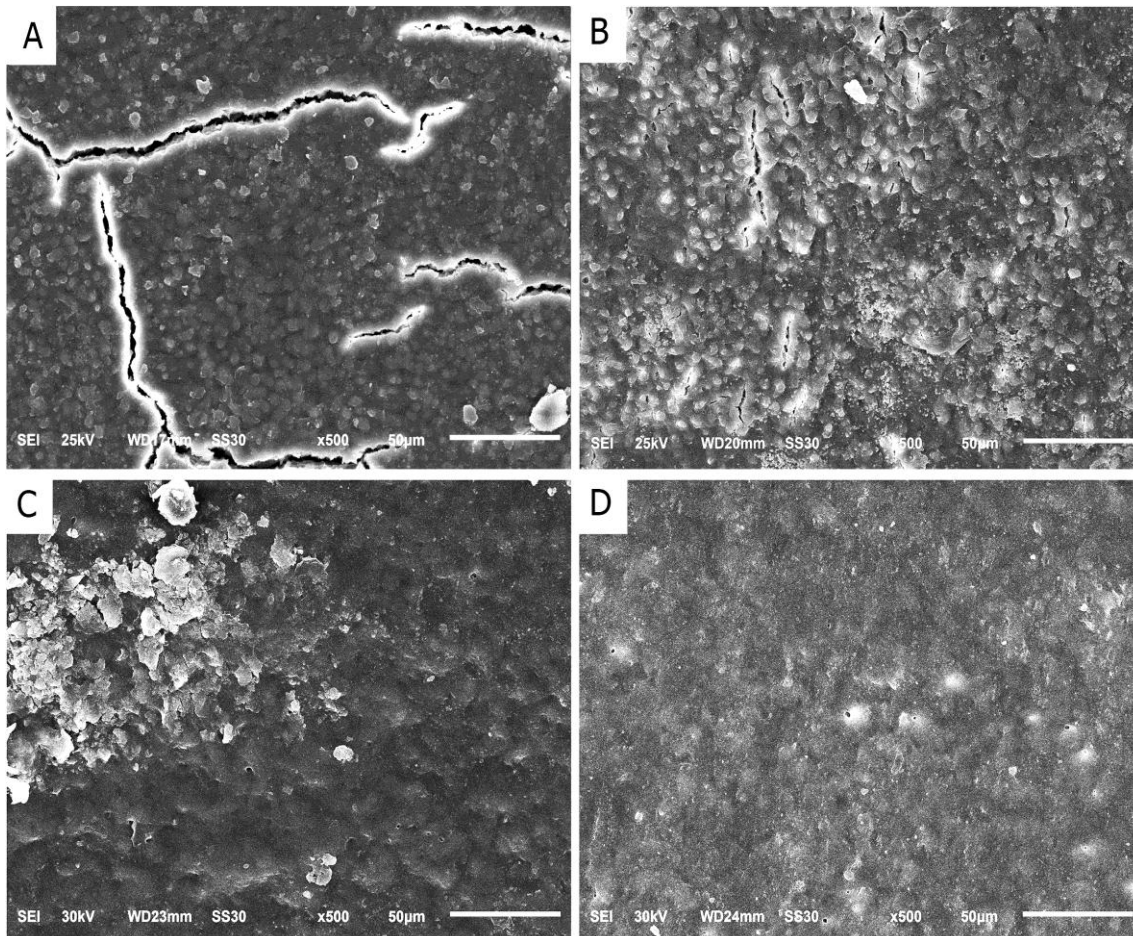


Figura 7. A: Imagem representativa dos grupos G8, G11, e G12 após aplicação do agente dessensibilizante. **B:** Imagem representativa dos grupos G5, G7, G9, e G10 após aplicação do agente dessensibilizante. **C:** Imagem representativa dos grupos G15, G16 e G17 após aplicação do agente dessensibilizante. **D:** Imagem representativa do grupo G14 após aplicação do agente dessensibilizante (500×).

As fotomicrografias das Figuras 8A e 8B apresentam, em aumento de 2000×, detalhes observados em alguns espécimes nos quais constata-se que os túbulos dentinários são mecanicamente obstruídos por partículas dos agentes dessensibilizantes. As Figuras 8C e 8D são do mesmo espécime, com 2000 e 10000×, e sugerem que o

agente dessensibilizante forma uma camada que recobre a superfície da dentina, que pode ser destacada.

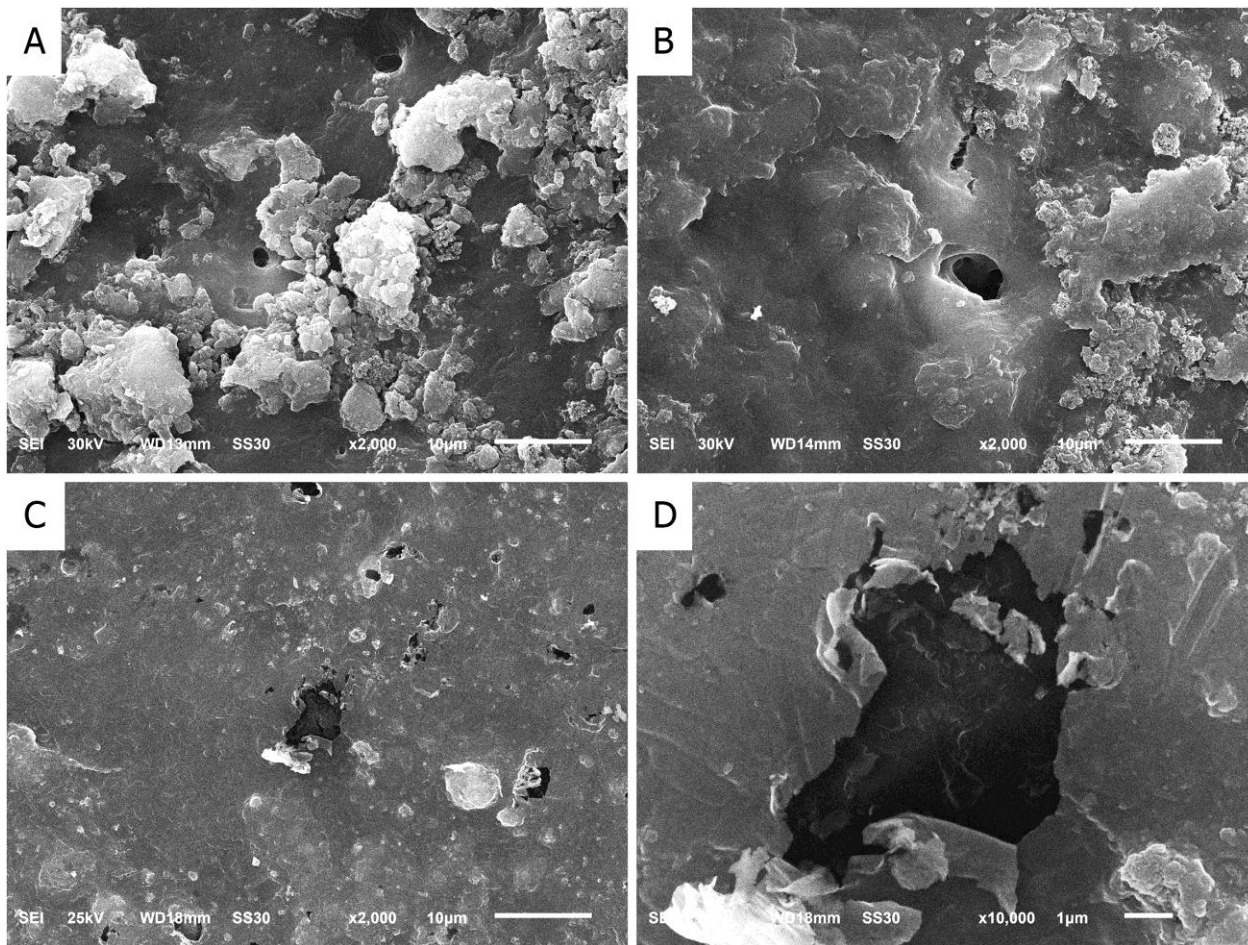


Figura 8: Imagens **A** e **B** são detalhes observados em diferentes grupos onde observam-se partículas dos agentes dessensibilizantes recobrendo túbulos dentinários (2000×); Em **C** (2000×) e **D** (10000×) observa-se camada de material formada sobre a dentina, que pode ser destacada da superfície.

2. Avaliação da adesão do coágulo e de elementos sanguíneos sobre superfície radicular tratada, por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Em nenhum grupo notou-se células com características de anormalidade demonstrando que os agentes dessensibilizantes não apresentaram citotoxicidade.

Os critérios de análise foram: ausência de rede de fibrina; presença de escassas células sanguíneas; fina rede de fibrina; densa rede de fibrina com entrelaçamento e presença de células sanguíneas aprisionadas.

O perfil de superfície das amostras do G15 é representado na Figura 9, com ausência de rede de fibrina e escassez de células sanguíneas.

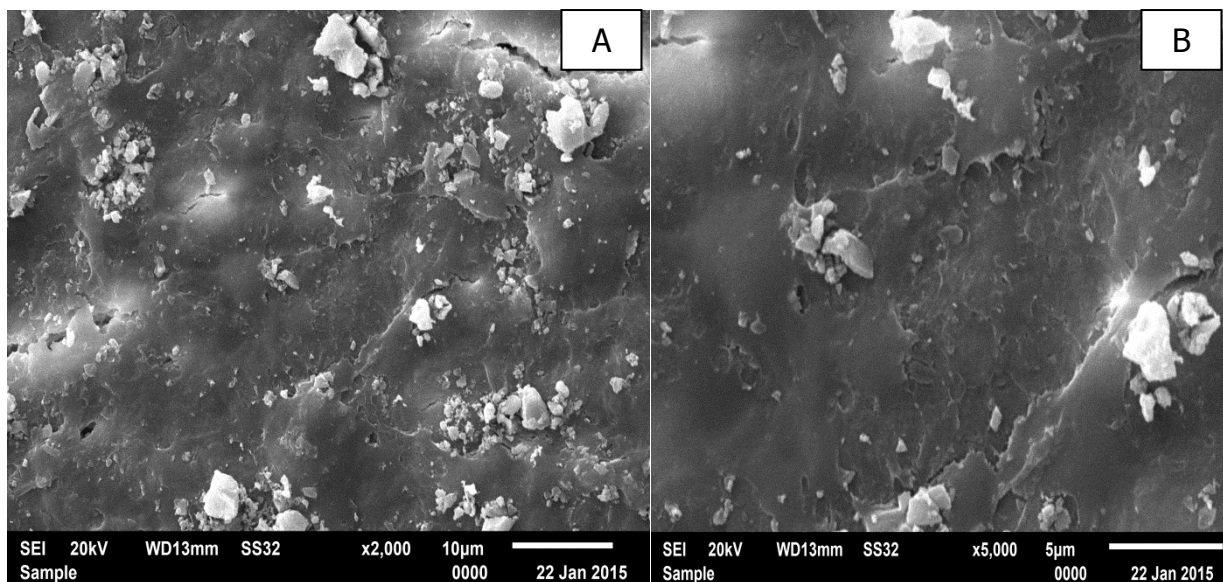


Figura 9: G15 – Superfície radicular sem presença de rede de fibrina e células sanguíneas, nos aumentos de 2.000× (A) e 5.000× (B).

O perfil de superfície das amostras do G1, G4, G5, G10 e G13 é representado na Figura 10, a qual demonstra superfície radicular com fina rede de fibrina e escassez de células sanguíneas (células vermelhas e células brancas).

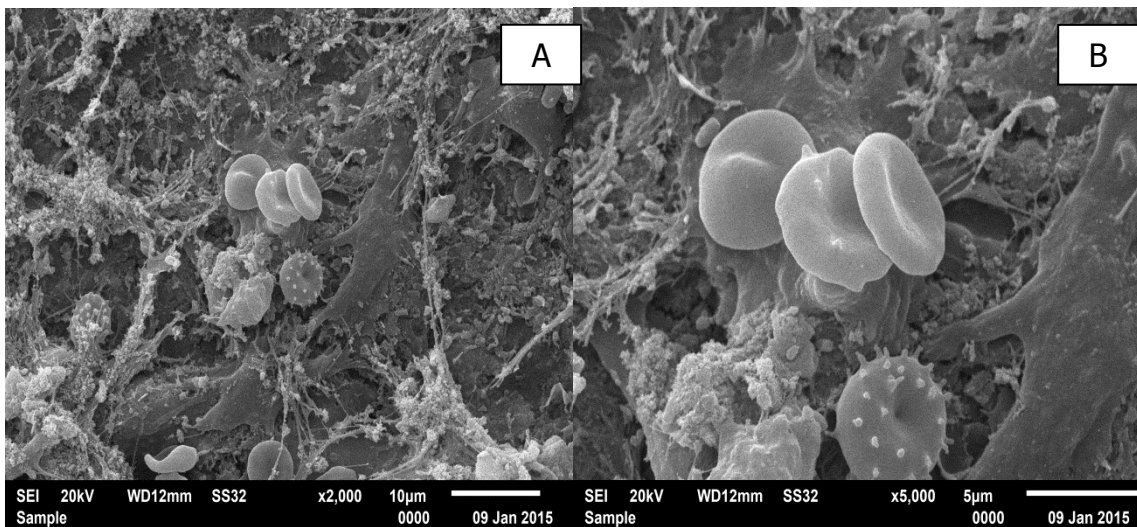


Figura 10: G13 – Superfície radicular representativa de presença de fina rede de fibrina e poucas células sanguíneas, nos aumentos de 2.000× (A) e 5.000× (B).

O perfil de superfície das amostras dos grupos G3, G8 e G14 é representado na Figura 11, que demonstra superfície radicular com fina de rede de fibrina e presença de aglomerados de células hemácias e células de defesa.

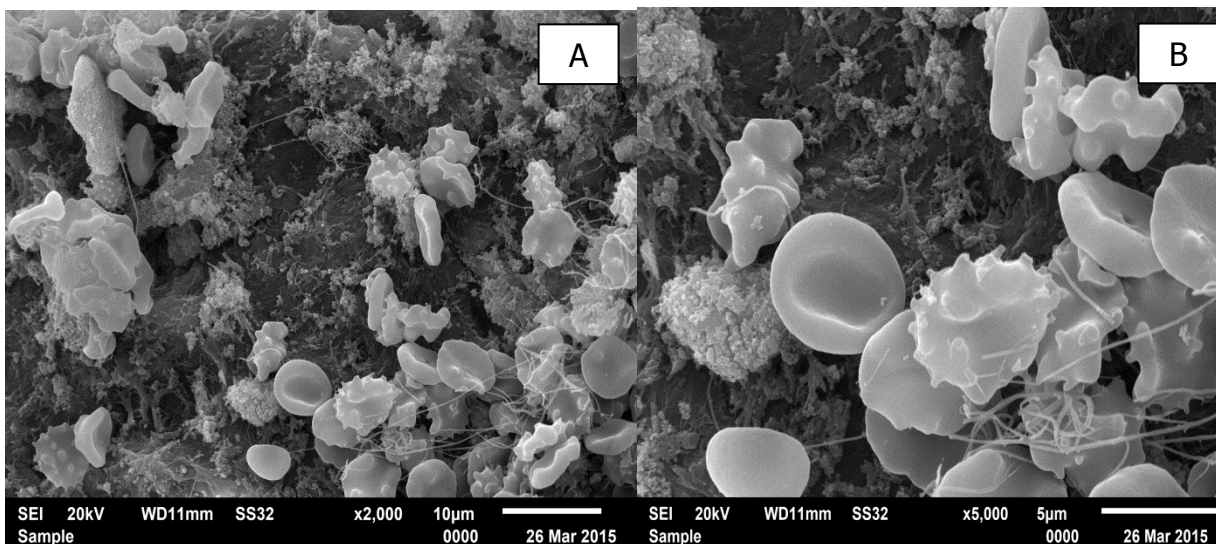


Figura 11: Superfície radicular representativa de presença de fina rede de fibrina e de aglomerados celulares, nos aumentos de 2.000× (A) e 5.000× (B).

O perfil de superfície das amostras do grupo G2 é representado na Figura 12. Este grupo demonstra uma rede de fibrina com entrelaçamento, porém com escassez de células sanguíneas.

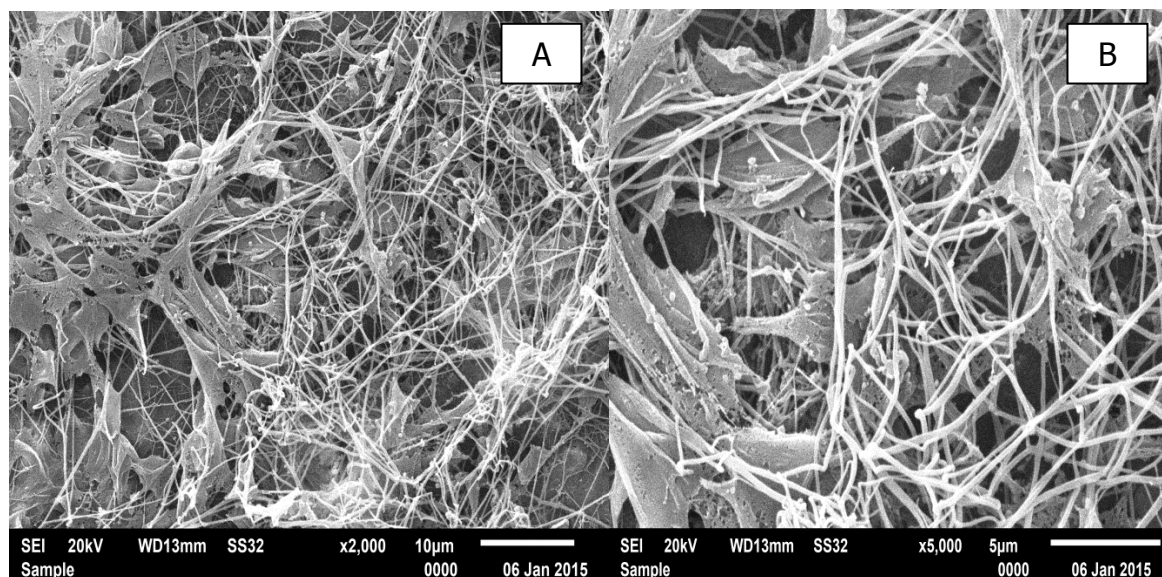


Figura 12: Superfície radicular representativa de densa rede de fibrina e sem presença de aglomerados celulares, nos aumentos de 2.000× (A) e 5.000× (B).

O perfil de superfície das amostras dos grupos G6, G7, G9, G11, G12, G16 e G17 são representados na Figura 13. A semelhança entre os grupos é demonstrada pela densa rede de fibrina com entrelaçamento e grande quantidade de células sanguíneas aprisionadas (células vermelhas e células brancas).

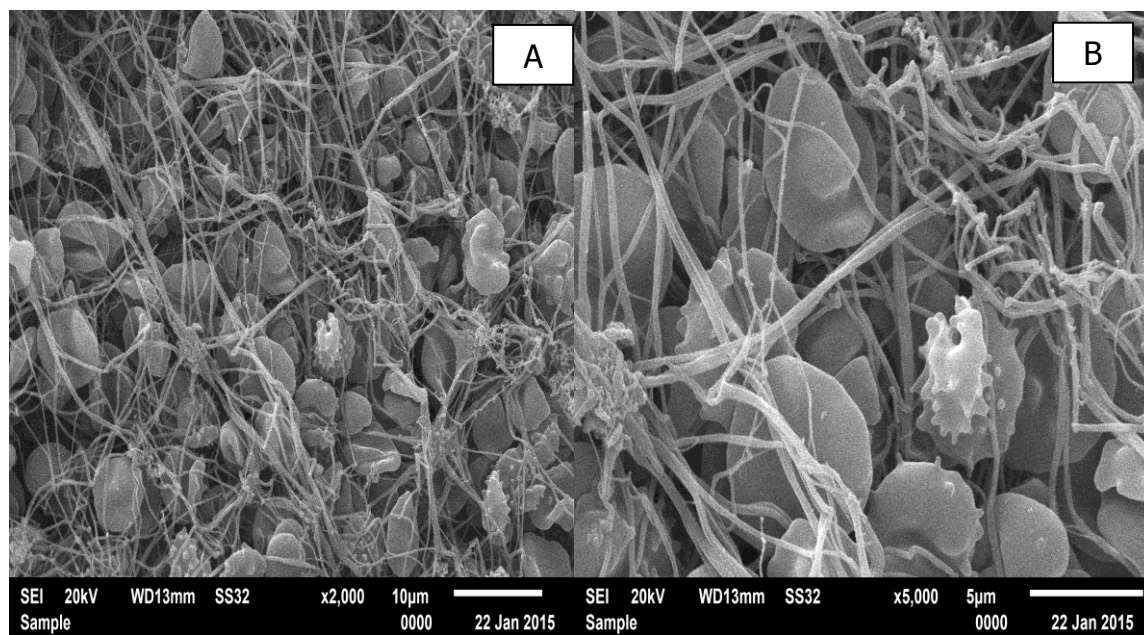


Figura 13: Superfície radicular representativa de presença de densa rede de fibrina e sem presença de aglomerados celulares, nos aumentos de 2.000x (A) e 5.000x (B).

3. Caracterização química de agentes dessensibilizantes

3.1. Análise química por meio de espectroscopia de raios X por energia dispersiva (EDS-X)

As amostras tratadas com agentes dessensibilizantes foram analisadas por EDS-X e foi possível observar os elementos químicos carbono [C], oxigênio [O], sódio [Na], magnésio [Mg], alumínio [Al], fósforo [P], enxofre [S], cálcio [Ca], itérbio [Yb], zinco [Zn], irídio [Ir], silício [Si], molibdênio [Mo], estrôncio [Sr] e titânio [Ti]. As figuras 14, 15, 16 e 17 demonstram os picos destes elementos químicos em cada grupo de amostras. Os diferentes grupos tratados eram constituídos por diferentes elementos químicos em diversas proporções. Ao final, a somatória dos percentuais de todos os elementos químicos presentes em cada grupo analisado era 100%. Na Tabela II (Apêndice 2) são apresentados todos os dados numéricos encontrados nos resultados desta metodologia.

O espécime do G1 era composto unicamente pelo elemento dental com presença química principalmente de cálcio [Ca] e fósforo [P]. Em todos os grupos analisados, foi possível observar altos percentuais de oxigênio [O], carbono [C], sódio [Na] em quantidade proporcional destes elementos químicos.

Alguns elementos foram encontrados de forma isolada nos grupos. O zinco [Zn] foi encontrado no G1, G5, G6 e G11. O molibdênio [Mo] foi observado no G5. O estrôncio [Sr] foi observado somente nos grupos G8 e G10 em todas as amostras.

O irídio [Ir] e o molibdênio [Mo] foram encontrados em todos os grupos, porém em pequena quantidade. O itérbio [Yb], o tungstênio [W], o nitrogênio [N] e o bromo [Br] foram encontrados em pequenas amostras em grupos isolados.

O fósforo [P] foi encontrado em todos os grupos. Esse elemento químico foi encontrado em maior proporção no G1 seguido do G6, G11, G13.

O enxofre [S] e o magnésio [Mg] foram encontrados em todos os grupos, com valores similares. O elemento cálcio [Ca] foi encontrado em todos os grupos e apresentou maiores valores nos grupos G1, G6 e G11. Nos demais grupos, havia valores semelhantes deste elemento químico.

Não houve presença do silício [Si] nos grupos G1, G2, G6, G12, G14. O G8 apresentou valor de maior proporção de [Si]. O cloro [Cl] esteve presente no G4 e não foi detectado nos demais grupos.

O elemento titânio [Ti] foi detectado somente nos grupos G9, G13 e G11. O potássio [K] não foi detectado em nenhum grupo.

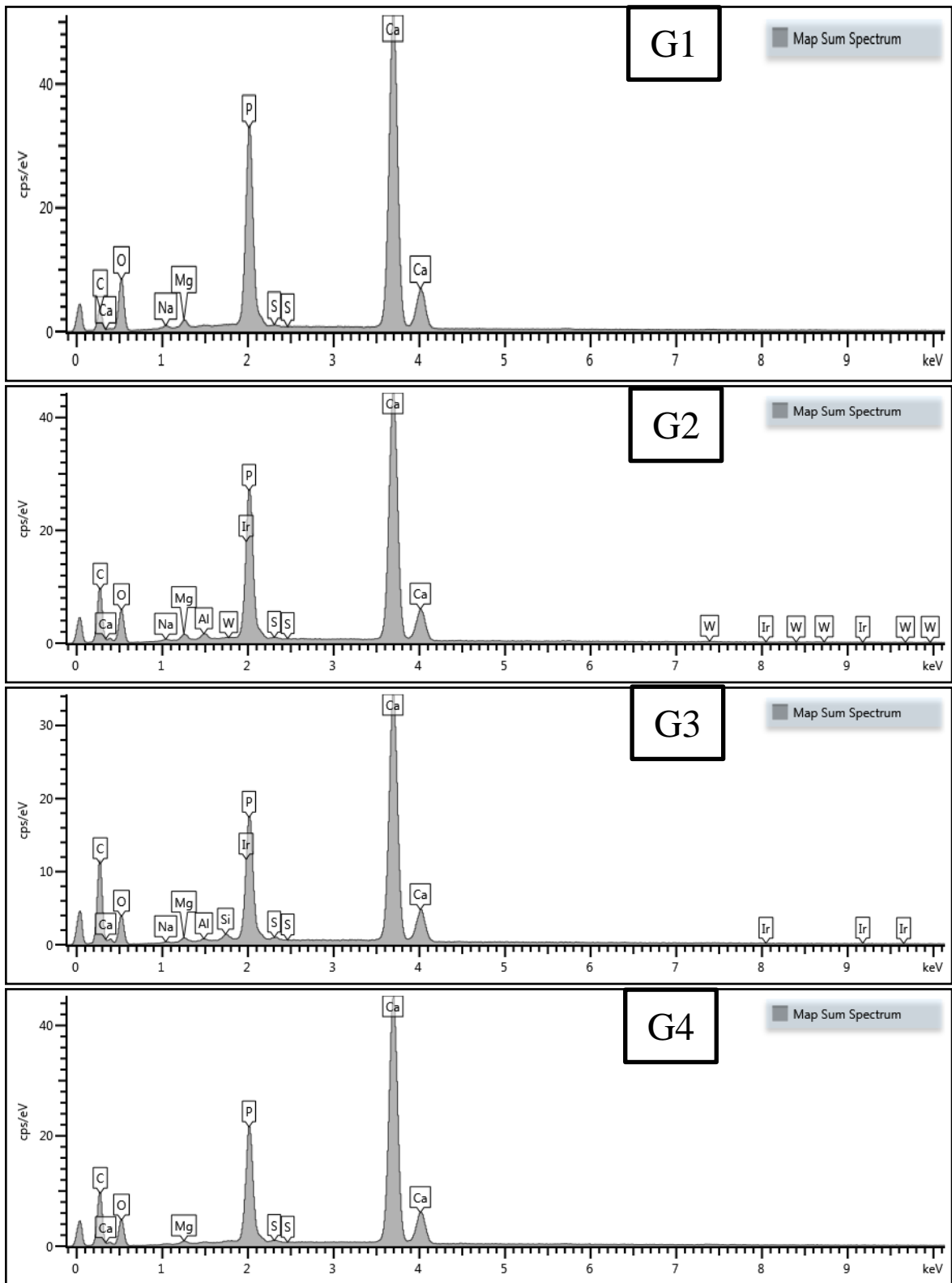


Figura 14: Análise representativa dos elementos químicos por proporção observados em EDS-X nos grupos G1 a G4.

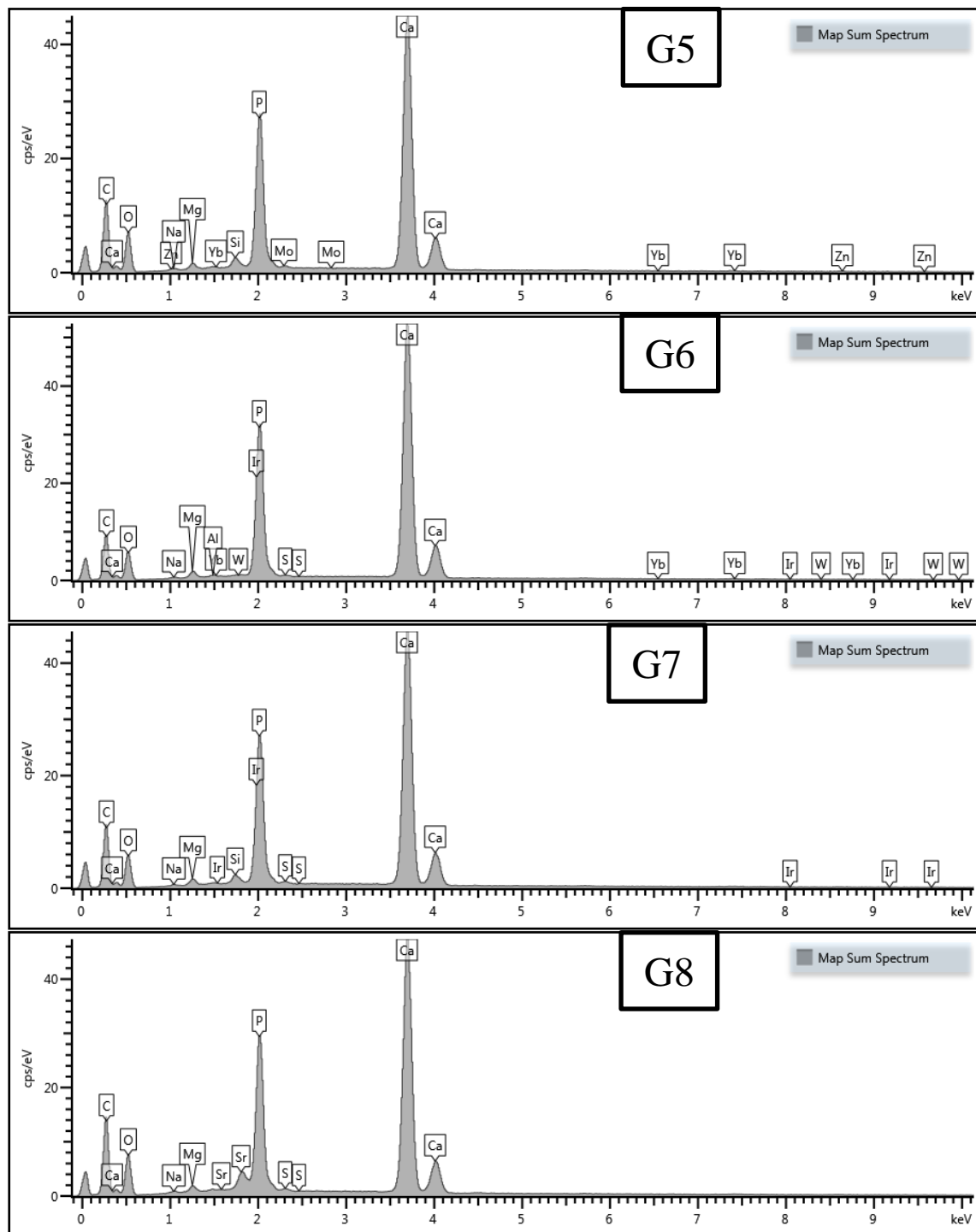


Figura 15: Análise representativa dos elementos químicos por proporção observados em EDS-X nos grupos G5 a G8.

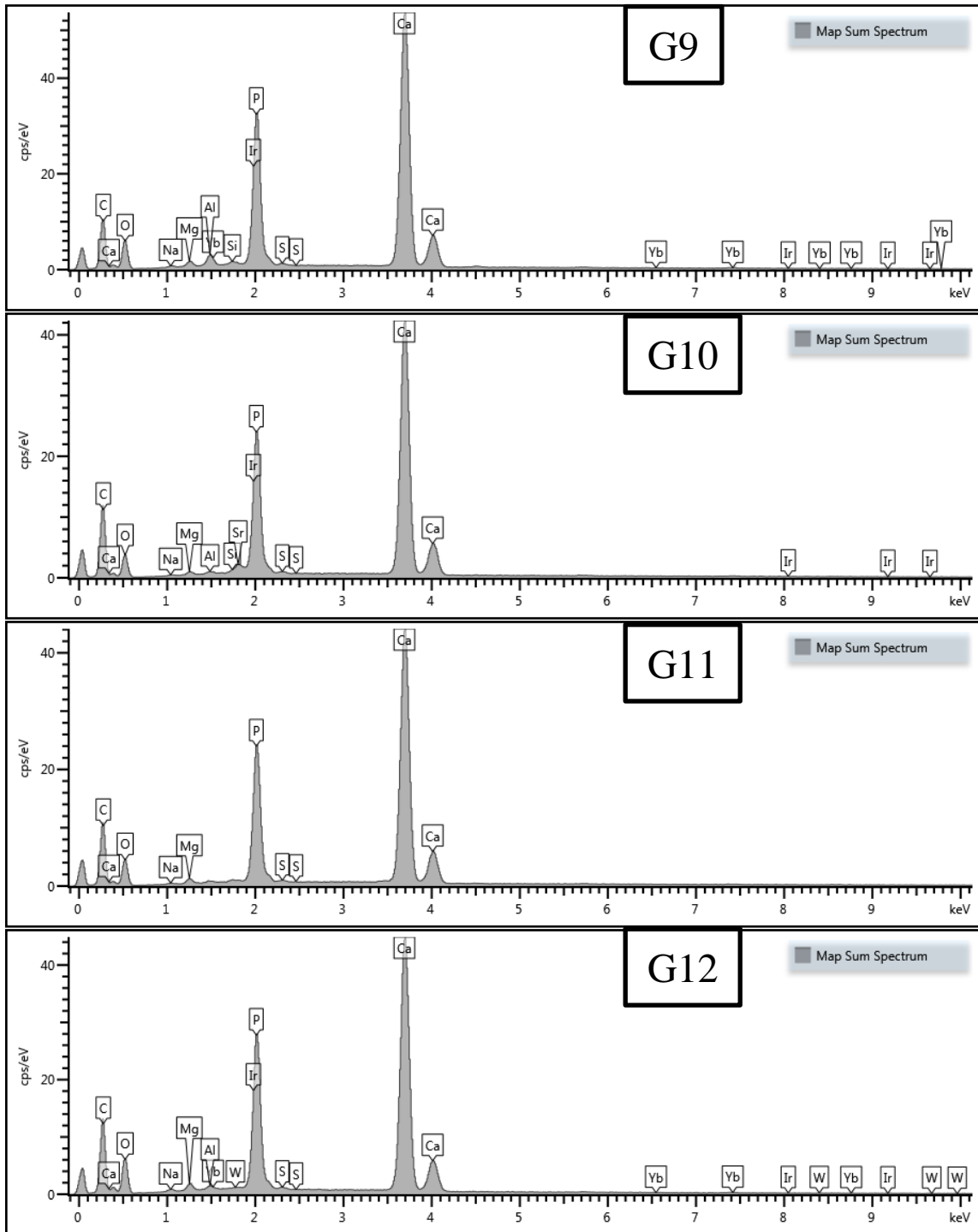


Figura 16: Análise representativa dos elementos químicos por proporção observados em EDS-X nos grupos G9 a G12.

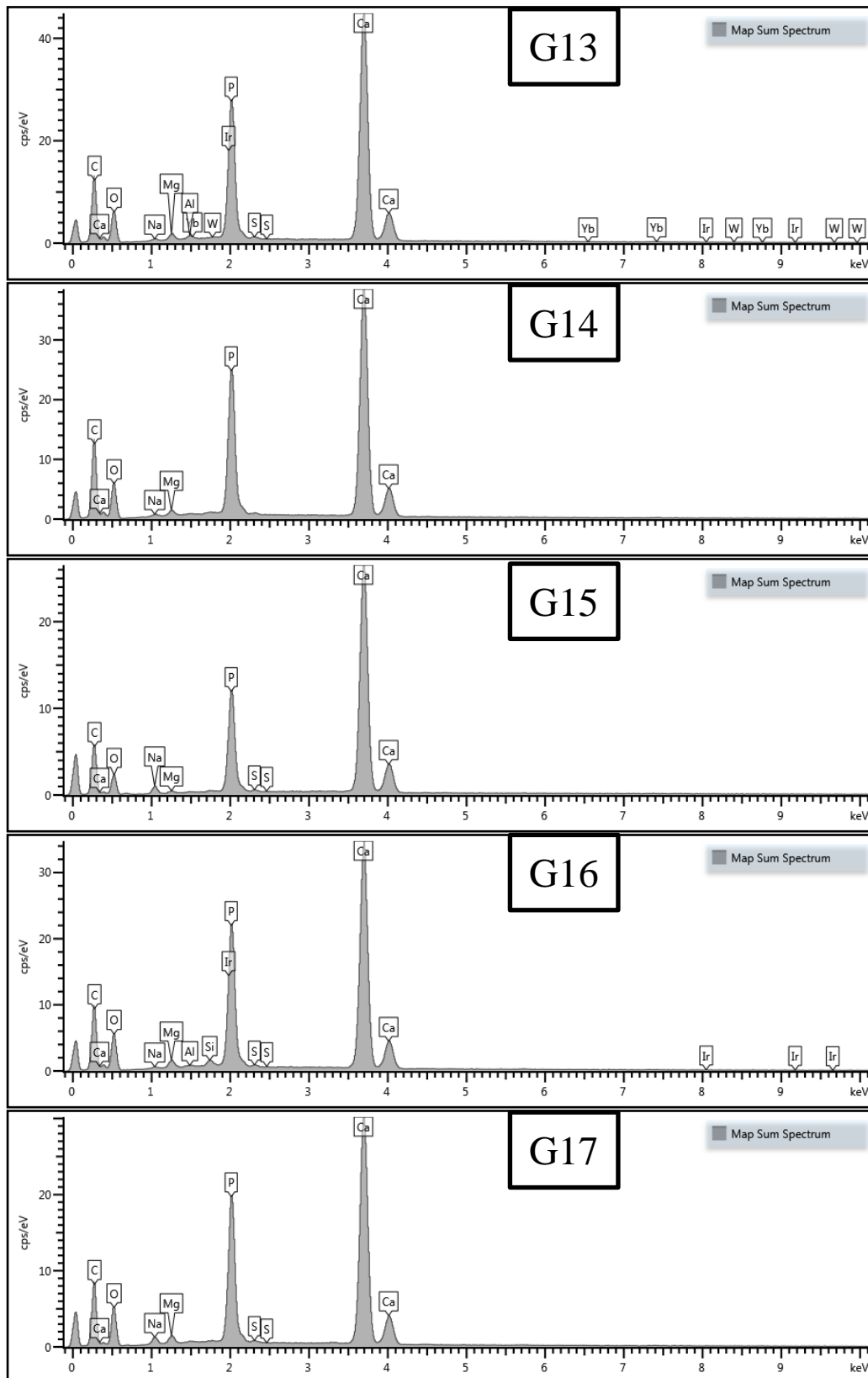


Figura 17: Análise representativa dos elementos químicos por proporção observados em EDS-X nos grupos G13 a G17.

3.2. Análise química por meio da espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS)

Foram avaliados os componentes químicos de cada grupo demonstrando a presença dos elementos zinco [Zn], fósforo [P], cálcio [Ca], titânio [Ti], magnésio [Mg], silício [Si], carbono [C] e estrôncio [Sr], de acordo com sua magnitude e pontos de pico.

O teste estatístico utilizado foi o ANOVA, para análise entre todos os grupos. Posteriormente, foi aplicado o teste de Tukey para análise intra-grupos para cada um dos elementos químicos avaliados.

Os elementos químicos que apresentaram diferença estatística entre todos os grupos de acordo com o teste ANOVA foram: [Mg] ($p < 0,0001$); [Ca] ($p = 0,002$); [Si] ($p < 0,0001$); [C] ($p = 0,008$); [Ti] ($p = 0,002$); [Zn] ($p < 0,0001$) e [Sr] ($p < 0,0001$). Não houve diferença estatística entre os grupos para o fósforo [P] ($p > 0,05$).

Foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos para o elemento cálcio [Ca] ($p = 0,002$), sendo que apenas os G12 e G16 tinham diferença significativa quando comparados ao grupo 15 (Figura 18A).

O elemento químico estrôncio [Sr] foi submetido à análise estatística comparativa entre os grupos e apresentou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$). Na análise entre os grupos, o G8 e o G10 apresentaram diferença estatística em relação aos demais grupos ($p < 0,05$). Os dados deste elemento químicos são apresentados na Figura 18B.

O elemento químico titânio [Ti] demonstrou diferença estatisticamente significativa quando realizada a análise entre todos os grupos ($p = 0,002$), porém na

análise entre os grupos não houve diferença estatística entre os grupos ($p > 0,05$), conforme representado na Figura 18C.

O zinco [Zn] foi comparado entre todos os grupos e apresentou diferença estatística ($p < 0,0001$). Quando foi realizada a análise de Tukey, foi observada diferença estatisticamente significativa quando G11 foi comparado aos outros grupos (Figura 18D).

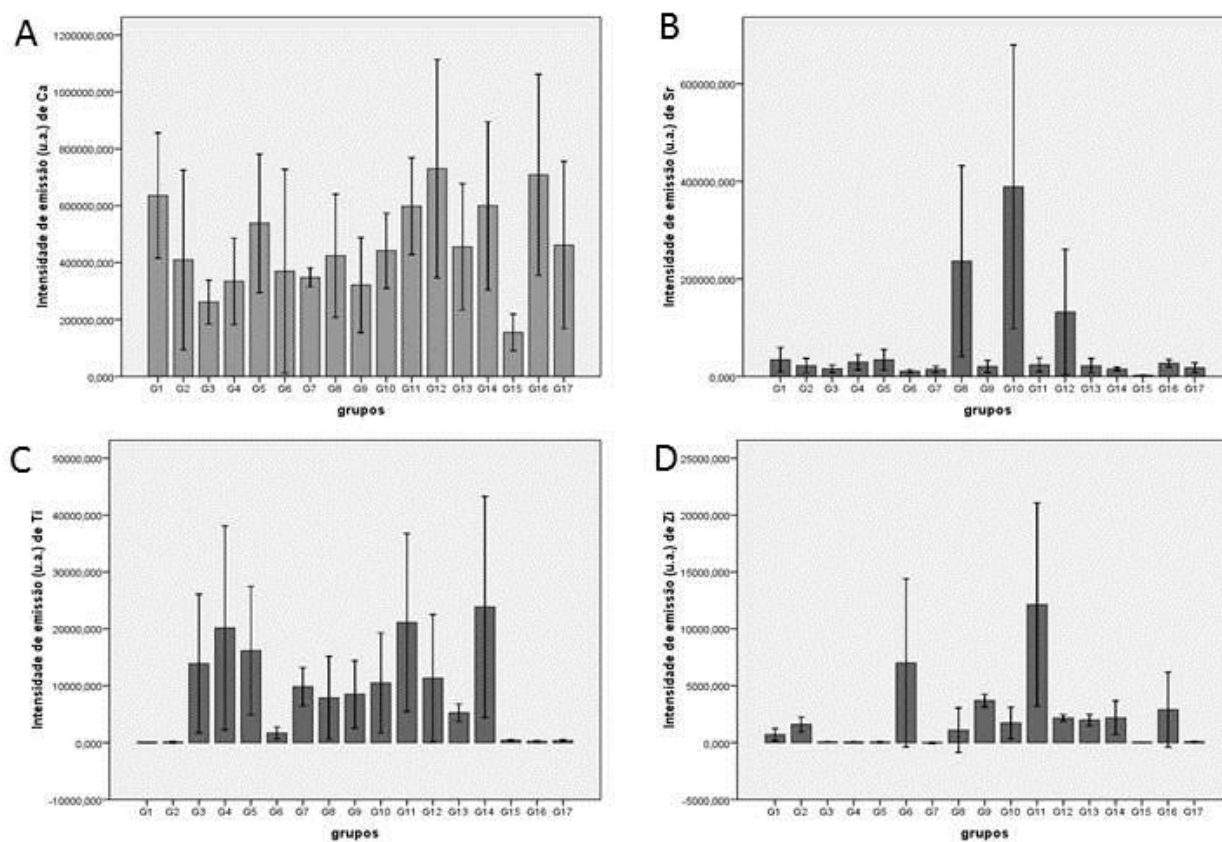


Figura 18: Gráficos representativos dos elementos químicos por LIBS. **A:** cálcio; **B:** estrôncio; **C:** titânio; **D:** zinco.

3.3. Caracterização química por meio da espectrometria de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF)

Os elementos químicos cálcio [Ca] e fósforo [P] não foram quantificados por esta metodologia devido aos seus altos teores na escala de mensuração.

Os elementos químicos que foram identificados e quantificados por este método foram magnésio [Mg], bário [Ba], ferro [Fe], silício [Si], cobalto [Co], titânio [Ti], zinco [Zn], estrôncio [Sr], cobre [Cu], potássio [K] e enxofre [S].

O teste estatístico utilizado foi o ANOVA, para análise entre todos os grupos. Posteriormente, foi aplicado o teste de Tukey para análise intra-grupos para cada um dos elementos químicos avaliados.

Os elementos químicos que apresentaram diferença estatística entre todos os grupos de acordo com o teste ANOVA foram: [Ba] ($p=0,001$); [Fe] ($p=0,001$); [Si] ($p=0,0061$); [Co] ($p=0,001$); [Ti] ($p=0,002$); [Zn] ($p=0,001$); [Sr] ($p=0,001$); [Cu] ($p=0,001$); [K] ($p=0,001$) e [S] ($p=0,001$). Não houve diferença estatística entre os grupos para o magnésio [Mg] ($p>0,05$).

O elemento químico zinco [Zn] apresentou diferença estatística entre todos os grupos ($p=0,001$). Foi observada diferença estatisticamente significativa quando comparado G11 com todos os demais grupos ($p<0,05$). Também houve diferença estatística quando comparou-se G3 com G6 e G12. Além destes, observou-se diferença estatisticamente significativa quando comparados G12 com G16 e G17 (Figura 19A).

O elemento titânio [Ti] apresentou diferença estatística entre os grupos ($p=0,002$). Quando a análise de Tukey foi realizada, observou-se diferença

estatisticamente significativo quando comparado G14 com G5, G6, G9, G12 e G17. O G7 também apresentou diferença estatística quando comparado a G9 e G12 como pode ser observado na Figura 19B.

O estrôncio [Sr] demonstrou diferença estatisticamente significativa quando todos os grupos foram comparados ($p=0,001$). Houve diferença estatística entre G8 quando comparado a todos os demais grupos ($p<0,05$). O G10 também apresentou diferença estatística com os outros grupos, exceto o G9 e G12 ($p>0,05$). Além destes, houve diferença estatística entre G12 e G2, G3, G4, G6, G7 e G11. O G9 teve diferença estatística de G3, G6, G7, G11, G14, G15 e G17. O G12 apresentou diferença estatística de G14, G15 e G17 para este elemento químico, conforme pode ser visto na Figura 19C.

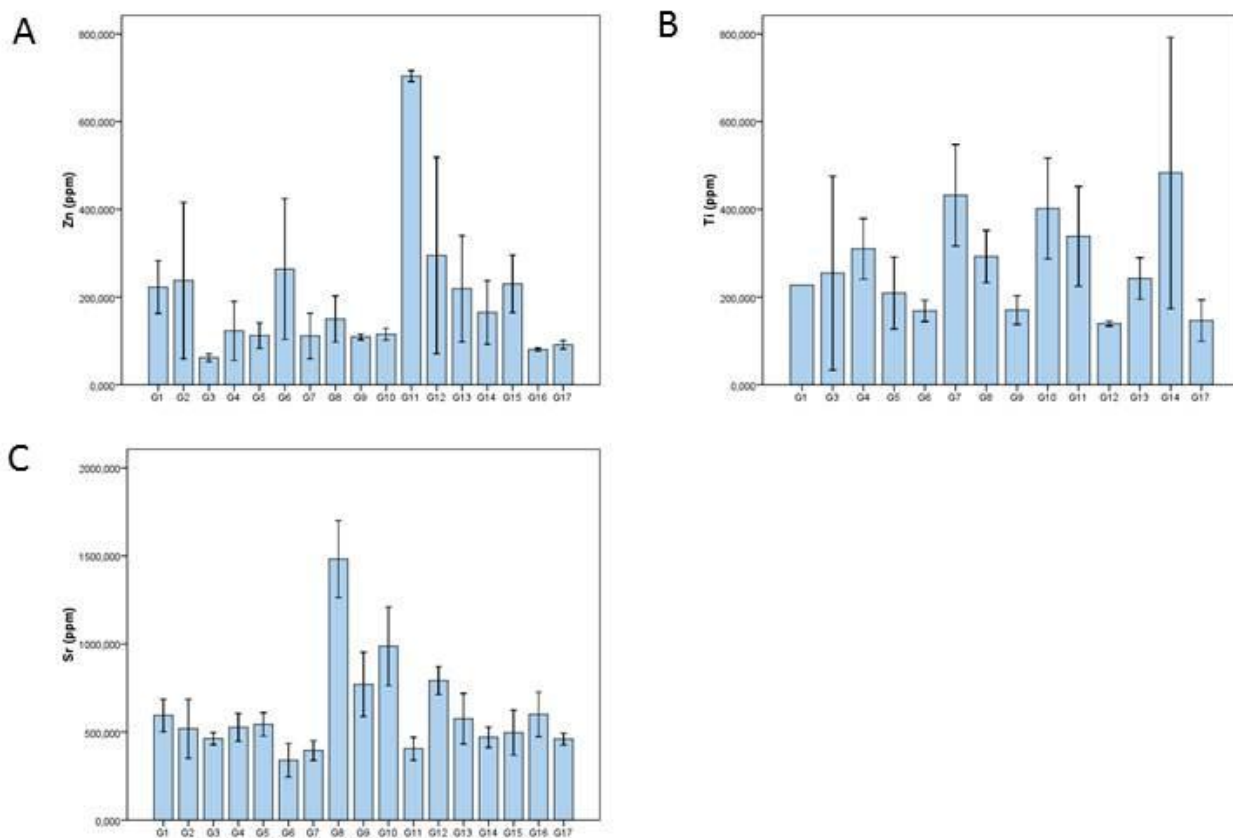


Figura 19: Gráficos representativos dos elementos químicos por LIBS. **A:** zinco; **B:** titânio; **C:** estrôncio.



Discussão

Para o tratamento de HD, vários métodos novos têm sido propostos e estão disponíveis no mercado nacional e internacional com a utilização de agentes dessensibilizantes de uso profissional e não profissional (ARNOLD et al., 2015). Entretanto, a eficácia desses produtos ainda é pouco investigada do ponto de vista experimental em sistemas *in vitro*, especialmente no que refere à ação de seus componentes químicos e a sua forma de promover a obliteração tubular. Nesse sentido, procurou-se estabelecer um paralelo entre a presença desses elementos nas superfícies

dos espécimes e sua influência sobre a obliteração dos canalículos e adesão de elementos sanguíneos. Em função dos resultados das análises, foram utilizadas, neste trabalho, diferentes técnicas analíticas, como EDS-X, LIBS e EDXRF, a fim de identificar e/ou quantificar os diferentes elementos químicos presentes nos agentes dessensibilizantes que permaneceram depositados nas superfícies radiculares dos espécimes.

Em função dos resultados obtidos na MEV, os grupos G6, G7 e G11, apresentaram características diferenciadas como heterogeneidade e dimensões variadas de partículas do material depositado sobre a superfície radicular. Este fato pode ser justificado pela aplicação única dos agentes. Isto possivelmente indicaria que, hipoteticamente, se houvesse a exposição contínua, ocorreria lenta deposição dos seus componentes, os quais terminariam por provocar a obliteração mecânica dos túbulos, resultando em uma superfície homogênea, com partículas de menor dimensão e mais compactas, como encontradas nos G9, G12, G16 e G17. Em 2012, PINTO et al. analisaram os efeitos da escovação com dentifrícios dessensibilizantes na permeabilidade e oclusão dos túbulos dentinários em incisivos bovinos. Os agentes dessensibilizantes utilizados diminuíram a permeabilidade da dentina, embora tenham produzido apenas fechamento parcial dos túbulos da dentinários.

A análise por MEV do G9 demonstrou uma superfície homogênea com partículas esparsas. Neste grupo está presente o fosfosilicato de cálcio, que é formado por sais pouco solúveis e que, portanto, não sofrem a ação do solvente, o que poderia ter favorecido a obliteração dos túbulos. Os compostos do dentifrício deste grupo podem,

ao entrar em contato e interagir com o ambiente aquoso, permitir a liberação de cálcio, sódio e fosfato por tempo prolongado (KAKODKAR et al., 2013). O fosfossilicato foi desenvolvido para ser utilizado na regeneração óssea e tem se mostrado eficaz no processo de oclusão tubular, através da formação de uma camada de hidroxiapatita semelhante a mineral (BURWELL et al., 2009).

O dessensibilizante fosfato de cálcio nanométrico (G12) apresentou na MEV características heterogêneas com presença de partículas com dimensões variadas e obliteração tubular. Este fato pode ser explicado pela sua composição. O fluoreto de sódio e a hidroxiapatita nanométrica atuam diretamente na oclusão tubular, enquanto o nitrato de potássio, pelo seu modo de ação, age por difusão ao longo dos túbulos dentinários, promovendo o bloqueio da função nervosa intradental (WEST, 2008).

A análise por MEV dos grupos G16 e G17, que contém fluoretos, demonstrou superfície mais homogênea e lisa em relação aos demais grupos. O mecanismo da ação dos fluoretos ainda é obscuro com relação ao tratamento da HD, porém na literatura é sugerido que sua ação é semelhante ao de outros agentes, cujo objetivo é bloquear a fluidez nos túbulos dentinários, por meio do aumento da mineralização de hidroxiapatita, com a consequente redução da sintomatologia dolorosa (NAUMOVA et al., 2010). SUMANGALI et al. (2011) relataram que seu mecanismo de ação está relacionado com a precipitação dos íons flúor que age mecanicamente bloqueando a transmissão de estímulos nos túbulos dentinários.

Neste estudo, foram empregados dentes bovinos. A literatura tem demonstrado que dentes bovinos podem ser usados para pesquisa em substituição aos dentes

humanos, pela sua similaridade tanto em dentina quanto em esmalte (DIAMANTI et al., 2011; LAURANCE-YOUNG et al., 2011; YASSEN et al., 2011; TSCHOPPE et al., 2011; SALOMÃO et al., 2014). Em 2001, SCHMALZ et al. observaram que a utilização da dentina bovina para pesquisa possui vantagens em relação à dentina humana pela facilidade de padronização e uniformização, além de menor variação estrutural.

SCHILKE et al. (2000) compararam o número e diâmetro dos túbulos dentinários de dentes humanos e bovinos por meio de investigação em MEV. Não foram encontradas diferenças significativas para o número de túbulos e diâmetro médio dos túbulos dentinários bovinos, porém a quantidade de túbulos é mais elevada do que na dentina humana. Observaram que as camadas coronais correspondentes de dentina sejam elas decíduas humanas ou molares permanentes, quando comparadas com incisivos centrais bovinos, não possuem diferença estatisticamente significativamente quanto ao número de túbulos por mm^2 e diâmetro tubular. Os autores sugeriram com estes resultados que a dentina bovina é um substituto adequado para a dentina de molares humanos.

Neste estudo, para exposição da dentina radicular, foi realizada raspagem e alisamento radicular (RAR) com curetas próximo à junção amelocementária até o nível médio da superfície radicular, utilizando para isso dentes incisivos bovinos.

A remoção do cimento na RAR é tida como injúria quando o tema é HD. Para PÉRET; COSTA (1999), o cimento é a estrutura que protege a dentina radicular na região cervical. Em pacientes periodontais seja pela instrumentação durante a RAR ou mesmo pela ação da escovação e de outros agentes traumatizantes, existe perda desta

estrutura protetora. Ocorre, assim, a exposição dos canalículos dentinários e dos prolongamentos dos odontoblastos que, quando excitados por estímulos químicos, tácteis ou osmóticos provocam a sensação dolorosa descrita na Teoria Hidrodinâmica. Tal fato foi reafirmado por SALLUM et al. (2008) e BERNARDO (2013) quando relataram que a remoção do cimento resulta em HD.

O processo de cicatrização após RAR não resulta na regeneração dos tecidos periodontais (cimento, ligamento periodontal e porção fasciculada do osso alveolar), mas sim em reparação do tipo epitélio juncional longo (EJL) sobre a superfície radicular (CATON et al., 1980; NYMAN et al., 1982; GARRET; BOGLE, 1993). Isto ocorre devido ao crescimento celular rápido do epitélio, o que impede a organização tecidual para obter a regeneração (GARRETT et al., 2000). Os resultados obtidos no G1 (RAR) deste estudo comprovam tal afirmação ao apresentarem fina rede de fibrina com presença de poucas células sanguíneas.

Neste estudo foi proposta a utilização de agente biomodificador EDTA 24% associado à RAR. Este biomodificador é utilizado frequentemente para remover debris após RAR, em casos de cirurgias mucogengivais e cirurgias periodontais regenerativas (LEITE et al., 2005; SAMPAIO et al., 2009; KARAM et al., 2015). Desta maneira, o uso de EDTA para biomodificação radicular está bem estabelecido na literatura e sua eficácia na abertura de túbulos na área cervical de dentes bovinos foi comprovada em nosso estudo pelas fotomicrografias com túbulos abertos e superfície lisa.

Entende-se que para obter resultados satisfatórios na cirurgia periodontal se faz necessária uma ligação da rede de fibrina e que haja fibras colágenas expostas

(POLSON; PROYE 1983). Esta afirmação demonstra novamente o uso da instrumentação por meio da RAR associada ao uso de biomodificadores para que seja obtido um bom prognóstico clínico (MARUYAMA et al., 2008; HAKKI et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2010).

No G2 foi aplicado o biomodificador EDTA após RAR, demonstrando uma densa rede de fibrina após a aplicação de sangue endovenoso, porém sem presença de células sanguíneas. Este achado corrobora com os resultados prévios descritos por LEITE et al. (2005), que relataram que o EDTA inibiu a adesão de elementos sanguíneos sobre a superfície dentinária, atribuindo à sua presença a possibilidade de remoção parcial deste na superfície ou mesmo que ele tenha atuado com agente quelante inibindo eventos posteriores de coagulação. Portanto o EDTA pode ser considerado uma substância de referência "padrão ouro" para a biomodificação radicular, porém ruim para formação ideal da rede fibrina.

O coágulo de trombina mediado pelo fibrinogênio é reversivelmente inibido por EDTA. BITHELL (1964) demonstrou que o efeito não é devido à remoção de íons metálicos, mas sim, resultado da alteração da estrutura molecular do fibrinogênio, o que foi posteriormente confirmado (BLOMBACK et al., 1966). NIEUWENHUIZEN et al. (1981) demonstraram que o citrato também se liga ao fibrinogênio e que ambos os quelantes de cálcio competem um com o outro para se ligar ao fibrinogênio. A rede de fibrina é inibida não somente pelo EDTA e citrato, mas também por vários compostos inorgânicos e compostos orgânicos ionizáveis. LATALLO et al. (1962) verificaram que alguns deles são utilizados para preparar soluções aquosas estáveis do monômero, e.g., brometo de

sódio, ácido acético e cloreto de guanidina. A dissociação da rede de fibrina pelos sais indica a importância das ligações iônicas para a manutenção da integridade da estrutura do coágulo (BUDZYNSKI; SHAINOFF, 1986).

A diferença entre o G1 (RAR) e G2 (RAR e EDTA) pode ser explicada por POLSON; PROYE (1983), ao utilizar ácido cítrico na superfície radicular em avaliação tardia da cicatrização. A migração celular do epitélio se deu apicalmente na superfície não tratada, enquanto na área tratada houve nova inserção conjuntiva, evitando a migração do EIJL. Tal fato foi justificado pela diferença entre a natureza da superfície radicular.

A sintomatologia dolorosa apresentada na HD necessita de tratamento eficaz, por isso, uma das etapas de nossos experimentos foi testar todos os tipos de tratamento conservadores disponíveis atualmente para uso profissional e não profissional. Pois após o uso prolongado destes agentes, em alguns casos não há resposta positiva ao tratamento. Nestes casos se faz necessária a intervenção por meio das inúmeras técnicas de cirurgia mucogengival, com o propósito de diminuir a extensão da recessão gengival, diminuir o nível clínico de inserção e aumentar a largura do tecido queratinizado (CHAMBRONE et al., 2008; SANTAMARIA et al., 2008; CHAMBRONE et al., 2010).

Entretanto outra discussão se faz necessária, pois ainda há pontos obscuros na literatura relacionando se o uso destes agentes após uso de biomodificador é favorável ou desfavorável à formação do coágulo sanguíneo, pois não se tem uma resposta concreta se estes agentes influenciam ou não a cicatrização e aderência do epitélio

juncional, à partir da formação de fibrina após tratamento periodontal básico ou mesmo em estágio precoce de cicatrização de enxerto conjuntivo (cirurgia mucogengival) se o paciente tiver necessidade cirúrgica de recobrimento radicular.

É importante observar que onde há células saudáveis do ligamento periodontal ou do cemento radicular na superfície que irá receber o tratamento regenerativo, essa população pode ser precursora de novas células após a terapia cirúrgica (STEINBERG; WILLEY, 1988). De acordo com POLSON; PROYE (1983), onde há ligamento periodontal remanescente na interface poderá haver também aderência da proteína plasmática pela inserção de plaquetas. Porém, quando há exposição radicular (recessão gengival) mediada pela HD, o padrão de cicatrização pode ser totalmente modificado, pois a estrutura precursora foi perdida. Portanto, o que ocorre em periodonto sadio ou com periodontite pode ou não ser válido em caso de recessão gengival com HD (STEINBERG; WILLEY, 1988).

Para que ocorra a regeneração de qualquer tecido, deve haver uma complexa interação entre os variados fenótipos celulares e seus mediadores sistêmicos como hormônios e fatores de crescimento presentes na matriz extracelular, onde estes eventos ocorrem (SAKALHOGLU et al., 2004).

Na primeira deposição de sangue sobre a superfície radicular, ocorre a formação de uma camada de proteínas, que irá variar em sua composição de acordo com o substrato presente na interface da superfície. Estas proteínas são importantes para grande número de processos biológicos que incluem adesão celular, coágulo sanguíneo, reações imunológicas, biocompatibilidade de polímeros sintéticos e cicatrização da

ferida. O fibrinogênio é um dos componentes primários deste filme de proteínas plasmáticas com quantidades variadas de globulinas, fibronectinas e fator de Von Willebrand (POLSON; PROYE, 1983; STEINBERG; WILLEY, 1988). Esta etapa pode ser claramente observada nos grupos G1 (RAR), G4 (arginina limonene), G5 (arginina dipenteno), G10 (cloreto estano) e G13 (MI Paste), onde as plaquetas devem ter sido as primeiras células a aparecer e, quando ativadas, liberaram fatores que não só contribuem para, mas iniciam o processo cicatricial (STEINBERG et al., 1986).

A formação da camada de proteínas é seguida pela adesão de plaquetas e fibrina em uma malha de fibrina que constitui a formação do trombo (STEINBERG; WILLEY, 1988). Muitos trabalhos têm sido desenvolvidos para investigar o efeito de diferentes espécies celulares no processo de formação da coagulação nos sistemas *in vitro*. Várias proteínas e íons têm sido avaliados nesses sistemas a fim de se determinar a extensão de sua influência sobre o processo de formação da rede de fibrina. Dentre as espécies identificadas como capazes de alterar as propriedades do coágulo, é possível citar: cálcio (HARDY et al., 1983; CARR et al., 1986), dextrana (DHALL et al., 1976; CARR; ALVING, 1995), albumina (WILF et al., 1985; GALANAKIS et al., 1987), colágeno (JONES; GABRIEL, 1988), homocisteína (LAURICELLA et al., 2002), aspirina (HE et al., 2001) e metformina (STANDEVEN et al., 2002; STANDEVEN et al., 2005).

A resposta tardia à inserção de plaquetas e formação de fibrinas será observada após estes eventos devido ao tipo de proteínas plasmáticas que são adsorvidas na superfície. Portanto a formação inicial do coágulo ocorre mais rapidamente na superfície que favorece esta sequência de eventos (SAKALHOGLU et al., 2004).

Deve ser destacado também que, aparentemente, fatores como pH, concentração de íons cálcio e cloreto, além de proteínas do plasma, dentre outros, exercem influência nas propriedades mecânicas e na estrutura da rede de fibrinas afetando a velocidade de várias etapas do processo de entrelaçamento da rede de fibrinas (CARR; HARDIN, 1987; CARR et al., 1986; DI STASIO et al., 1998; WEISEL; NAGASWAMI, 1992).

Os grupos G6 (citrato de zinco), G7 (triclosan), G9 (fosfosilicato de cálcio), G11 (citrato de potássio), G12 (dessensibilize Nano P), G16 (flúor gel neutro) e G17 (Duraphat) demonstraram uma densa rede de fibrina com aglomerados celulares, o que favorece o uso com segurança destes agentes dessensibilizantes quando se busca uma interação maior entre os tecidos gengivais e as superfícies tratadas.

Os agentes dessensibilizantes testados no G16 e G17 apresentam, como componente principal, o fluoreto de sódio, enquanto o G15, além de fluoreto de sódio, possui também fluoreto de cálcio. O flúor, o mais eletronegativo dos elementos, apresenta-se sob a forma de fluoretos de vários elementos (CHLUBEK, 2003). A ausência de formação de coágulo demonstrada no G15 (Duofluorid), por sua vez, pode ter ocorrido devido à natureza da adsorção de proteínas plasmáticas sanguíneas nas áreas onde estavam presentes fatores inibidores de coágulo ou ativadores de fibrinólise (SAKALHOGLU et al., 2004).

A toxicidade do flúor, sob a forma de fluoretos, está envolvida no aumento da produção de radicais livres de oxigênio, no aumento da peroxidação lipídica e no enfraquecimento dos mecanismos de defesa antioxidantes (VANI; REDDY, 2000). Os íons fluoreto são capazes ainda de afetar os tecidos moles, incluindo o sangue

(KARADENIZ; ALTINTAS, 2008), cérebro (SHASHI, 2003), e fígado (MITTAL; FLORA, 2006). Assim, é possível sugerir que a concentração mais alta desse íon no agente dessensibilizante correspondente ao G15 foi responsável pela ausência de rede de fibrinas e elementos sanguíneos na superfície radicular, conforme pode ser observado neste estudo. Por outro lado, os grupos 16 e 17, apresentaram superfícies recobertas por rede de fibrinas e células vermelhas e brancas. Convém salientar que a concentração de fluoreto nos respectivos agentes dessensibilizantes é seis vezes menor que o apresentado no G15.

O zinco age não somente como inibidor de metaloproteinases da matriz (MMPs), mas exerce influência na sinalização e estimula o efeito metabólico na mineralização de tecidos duros [HOPPE et al., 2011] e processos de remineralização [LYNCH et al., 2011]. Assim, seus efeitos o tornam atrativo para uso como agente terapêutico na engenharia de tecidos duros e moles. O zinco então é largamente utilizado em odontologia e tem sido testado experimentalmente como componente de adesivos dentinários, não somente pela sua capacidade de degradação de colágeno mediada pelas MMPs mas também na sua capacidade de induzir remineralização dentinária na interface entre o adesivo e o dente [TOLEDANO et al., 2013]. A dentina, portanto, apesar de ausência de células, participa ativamente no processo reparativo tecidual. A remineralização dentinária é dirigida pelo crescimento mineral com sítios de nucleação com fibrilas colágenas preservadas [BERTASSONI et al., 2010, 2011]. A dentina contém moléculas bioativas ligadas à matriz, enzimas e fatores de crescimento que podem ser liberadas e ativadas por diferentes mecanismos com o intuito de completar o processo reparativo

[SMITH et al., 2012]. Os materiais restauradores devem ser desenvolvidos para promover este processo de reparação por meio de uma interação definida e orientada com o tecido hospedeiro para que essas moléculas bioativas sejam liberadas na área (OSÓRIO et al., 2014). Este pensamento se aplica também no desenvolvimento de novos produtos para tratamento de HD utilizando o zinco em sua composição.

Em um trabalho proposto por CHEN et al. (2013), foi empregada cultura de células em suspensão com ou sem suplementação de $ZnCl_2$, verificando-se que o zinco estimulou a proliferação de células vermelhas imaturas. Entretanto, de acordo com os autores, esse efeito só foi observado na presença de transferrina obtida do soro de carpa com o qual o meio de cultura foi suplementado. O complexo zinco-transferrina interage com o receptor de transferrina, estimulando a proliferação de células vermelhas imaturas. Neste trabalho, nos G6 e G11 cujos agentes dessensibilizantes correspondentes contêm citrato de zinco, foi observada a formação de uma densa rede de fibrinas com entrelaçamento e grande quantidade de células vermelhas e brancas. A presença de zinco nesses agentes dessensibilizantes contribuiu para a obtenção desses resultados. Possivelmente isso ocorreu porque as principais proteínas envolvidas neste processo precisam da presença de zinco e de magnésio para a estabilidade das células e maior diâmetro das fibrinas do colágeno para promover a continuidade dos eventos posteriores (HERDENSON et al., 2016). O magnésio é capaz de influenciar Ca^{2+} intracelular, pois sua deficiência pode resultar em redução do crescimento ósseo e interferir nos processos de formação e remineralização óssea (FIELDING et al., 2014).

Considerando-se que a formação do coágulo sanguíneo é influenciada pelo pH e pela força iônica, DI STASIO et al. (1998) identificaram o papel dos íons cloreto como moduladores fisiológicos essenciais no processo de polimerização da rede de fibrinas, capazes de controlar o tamanho da fibra pela inibição da agregação lateral evitando, portanto, a formação de fibras espessas, retas e rígidas. Os íons cloreto foram identificados como os elementos mais importantes dentre aqueles que controlam o entrelaçamento da rede de fibrinas (VINDIGNI; DI CERA, 1996), especialmente quando se considera sua presença nos sistemas *in vivo*. Os íons cloreto estão presentes nos dentifrícios dos grupos G8 e G11. Neste último, o cloreto presente é o cloreto estanoso, cuja presença pode ter contribuído para os ótimos resultados observados na Figura 7A. No G8, por sua vez, o cloreto está presente como cloreto de estrôncio.

Sabe-se que cálcio e estrôncio são quimicamente similares e quando o cálcio é substituído por estrôncio, em excesso, não ocorre o processo de coagulação (VELLA; TRIPP, 1983). Desse modo, é possível sugerir que, no caso de G8 e G10, a presença de estrôncio pode ser, pelo menos parcialmente, responsável pela formação de rede de fibrinas delgada e poucas células sanguíneas (G10) e formação de aglomerados de células com rede de fibrinas em menor quantidade e mais delgadas (G8).

Os íons cálcio participam de praticamente todas as reações no processo de coagulação sanguínea, incluindo efeitos diretos sobre as enzimas proteolíticas, ligações das proteínas aos fosfolipídeos, agregação de plaquetas e associação e dissociação das subunidades das proteínas oligoméricas. O efeito acelerador do íon Ca^{2+} na velocidade de formação do coágulo de fibrina já foi estabelecido na literatura (BOYER et al., 1972).

Além disso, existe efeito de proteção do Ca^{2+} contra a desnaturação em função da temperatura e degradação proteolítica (LY; GONDAL, 1972). Assim, os íons desse metal afetam de algum modo a conformação da molécula de fibrinogênio e pode ser responsável pela formação de ligações não covalentes dos dímeros de fibrinogênio (MARGUERIE et al., 1977). Todos os grupos que contêm cálcio (G4, G5, G6, G8, G9, G12, G13, G14) em sua formulação, exceto o G15, apresentaram formação de rede de fibrinas com presença de elementos sanguíneos.

ROY et al. (2007) propuseram um experimento, no qual avaliaram o efeito de nanotubos biocompatíveis recobertos com TiO_2 sobre a cinética de formação do coágulo sanguíneo. Foram comparadas amostras de sangue total, amostras de sangue contendo os nanotubos revestidos de TiO_2 dispersos no meio e amostras de sangue em contato com nanotubos revestido de TiO_2 depositados sobre pedaços de gaze. Os dois últimos grupos apresentaram formação de rede de fibrinas significativamente mais densas e em menor tempo. Em experimentos similares utilizando nanopartículas de TiO_2 , foi verificada formação de redes de fibrinas mais delgadas e formadas em um intervalo de tempo mais longo (ROY et al., 2007). A redução da força da rede de fibrinas na presença de nanopartículas de TiO_2 pode ser devido à sua não biocompatibilidade com o sangue em sua estrutura em forma de cristal (MAITZ et al., 2003). Todos os grupos no intervalo de G3 a G17, exceto G12, possuem TiO_2 em sua composição. Desse modo, a presença desse composto pode ter contribuído para que os resultados obtidos não fossem tão bons em termos de formação da rede de fibrinas e elementos sanguíneos.

Os agentes dessensibilizantes testados neste estudo *in vitro* são utilizados rotineiramente na clínica odontológica e também indicados aos pacientes com sintomatologia dolorosa devido à HD. Porém, há poucos relatos na literatura em estudos randomizados quanto à sua eficácia na obliteração de túbulos dentinários em aplicação única ou aplicações sucessivas de modo comparativo. De acordo com a revisão sistemática realizada por SHARIF et al. (2013), agentes contendo arginina têm demonstrado eficácia no combate à HD, no entanto, estes achados são baseados em amostras de pequenas dimensões, com curto período de acompanhamento. Baseado neste fato se faz necessário maior número de estudos clínicos bem conduzidos, o que facilitaria uma meta-análise de toda a literatura a respeito de tratamentos para a HD. De acordo NEUHAUS et al. (2013) a aplicação única de dentifrícios fluoretado ou sem flúor contendo 15% NovaMin demonstrou ser efetiva na redução da HD por até 4 semanas. Tal fato enfatiza a necessidade de estudos posteriores para padronizar corretamente a quantidade de aplicações de cada agente dessensibilizante.

Na literatura, são escassos os estudos que avaliem o impacto de agentes dessensibilizantes empregados no tratamento da superfície radicular no período inicial de cicatrização após cirurgias mucogengivais. Além disso, a relação entre as características químicas dos agentes e o efeito promovido no processo de cicatrização ainda não foi elucidado. Dessa forma, estudos adicionais são necessários para definir protocolos de tratamento de HD previamente às cirurgias para recobrimento radicular.



Conclusão

Diante das metodologias empregadas e com base nos resultados obtidos foi possível concluir que, em única aplicação, os agentes foram capazes de obliterar os túbulos radiculares. Em relação a adesão dos elementos sanguíneos, os agentes dessensibilizantes de uso não profissional (citrato de zinco, triclosan, fosfosilicato de cálcio e cloreto estanoso) e profissional (dessensibilize Nano P, Flugel e Duraphat) apresentaram resposta favorável à formação de rede de fibrinas com elementos sanguíneos.



Referências Bibliográficas

ABBOTT, P. V.; YU, C. A clinical classification of the status of the pulp and the root canal system. **Aust. Dent. J.**, v. 52, n. 1, p. 17-31, 2007.

ADDY, M. Dentine hypersensitivity: new perspectives on an old problem. **Int. Dent. J.**, v. 52, n. 1, p. 367–375, 2002.

ADRIAENS, P. A.; DE BOEVER, J. A.; LOESCHE, W. J. Bacterial invasion in root cementum and radicular dentin of periodontal diseased teeth in humans. **J. Periodontol.**, v. 59, n. 4, p. 222-230, 1988.

ANDREASEN, J. O.; LAURIDSEN, E.; ANDREASEN, F. M. Contradictions in the treatment of traumatic dental injuries and ways to proceed in dental trauma research. **Dent. Traumatol.**, v. 26, n. 1, p. 16-22, 2010.

ARNOLD, W. H.; PRANGE, M.; NAUMOVA, E. A. Effectiveness of various toothpastes on dentine tubule occlusion. **J. Dent.**, v. 43, n. 4, p. 440-449, 2015.

AYAD, F.; AYAD, N.; ZHANG, Y. P.; DEVIZIO, W.; CUMMINS, D.; MATEO, L. R. Comparing the efficacy in reducing dentin hypersensitivity of a new toothpaste containing 8.0% arginine, calcium carbonate, and 1450 ppm fluoride to a commercial sensitive toothpaste containing 2% potassium ion: an eight-week clinical study on Canadian adults. **J. Clin. Dent.**, v. 20, n. 1, p. 10-16, 2009.

BAKER, P. J.; ROTCH, H. A.; TROMBELLI, L.; WIKESJO, U. M. E. An in vitro screening model to evaluate root conditioning protocols for periodontal regenerative procedures. **J. Periodontol.**, v. 71, n. 7, p. 1139-43, 2000.

BAKRY, A. S.; MARGHALANI, H. Y.; AMIN, O. A.; TAGAMI, J. The effect of a bioglass paste on enamel exposed to erosive challenge. **J. Dent.**, v. 42, n. 11, p. 1458-1463, 2014.

BERNARDO, L. P. Influência da raspagem e alisamento radicular na hipersensibilidade dentinária. **Braz. J. Periodontol.**, v. 23, n. 1, p. 32-38, 2013.

BERTASSONI, L. E.; HABELITZ, S.; MARSHALL, S. J.; MARSHALL, G. W. Mechanical recovery of dentin following remineralization in vitro: an indentation study. **J Biomech.**, v. 44, n. 1, p. 176-181, 2011.

BERTASSONI, L. E.; HABELITZ, S.; PUGACH, M.; SOARES, P. C.; MARSHALL, S. J.; MARSHALL, G. W. JR. Evaluation of surface structural and mechanical changes following remineralization of dentin. *Scanning.*, v. 32, n. 5, p. 312–319, 2010. BITHELL, T. C. A study of the inhibitory effect of ethylenediaminetetra-acetic acid on the thrombin–fibrinogen reaction. **Biochem. J.**, v. 93, n. 2, p. 431-439, 1964.

BRANNSTROM, M. The hidrodinamic theory of dentinal pain: sensationin preparations, caries and dentinal crack. **J. Endod.**, v. 12, n. 10, p. 453-457, 1986.

BLOMBÄCK, B.; BLOMBÄCK, M.; LAURENT, T. C.; PERTOFT, H. Effect of EDTA on fibrinogen. **Biochim. Biophys. Acta.**, v. 127, n. 2, p. 560-562, 1966.

BOYER, M. H.; SHAINOFF, J. R.; RATNOFF, O. D. Acceleration of fibrin polymerization by calcium ions. **Blood.**, v. 39, n. 3, p. 382–387, 1972.

BUDZYNSKI, A. Z.; SHAINOFF, J. R. Fibrinogen and fibrin: biochemistry and pathophysiology. **Crit. Rev. Oncol. Hematol.**, v. 6, n. 2, p. 97-146, 1986.

BURWELL, A.; JENNINGS, D.; GREENSPAN, D. C. NovaMin and dentin hypersensitivity--in vitro evidence of efficacy. **J Clin Dent.**, v. 21, n. 3, p. 66-71, 2009.

CARR JR, M. E.; ALVING, B. M. Effect of fibrin structure on plasminmediated dissolution of plasma clots. **Blood Coagul. Fibrin.**, v. 6, n. 6, p. 567-573, 1995.

CARR JR, M. E.; GABRIEL, D. A.; MCDONAGH, J. Influence of Ca²⁺ on the structure of reptilase-derived and thrombin-derived fibrin gels. **Biochem. J.**, v. 239, n. 3, p. 513-516, 1986.

CARR, M. E.; HARDIN, C. L. Fibrin has larger pores when formed in the presence of erythrocytes. **Am. J. Physiol.**, v. 253, n. 2, p. 1069-1073, 1987.

CATON, J.; NYMAN, S.; ZANDER, H. Histometric evaluation of periodontal surgery. 2. Connective tissue attachment levels after 4 regenerative procedures. **J. Clin. Periodontol.**, v. 7, n. 3, p. 224-231, 1980.

CATELAN, A.; GUEDES, A. P. A.; SANTOS, P. H. D. Erosão dental e suas implicações sobre a saúde bucal. **RFO.**, v. 15, n. 1, p. 83-86, 2010.

CHAMBRONE, L.; CHAMBRONE, D.; PUSTIGLIONI, F. E.; CHAMBRONE, L. A.; LIMA, L. A. Can subepithelial connective tissue grafts be considered the gold standard procedure in the treatment of Miller Class I and II recession-type defects? **J. Dent.**, v. 36, n. 9, p. 659-671, 2008.

CHAMBRONE, L.; SUKEKAVA, F.; ARAÚJO, M. G.; PUSTIGLIONI, F. E.; CHAMBRONE, L. A.; LIMA, L. A. Root-coverage procedures for the treatment of localized recession-type defects: a Cochrane systematic review. **J. Periodontol.**, v. 81, n. 4, p. 452-478, 2010.

CHEN, Y. H.; FANG, S. W.; JENG, S. S. Zinc transferrin stimulates red blood cell formation in the head kidney of common carp (*Cyprinus carpio*). **Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.**, v. 166, n. 1, p. 1-7, 2013.

CHLUBEK, D. Fluoride and oxidative stress. **Fluoride.**, v. 36, n. 1, p. 217-228, 2003.

CUMMINS, D. Dentin hypersensitivity: from diagnosis to a breakthrough therapy for everyday sensitivity relief. **J. Clin. Dent.**, v. 20, n. 1 p. 1-9, 2009.

DIAMANTI, I. In vitro evaluation of fluoride and calcium sodium phosphosilicate toothpastes, on root dentine caries lesions. **J. Dent.**, v. 39, n. 9, p. 619-628, 2011.

DI STASIO, E.; NAGASWAMI, C.; WEISEL, J. W.; DI CERA, E. Cl-regulates the structure of the fibrin clot. **Biophys. J.**, v. 75, n. 4, p. 1973-1979, 1998.

DHALL, T. Z.; BRYCE, W. A.; DHALL, D. P. Effects of dextran on the molecular structure and tensile behaviour of human fibrin. **Thromb. Haemost.**, v. 35, n. 3, p. 737-745, 1976.

DOS SANTOS, A. P. M.; PEREIRA, M. N.; LEITE, F. P. P.; DE OLIVEIRA, J. M.; CHAVES, M. D. A. M. Um sintoma preocupante: a hipersensibilidade dentinária. **Rev. Bras. Odontol.**, v. 67, n. 2, p. 242-246, 2010.

FIELDING, G. A.; SMOOT, W.; BOSE, S. Effects of SiO₂, SrO, MgO, and ZnO dopants in tricalcium phosphates on osteoblastic Runx2 expression. **J Biomed Mater Res A**, v. 102, n. 7, p. 2417-2426, 2014.

FRANKOVÁ, J.; PIVODOVÁ, V.; RŮŽIČKA, F.; TOMÁNKOVÁ, K.; ŠAFÁŘOVÁ, K.; VRBKOVÁ, J.; ULRICHOVÁ, J. Comparing biocompatibility of gingival fibroblasts and bacterial strains on a different modified titanium discs. **J Biomed Mater Res A**, v. 101, n. 10 p. 2915–2924, 2013.

GALANAKIS, D. K.; LANE, B. P.; SIMON, S. R. Albumin modulates lateral assembly of fibrin polymers: evidence of enhanced fine fibril formation and of unique synergism with fibrinogen. **Biochemistry**, v. 26, n. 8, p. 2389-2400, 1987.

GARRETT, S.; ADAMS, D. F.; BOGLE, G.; DONLY, K.; HASTINGS DRISKO, C.; HALLMON, W. W.; BRADY HANCOCK, E.; HANES, P.; HAWLEY, C.E.; JOHNSON, L.; KIGER, R. The effect of locally delivered controlled-release doxycycline or scaling and root planing on periodontal maintenance patients over 9 months. **J Periodontol.**, v. 71, n. 1, p. 22-30, 2000.

GARRET, S.; BOGLE, G. Periodontal regeneration: a review of flap management. **Periodontol.**, v. 1, n. 1, p. 100-108, 1993.

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

HAKKI, S. S.; KORKUSUZ, P.; BERK, G.; DUNDAR, N.; SAGLAM, M.; BOZKURT, B. Comparison of Er,Cr:YSGG laser and hand instrumentation on the attachment of periodontal ligament fibroblasts to periodontally diseased root surfaces: an *in vitro* study. **J. Periodontol.**, v. 81, n. 8, p. 1216-1225, 2010.

HÄMMERLE, C. H.; GIANNOBILE, W. V. Biology of soft tissue wound healing and regeneration—Consensus Report of Group 1 of the 10th European Workshop on Periodontology. **J. Clin. Periodontol.**, v. 41, n. 15, p. 1-5, 2014.

HARDY, J. J.; CARRELL, N. A.; MCDONAGH, J. Calcium ion functions in fibrinogen conversion to fibrin. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 408, n. 27, p. 279-287, 1983.

HE, S.; BLOMBACK, M.; YOO, G.; SINHA, R.; HENSCHEN-EDMAN, A. H. Modified clotting properties of fibrinogen in the presence of acetylsalicylic acid in a purified system. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 936, n. 35, p. 531-535, 2001.

HENDERSON, S. J.; XIA, J.; WU, H.; STAFFORD, A. R.; LESLIE, B. A.; FREDENBURGH, J. C.; WEITZ, D. A.; WEITZ, J. I. Zinc promotes clot stability by accelerating clot formation and modifying fibrin structure. **Thromb Haemost.**, v. 115, n. 2016, p.115, 2016.

- HOPPE, A.; GÜLDAL, N. S.; BOCCACCINI, A. R. A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. **Biomaterials.**, v. 32, n. 11, p. 2757–2774, 2011.
- JONES, M.; GABRIEL, D. A. Influence of the subendothelial basement membrane components on fibrin assembly. Evidence for a fibrin binding site on type IV collagen. **J. Biol. Chem.**, v. 263, n. 15, p. 7043-7048, 1988.
- KAKODKAR, G.; LAVANIA, A.; ATAIDE, I. N. An In vitro SEM study on the effect of bleaching gel enriched with NovaMin on whitening of teeth and dentinal tubule occlusion. **J Clin Diagn Res.**, v.7, n. 12, p. 3032, 2013.
- KARADENIZ, A.; ALTINTAS, L. Effects of panax ginseng on fluoride-induced haematological pattern changes in mice. **Fluoride.**, v. 41, n. 1, p. 67-76, 2008.
- KARAM, P. S. B. H.; SANT'ANA, A. C. P.; REZENDE, M. L. R.; GREGHI, S. L. A., DAMANTE, C. A.; ZANGRANDO, M. S. R. Root surface modifiers and subepithelial connective tissue graft for treatment of gingival recessions: a systematic review. **J. Periodontal Res.**, 2015, *in press*.
- KIM, D. M.; NEIVA, R. Periodontal soft tissue non–root coverage procedures: A systematic review from the AAP regeneration workshop. **J. Periodontol.**, v. 86, n. 2, p. 56-72, 2015.
- LATALLO, Z. S.; FLETCHER, A. P.; ALKJAERSIG, N.; SHERRY, S. Influence of pH, ionic strength, neutral ions, and thrombin on fibrin polymerization. **Am. J. Physiol.**, v. 202, n. 4, p. 675-680, 1962.

LAURANCE-YOUNG, P.; BOZEC, L.; GRACIA, L.; REES, G.; LIPPERT, F.; LYNCH, R. J. M.; KNOWLES, J. C. A review of the structure of human and bovine dental hard tissues and their physicochemical behaviour in relation to erosive challenge and remineralisation. **J. Dent.**, v. 39, n. 4, p. 266-272, 2011.

LAURICELLA, A. M.; QUINTANA, I. L.; KORDICH, L. C. Effects of homocysteine thiol group on fibrin networks: another possible mechanism of harm. **Thromb. Res.**, v. 107, n. 1-2, p. 75-79, 2002.

LEITE, F. R. M.; MOREIRA, C. S.; THEODORO, L. H.; SAMPAIO, J. E. C. Blood cell attachment to root surfaces treated with EDTA gel. **Braz. Oral Res.**, v. 19, n. 2, p. 88-92, 2005.

LOCHAIWATANA, Y.; POOLTHONG, S.; HIRATA, I.; OKAZAKI, M.; SWASDISON, S.; VONGSAVAN, N. The synthesis and characterization of a novel potassium chloride-fluoridated hydroxyapatite varnish for treating dentin hypersensitivity. **Dent. Materials J.**, v. 34, n. 1, p. 31-40, 2015.

LUSSI, A.; JAEGGI, T.; ZERO, D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. **Caries Res.**, v. 38, n. 1, p. 34-44, 2004.

LY, B.; GODAL, H. C. Denaturation of fibrinogen, the protective effect of calcium. **Pathophys. Haemostasis. Thrombosis.**, v. 1, n. 3-4, p. 204-209, 1972.

LYNCH, R. J.; CHURCHLEY, D.; BUTLER, A.; KEARNS, S.; THOMAS, G. V.; BADROCK, T. C.; COOPER, L.; HIGHAM, S. M. Effects of zinc and fluoride on the remineralisation of artificial carious lesions under simulated plaque fluid conditions. **Caries Res.**, v. 45, n. 3, p. 313-322, 2011.

MAGALHÃES, A. C.; MORON, B. M.; COMAR, L. P.; BUZALAF, M. A. R. Uso racional dos dentifrícios. **RGO.**, v. 59, n. 4, p. 615-625, 2011.

MAITZ, M. F.; PHAM, M. T.; WIESER, E.; TSYGANOV, I. Blood compatibility of titanium oxides with various crystal structure and element doping. **J. Biomater. Appl.**, v. 17, n. 4, p. 303-319, 2003.

MARGUERIE, G.; CHAGNIEL, G.; SUSCILLON, M. The binding of calcium to bovine fibrinogen. **Biochim. Biophys. Acta.**, v. 490, n. 1, p. 94-103, 1977.

MARÍN, C.; BOTTAN, E. R.; DEGOBI, B. L.; MAGNANI, N. Efetividade de duas pastas dessensibilizantes no controle da hipersensibilidade dentinária em pacientes com recessão gengival. **Odonto.**, v. 21, n. 41-42, p. 47-54, 2014.

MARUYAMA, H.; AOKI, A.; SASAKI, K. M.; TAKASAKI, A. A.; IWASAKI, K.; ICHINOSE, S. The effect of chemical and/or mechanical conditioning on the Er:YAG laser-treated root cementum: analysis of surface morphology and periodontal ligament fibroblast attachment. **Lasers Surg. Med.**, v. 40, n. 3, p. 211-222, 2008.

MATIAS, M. N. A.; LEÃO J. C.; MENEZES-FILHO, P. F.; SILVA, C. H. V. D. Hipersensibilidade dentinária: uma revisão de literatura. **Odontol. Clin. Cient.**, v. 9, n. 3, p. 205-208, 2010.

MIGLANI, S.; AGGARWAL, V.; AHUJA, B. Dentin hypersensitivity: Recent trends in management. **J. Conserv. Dent.**, v. 13, n. 4, p. 218-224, 2010.

MITTAL, M.; FLORA, S. J. S. Effects of individual and combined exposure to sodium arsenite and sodium fluoride on tissue oxidative stress, arsenic and fluoride levels in male mice. **Chem. Biol. Interact.**, v. 162, n. 2, p. 128-139, 2006.

MJOR, E. A.; SVEEN, O. B.; HEYERAAS, K. J. Pulp-dentine biology in restorative dentistry. Part 1: normal structure and physiology. **Quintessence Int.**, v. 32, n. 6, p. 427-446, 2001.

NAKAJIMA, M.; KUNAWAROTE, S.; PRASANSUTTIPORN, T.; TAGAMI, J. Bonding to caries-affected dentin. **Japan Dent. Sci. Rev.**, v. 10, n. 1, p. 10-16, 2011.

NAUMOVA, E. A.; GAENGLER, P.; ZIMMER, S.; ARNOLD, W. H. Influence of individual saliva secretion on fluoride bioavailability. **Open Dent J.**, v. 27, n. 4, p. 185-190, 2010.

NEUHAUS, K. W.; MILLEMAN, J. L.; MILLEMAN, K. R.; MONGIELLO, K. A.; SIMONTON, T. C.; CLARK, C. E.; PROSKIN, H. M.; SEEMANN, R. "Effectiveness of a calcium sodium phosphosilicate containing prophylaxis paste in reducing dentine hypersensitivity immediately and 4 weeks after a single application: a double-blind randomized controlled trial." **J Clin Periodontol.**, v. 40, n. 4, p. 349-357, 2013.

NEWMAN, M. G.; TAKEI, H. H.; KLOKKEVOLD, P. R.; FERMIN JUNIOR, A. C. **Carranza Periodontia Clínica**. Rio de Janeiro. Elsevier, 2012.

NIEUWENHUIZEN, W.; VERMOND, A.; HERMANS, J. Human fibrinogen binds EDTA and citrate. **Thromb. Res.**, v. 22, n. 5, p. 659-663, 1981.

NYMAN, S.; LINDHE, J.; KARRING, T.; RYLANDER, H. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. **J. Clin. Periodontol.**, v. 9, n. 4, p. 290-296, 1982.

OLIVEIRA, G. J.; THEODORO, L. H.; MARCANTONIO JUNIOR, E.; SAMPAIO, J. E.; MARCANTONIO, R. A. Effect of Er,Cr:YSGG and Er:YAG laser irradiation on the adhesion

of blood components on the root surface and on root morphology. **Braz. Oral Res.**, v. 26, n. 3, p. 256-62, 2012.

OLIVEIRA, G. J.; SAMPAIO, J. E.; MARCANTONIO, R. A. Effects of Er,Cr:YSGG laser irradiation on root surfaces for adhesion of blood components and morphology. **Photomed. Laser Surg.**, v. 28, n. 6, p. 51-56, 2010.

ORCHARDSON, R.; GILLAM, D. G. Managing dentin hypersensitivity. **J. Am. Dent. Assoc.**, v. 137, n. 7, p. 990-998, 2006.

OSORIO, R.; OSORIO, E.; CABELLO, I.; TOLEDANO, M. Zinc induces apatite and scholzite formation during dentin remineralization. **Caries Res.**, v. 48, n. 4, p. 276-290, 2014.

OZCELIK, O.; SEYDAOGLU, G.; HAYTAC, M. C. Prediction of root coverage for single recessions in anterior teeth: a 6-month study. **J. Clin. Periodontol.**, v. 42, n. 9, p. 860-867, 2015.

PEIXOTO, L. M.; DELEPRANE, B.; BATITUCCI, M. H. G.; SANGLARD, L.; PAZINATTO, F. B. Tratamento da hipersesibilidade dentinária cervical. **Rev. Bras. Pesq. Saúde.**, v. 12, n. 2, p. 69-74, 2010.

PÉRET, A. C. A.; COSTA, J. E. Recessão gengival-etilogia. **Rev. CROMG.**, v. 5, n. 2, p. 122-127, 1999.

PINTO, S. C. S.; SILVEIRA, C. M. M.; POCHAPSKI, M. T.; PILATT, G. L.; SANTOS, F. A. Effect of desensitizing toothpastes on dentin. **Brazilian oral research.**, v. 26, n. 5, p. 410-417, 2012.

POLSON, A. M.; PROYE, M. P. Fibrin linkage: a precursor for new attachment. **J. Periodontol.**, v. 54, n. 3, p. 141-147, 1983.

RÖSING, C. K.; GAIO, E. J. Tópicos especiais em periodontia: Diagnóstico e tratamento da hipersensibilidade dentinária. In: OPPERMANN, R. V.; RÖSING, C. K. **Periodontia Laboratorial e Clínica**. São Paulo: Artes Médicas, 2013 p. 117-127.

ROY, S. C.; PAULOSE, M.; GRIMES, C. A. The effect of TiO₂ nanotubes in the enhancement of blood clotting for the control of hemorrhage. **Biomaterials.**, v. 28, n. 31, p. 4667-4672, 2007.

SAKALLIOĞLU, U.; AÇIKGÖZ, G.; AYAS, B.; KIRTILOĞLU, T.; SAKALLIOĞLU, E. Healing of periodontal defects treated with enamel matrix proteins and root surface conditioning—an experimental study in dogs. **Biomaterials.**, v. 25, n. 10, p. 1831-1840, 2004.

SALLUM, A. W.; RÖSING, C. K.; LOTUFO, R. F. M. Guia pratico etiologia, diagnostico e manejo clinico da hipersensibilidade dentinária cervical. **Odontol.**, v. 1, n. 1, p. 1-28, 2008.

SALOMÃO, D. L. F.; SANTOS, D. M.; NOGUEIRA, R. D.; PALMA-DIBB, R. G.; GERALDO-MARTINS, V. R. Acid demineralization susceptibility of dental enamel submitted to different bleaching techniques and fluoridation regimens. **Oper. Dent.**, v. 39, n. 4, p. 178-185, 2014.

SAMPAIO, J. E. C.; FONTANARI, L. A.; PINTO, S. C. S.; CAVASSIM, R. Biomodificação radicular: uma revisão de literatura. **Periodont.**, v. 19, n. 4, p. 37-43, 2009.

SANTAMARIA, M. P.; SUAID, F. F.; CASATI, M. Z.; NOCITI JR, F. H.; SALLUM, A. W.; SALLUM, E. A. Coronally positioned flap plus resin-modified glass ionomer restoration for the treatment of gingival recession associated with non-carious cervical lesions: a randomized controlled clinical trial. **J. Periodontol.**, v. 79, n. 4, p. 621-628, 2008.

SCHILKE, R.; LISSON, J. A.; BAUSS, O.; GEURTSSEN, W. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. **Arch. Oral Biol.**, v. 45, n. 5, p. 355-361, 2000.

SCHMALZ, G.; HILLER, K. A.; NUNEZ, L. J.; STOLL, J.; WEIS, K. Permeability characteristics of bovine and human dentin under different pretreatment conditions. **J Endod.** v. 27, n. 1, p. 23-30, 2001.

SHARIF, M. O.; IRAM, S.; BRUNTON, P. A. Effectiveness of arginine-containing toothpastes in treating dentine hypersensitivity: A systematic review. **J. Dent.**, v. 41, n. 6, p. 483-92, 2013.

SHASHI, A. Histopathological investigation of fluoride-induced neurotoxicity in rabbits. **Fluoride.**, v. 36, n. 1, p. 95-105, 2003.

SILVA, M. F.; GINJEIRA, A. Hipersensibilidade dentinária: etiologia e prevenção. **Rev. Port. Estomatol. Med. Dent. Cir. Maxilofac.**, v. 52, n. 4, p. 217-224, 2011.

SILVA, R. M. **Estudo de uma metodologia para estimar a quantidade de carbono em amostras de solo utilizando espectroscopia de emissão óptica**

com plasma induzido por laser (LIBS). São Carlos, 2008, 45p. Dissertação (Mestrado), Universidade de São Paulo.

SMITH, A. J.; SCHEVEN, B. A.; TAKASHI, Y.; FERRACANE, J. L., SHELTON, R. M.; COOPER, P. R. Dentin as a bioactive extracellular matrix. **Arch Oral Biol.**, v. 57, n. 2, p. 109–121, 2012.

STANDEVEN, K. F.; ARIENS, R. A.; WHITAKER, P. The effect of dimethylbiguanide on thrombin activity, FXIII activation, fibrin polymerization, and fibrin clot formation. **Diabetes.**, v. 51, n. 1, p. 189-197, 2002.

STANDEVEN, K. F.; ARIËNS, R. A.; GRANT, P. J. The molecular physiology and pathology of fibrin structure/function. **Blood Rev.**, v. 19, n. 5, p. 275-288, 2005.

STEINBERG, A. D.; LEBRETON, G.; WILLEY, R; MUKHERJEE, S.; LIPOWSKI, J. Extravascular clot formation and platelet activation on variously treated root surfaces. **J. Periodontol.**, v. 57, n. 8, p. 516-522, 1986.

STEINBERG, A. D.; WILLEY, R. Scanning Electron Microscopy Observations of Initial Clot Formation on Treated Root Surfaces. **J. Periodontol.**, v. 59, n. 6, p. 403-411, 1988.

TAMMARO, S.; WENNSTROM, J. L.; BERGENHOLTZ, G. Root dentine sensitivity following non-surgical periodontal treatment. **J. Clin. Periodontol.**, v. 27, n. 9, p. 690-697, 2000.

SUMANGALI, A.; ANU, P. S.; ANAND, R.; ARUN, P. S. Dentine hypersensitivity -an enigma?. **Indian j. dent. adv.**, p. 659-668, 2011.

THEODORO, L. H.; SAMPAIO, J. E. C.; HAYPEK, P.; BACHMANN, L.; ZECELL, D. M.; GARCIA, V. G. Effect of Er:YAG and Diode lasers on the adhesion of blood components

and on the morphology of irradiated root surfaces. **Journal of Periodontal Research.** v. 41, p. 381–390, 2006.

TOLEDANO, M., SAURO, A.; CABELLO, I.; WATSON, T. F.; OSORIO, R. A Zn-doped etch-and-rinse adhesive may improve the mechanical properties and the integrity at the bonded-dentin interface. **Dent Mater.**, v. 29, n. 8, p. 142–152, 2013.

TONETTI, M. S.; JEPSEN, S. Clinical efficacy of periodontal plastic surgery procedures: Consensus Report of Group 2 of the 10th European Workshop on Periodontology. **J. Clin. Periodontol.**, v. 41, n. 15, p. 36-43, 2014.

TSCHOPPE, P.; ZANDIM, D. L.; MARTUS, P.; KIELBASSA, A. M. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. **J. Dent.**, v. 39, n. 6, p. 430-437, 2011.

VANI, M. L.; REDDY, K. P. Effects of fluoride accumulation on some enzymes of brain and gastrocnemius muscle of mice. **Fluoride.**, v. 33, n. 2, p. 17-26, 2000.

VELLA, F. A.; TRIPP, M. R. Strontium chloride inhibition of clotting in blue crab hemolymph. **J. Invert. Pathol.**, v. 8, n. 3, p. 400-410, 1983.

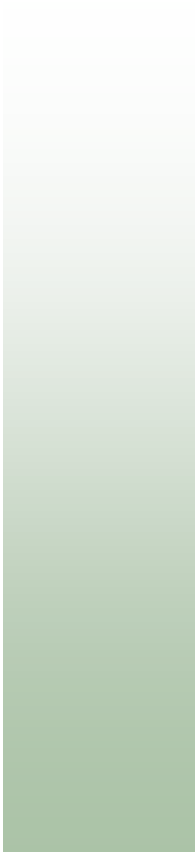
VINDIGNI, A.; DI CERA, E. Release of fibrinopeptides by the slow and fast forms of thrombin. **Biochemistry.**, v. 35, n. 14, p. 4417-4426, 1996.

WEISEL, J. W.; NAGASWAMI, C.; VILAIRE, G.; BENNETT, J. S. Examination of the platelet membrane glycoprotein IIb-IIIa complex and its interaction with fibrinogen and other ligands by electron microscopy. **J. Biol. Chem.**, v. 267, n. 1, p. 16637-16643, 1992.

WEST, N. X. Dentine hypersensitivity: preventive and therapeutic approaches to treatment. **Periodontol 2000.**, v. 48, n. 1, p.31-41. 2008.

WILF, J.; GLADNER, J. A.; MINTON, A. P. Acceleration of fibrin gel formation by unrelated proteins. **Thromb Res.**, v. 37, n. 6, p. 681-688, 1985.

YASSEN, G. H.,JEFFREY A. P.; HARA, A. T. Bovine teeth as substitute for human teeth in dental research: a review of literature. **J Oral Sci.** v. 53, n. 3, p. 273-282, 2011.



Anexos



DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

- DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise da obliteração dentinária por agentes dessensibilizantes e remineralizantes nas propriedades adesivas e morfológicas de elementos sanguíneos na superfície radicular.

Pesquisador Responsável: Carlos Eduardo Saraiva Miranda

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 38987614.8.0000.5498

Submetido em: 15/11/2014


Instituição Proponente: Universidade de Ribeirão Preto UNAERP

Situação da Versão do Projeto: Aprovado

Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio



Comprovante de Recepção:  PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_430314

- DOCUMENTOS DO PROJETO DE PESQUISA

- ▼ Versão Atual Aprovada (PO) - Versão 1
 - ▼ Projeto Original (PO) - Versão 1
 - ▶ Currículo dos Assistentes
 - ▼ Documentos do Projeto
 - ▶ Declaração de Pesquisadores - Submis
 - ▶ Folha de Rosto - Submissão 1
 - ▶ Informações Básicas do Projeto - Subm
 - ▶ Outros - Submissão 1
 - ▶ Projeto Detalhado / Brochura Investigad
 - ▶ TCLE / Termos de Assentimento / Justifi
 - ▶ Apreciação 1 - Universidade de Ribeirão Pr
 - ▶ Projeto Completo

Tipo de Documento	Situação	Arquivo	Postagem	Ações
-------------------	----------	---------	----------	-------

- LISTA DE APRECIÇÕES DO PROJETO

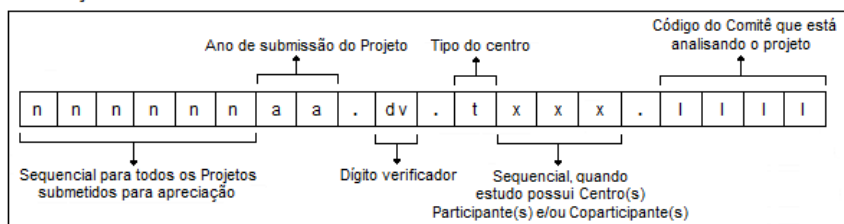
Apreciação	Pesquisador Responsável	Versão	Submissão	Modificação	Situação	Exclusiva do Centro Coord.	Ações
PO	Carlos Eduardo Saraiva Miranda	1	15/11/2014	31/12/2014	Aprovado	Não	   

- HISTÓRICO DE TRÂMITES

Apreciação	Data/Hora	Tipo Trâmite	Versão	Perfil	Origem	Destino	Informações
PO	31/12/2014 19:43:33	Parecer liberado			Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP		Aprovado de acordo com a Resolução 466/12 do CNS.
PO	31/12/2014 19:43:09	Parecer do colegiado emitido			Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP	Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP	
PO	10/12/2014 16:01:46	Parecer do relator emitido			Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP	Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP	
PO	10/12/2014 15:40:15	Aceitação de Elaboração de Relatoria			Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP	Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP	
PO	30/11/2014 11:07:06	Confirmação de Indicação de Relatoria			Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP	Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP	
PO	24/11/2014 11:42:06	Indicação de Relatoria			Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP	Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP	
PO	24/11/2014 11:14:13	Aceitação do PP			Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP	Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP	
PO	16/11/2014 01:53:30	Submetido para avaliação do CEP			Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP	Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP	

LEGENDA:**(*) Apreciação**

PO = Projeto Original de Centro Coordenador	POp = Projeto Original de Centro Participante	POc = Projeto Original de Centro Coparticipante
E = Emenda de Centro Coordenador	Ep = Emenda de Centro Participante	Ec = Emenda de Centro Coparticipante
N = Notificação de Centro Coordenador	Np = Notificação de Centro Participante	

(*) Formação do CAAE
[Voltar](#)

Este sistema foi desenvolvido para os navegadores Internet Explorer (versão 7 ou superior),
ou Mozilla Firefox (versão 9 ou superior).

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO – UNAERP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____,
RG: _____, CPF: _____, assino este Termo de Consentimento com a finalidade de autorizar a minha participação na pesquisa “Análise da obliteração dentinária por agentes dessensibilizantes e remineralizantes nas propriedades adesivas e morfológicas de elementos sanguíneos na superfície radicular.”, sob a responsabilidade da Prof. Dr. Carlos Eduardo Saraiva Miranda, pois foram dadas a mim todas as informações necessárias para que eu possa tomar esta decisão, sendo que estou ciente que:

1) Esta pesquisa vai ser desenvolvida para que possa ser analisada a quantidade de células sanguíneas que ficarão sobre os diferentes tipos de agentes químicos utilizados rotineiramente para tratamento de sensibilidade dentária. Isso será muito útil para saber se algum destes materiais tem alguma interferência na saúde da gengiva de pessoas que utilizam estes cremes dentais.

2) Será retirado no máximo 20 ml de sangue do meu braço, em dois dias diferentes para que eu não sinta nenhuma dor ou consequência negativa deste procedimento.

3) Os riscos que podem existir são os riscos que as pessoas que se submetem a exames de sangue estão sujeitas.

4) Foi garantido a mim acompanhamento clínico se acaso for necessário.

5) Foi garantido a mim, também, que qualquer dano à minha saúde, que seja decorrente da minha participação nesta pesquisa, será reparado sem que eu necessite fazer qualquer despesa.

6) Qualquer dado que possa ser publicado posteriormente em revistas científicas, não revelará a minha identidade. Entretanto, órgãos governamentais ligados à saúde podem solicitar informações a respeito da pesquisa e identidade dos voluntários nela envolvidos.

7) Os pesquisadores se comprometem a prestar assistência integral no decorrer da pesquisa. Qualquer questão a respeito do estudo ou de minha saúde deve ser dirigida ao Dr. Carlos Eduardo Saraiva Miranda (telefone: **16-981786970**), professor da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da UNAERP.

8) Tenho liberdade de me recusar a participar ou retirar o meu consentimento em qualquer momento, sem que eu sofra penalizações e sem prejuízo ao meu atendimento.

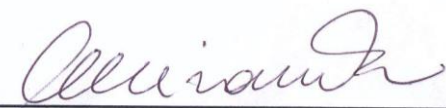
9) Foi garantido a mim que os dados que revelei serão mantidos em segredo, assegurando minha privacidade.

10) Receberei uma cópia desse Termo de Consentimento.

Declaro, ainda, que concordo inteiramente com as condições que me foram apresentadas e que, livremente, manifesto a minha vontade de participar desta pesquisa.

Ribeirão Preto, ____ de _____ de 20__.

Assinatura do voluntário ou responsável



Pesquisador Responsável
Prof. Dr. Carlos Eduardo Saraiva
Miranda

C.P.F: 383.533.503 - 00



Apêndice

Tabela I. Fórmula química dos dessensibilizantes de uso profissional e não profissional, de acordo com o fabricante do produto.

Grupos	Produto (Fabricante)	Composição química
G3	Colgate® Sensitive original [Citrato de potássio] (Colgate-Palmolive Indústria e Comércio LTDA, São Bernardo do Campo/SP, Brasil) LOTE: 4025BR1236	Citrato de potássio 5,04%, monofluorofosfato de sódio 1,1% (1450 ppm de flúor), água, glicerina, sílica hidratada, citrato de potássio, PEG-12, laurilsulfato de sódio, monofluorofosfato de sódio, sabor, goma de celulosa, sacarina sódica, goma xantán, dióxido de titânio (CI 77891), FD&C azul nº 1 (CI 42090), eugenol.
G4	Colgate® Sensitive Pró-Alívio™ (fórmula Pró-Argin™) [Arginina limonene] (Colgate-Palmolive Indústria e Comércio LTDA, São Bernardo do Campo/SP, Brasil) LOTE: 3242BR121C	Arginina 8%, monofluorofosfato de sódio 1,1% (1450 ppm de flúor), carbonato de cálcio, água, sorbitol, bicarbonato de arginina, laurilsulfato de sódio, monofluorofosfato de sódio, sabor, goma de celulosa, bicarbonato de sódio, acesulfame de potássio, silicato de sódio, goma xantán, sucralosa, dióxido de titânio (CI 77891), limonene.

Grupos	Produto (Fabricante)	Composição química
G5	Colgate® Sensitive Pró-Alívio™ Multiproteção (fórmula Pró-Argin™) [Arginina dipenteno] (Colgate-Palmolive Indústria e Comércio LTDA, São Bernardo do Campo/SP, Brasil) LOTE: 4009BR122C	Arginina 8%, monofluorofosfato de sódio 1,1% (1450 ppm de flúor), carbonato de cálcio, água, sorbitol, bicarbonato de arginina, laurilsulfato de sódio, sabor, goma de celulosa, bicarbonato de sódio, pirofosfatotetrasódico, sacarina sódica, álcool bencílico, goma xantán, dióxido de titânio (Cl 77891), dipenteno.
G6	Colgate® Sensitive Multiproteção [Citrato de zinco] (Colgate-Palmolive Indústria e Comércio LTDA, São Bernardo do Campo/SP, Brasil) LOTE: 4073BR122G	Citrato de potássio 5,04%, monofluorofosfato de sódio 1,1% (1450 ppm de flúor), citrato de zinco 2, água, sorbitol, sílica hidratada, glicerina, citrato de potássio, PEG-12, pirofosfato de tetrapotássio, citrato de zinco, copolímero PVM/MA, laurilsulfato de sódio, sabor, hidróxido de potássio, goma de celulosa, sacarina sódica, goma xantán, dióxido de titânio (Cl 77891), polietileno, carbonato de cálcio, Cl 16255, roxo ácido 18. Cl 19140, D&C amarilonº 5, laca de alumínio, Cl 45410, limonene, dipenteno, eugenol.

Grupos	Produto (Fabricante)	Composição química
G7	Colgate® total 12 Sensitive [Triclosan] (Colgate-Palmolive Indústria e Comércio LTDA, São Bernardo do Campo/SP, Brasil) LOTE: 4023BR121D	Fluoreto de sódio 0,32% (1450 ppm de flúor), triclosan 0,3%, água, sílica hidratada, glicerina, sorbitol, copolímero PVM/MA, laurilsulfato de sódio, sabor, goma de celulosa, hidróxido de sódio, propilenoglicol, carragenina, fluoreto de sódio, triclosan, sacarina sódica, dióxido de titânio (Cl 77891).
G8	Sensodyne® original [Cloreto de estrôncio] (GlaxoSmithKline Ltda. Rio de Janeiro/ RJ, Brasil) LOTE: SM0087V	Cloreto de estrôncio 10%, água, glicerina, esteatato PEG-40, aroma, metilparabeno, propilparabeno, sacarina sódica, dióxido de titânio (Cl 77891), sílica, sorbitol, carbonato de cálcio, hidroxyethylcelulose, taurato de sódio N-metil-N-cocoyl, metil salicilato, Cl 45410, d-limonene, cinnamal.
G9	Sensodyne® Repair & Protect (Novamin) [Fosfosilicato de cálcio] (GlaxoSmithKline Ltda. Rio de Janeiro/ RJ, Brasil) LOTE: 483GL1	Monofluorofosfato de sódio 1,1% (1450 ppm de flúor), fosfosilicato de sódio cálcio 5% (Novamin), sílica hidratada, glicerina, PEG-8, laurilsulfato de sódio, sabor, dióxido de titânio (Cl 77891), polietileno, carbonato de cálcio, acesulfame de potássio, limonene.

Grupos	Produto (Fabricante)	Composição química
G10	Sensodyne® Rápido Alívio & Proteção Duradora [acetato de estrôncio] (GlaxoSmithKline Ltda. Rio de Janeiro/ RJ, Brasil) LOTE: SR0089V	Acetato de estrôncio 8%, fluoreto de sódio 0,23%, água, sorbitol, sílica hidratada, glicerina, sódio metil cocoilaurate, goma xantana, dióxido de titânio, sabor, sacarina sódica, propilparabeno de sódio, metilparabeno de sódio, limonene.
G11	Oral-B® Pró-Saúde Clinical Protection Sensitive [Cloreto estano]s (Procter & Gamble do Brasil, São Paulo, SP, Brasil) LOTE: 215749	Fluoreto de sódio (1450 ppm de flúor), água, sorbitol, sílica, gluconato de sódio, laurilsulfato de sódio, goma celulosa, sabor, cloreto estano, carrageenan, citrato de zinco, dióxido de titânio (Cl 77891), hidroxyetilcelulose, hidróxido de sódio, ácido phytic, sacarina sódica.
G12	Dessensibilize Nano P (FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil) LOTE: 231013	Fosfato de cálcio manométrico (na forma de hidroxiapatita), fluoreto de sódio, nitrato de potássio, água destilada, espessante, tensoativo, umectante, aroma, adoçante, conservante.

Grupos	Produto (Fabricante)	Composição química
G13	<p>CPP-ACP</p> <p>MI Paste™</p> <p>(GC Corporation, Tokyo, Japan)</p> <p>LOTE: 130704T</p>	<p>Complexo de caseína fosfopeptideo (CPP) e fosfato de cálcio amorfo (ACP), água pura, glicerol, d-sorbitol, CMC-Na, propilenoglicol, dióxido de silício, dióxido de titânio, xilitol, ácido fosfórico, fluoreto de sódio, aromatizante, sacarina de sódio, acetato de p-hidroxibenzoato, propilo p-hidroxibenzoato, propilo p-hidroxibenzoato de metilo, butil p-hidroxibenzoato.</p>
G14	<p>CPP-ACP com flúor</p> <p>MI Paste Plus™</p> <p>(GC Corporation, Tokyo, Japan)</p> <p>LOTE: 1104205</p>	<p>Complexo de caseína fosfopeptídeo (CPP) e fosfato de cálcio amorfo (ACP), água pura, glicerol, CPP-ACP, d-sorbitol, CMC-Na, propilenoglicol, dióxido de silício, dióxido de titânio, xilitol, ácido fosfórico, fluoreto de sódio, aromatizante, sacarina de sódio, acetato de p-hidroxibenzoato, propilo p-hidroxibenzoato de metilo, butil p-hidroxibenzoato.</p>
G15	<p>Verniz fluoretado com 6% Fluoreto de sódio com 6% de Fluoreto de cálcio</p> <p>Duofluorid</p> <p>(FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil)</p> <p>LOTE: 170414</p>	<p>Fluoreto de sódio a 6%, fluoreto de cálcio a 6%, resinas sintéticas e naturais, aromatizante, adoçante artificial, solvente.</p>

Grupos	Produto (Fabricante)	Composição química
G16	Flúor gel neutro Flugel (DFL, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) LOTE: 14121910	Fluoreto de sódio 2%, sacarina sódica, propilenoglicol, metilparabeno, corante, flavorizante, excipiente, água purificada.
G17	Verniz fluoretado com 22.600 ppm de flúor Duraphat (Wolm e Pharma Co., Eschwege, Germany) LOTE: 0613-01	Fluoreto de sódio, colofônia, álcool etílico, goma-laca, mástica, sacarina, aroma, cera branca de abelha.

Tabela II. Análise por comparação em EDS-X da concentração de elementos químicos na superfície dental tratada com agentes dessensibilizantes e remineralizantes (percentual atômico %) em cada grupo experimental (n=5).

	C	O	Na	Mg	Al	P	S	Ca	Yb	Zn	W	Ir	Si	Mo	Cl	N	Sr	Ti	Br	F	Total	
G1	1	20,37	37,34	0,41	0,69	0,12	11,48	0,1	27,06	x	0,17	0,28	1,97	x	x	x	x	x	x	x	x	100
	2	24,11	36,33	0,51	0,72	x	11,1	0,11	24,89	0,3	x	0,31	1,62	x	x	x	x	x	x	x	x	100
	3	21,59	39,62	0,46	0,81	x	12,42	0,15	24,95	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	100
	4	19,19	39,47	0,46	0,79	x	13,24	0,1	26,75	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	100
	5	20,73	38,73	0,31	0,91	x	12,87	x	25,81	0,48	0,16	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	100
	C	O	Na	Mg	Al	P	S	Ca	Yb	Zn	W	Ir	Si	Mo	Cl	N	Sr	Ti	Br	F	Total	
G2	1	42,27	31,77	0,31	0,67	x	8,55	x	16,44	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	100
	2	44,76	25,26	0,17	0,48	0,1	8,29	0,11	18,67	0,24	x	0,21	1,71	x	x	x	x	x	x	x	x	100
	3	41,5	27,75	0,24	0,56	0,4	8,54	0,11	19,42	x	x	0,17	1,32	x	x	x	x	x	x	x	x	100
	4	54,95	24,68	0,18	0,33	x	6,6	0,12	13,15	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	100
	5	49,09	23,35	0,21	0,5	x	7,38	0,12	17,78	x	x	0,26	1,31	x	x	x	x	x	x	x	x	100
	C	O	Na	Mg	Al	P	S	Ca	Yb	Zn	W	Ir	Si	Mo	Cl	N	Sr	Ti	Br	F	Total	
G3	1	50,19	23,92	0,16	0,33	0,13	6,49	0,15	17,52	x	x	0,82	0,3	x	x	x	x	x	x	x	x	100
	2	43,11	26,35	0,25	0,59	x	8,84	0,1	19,34	x	x	1,42	x	x	x	x	x	x	x	x	x	100
	3	42,82	28,23	0,23	0,65	x	9,21	0,12	18,75	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	100
	4	51,1	28,81	0,2	0,42	0,1	5,93	0,17	12,11	x	x	0,78	0,37	x	x	x	x	x	x	x	x	100
	5	49,97	24,26	0,19	0,46	x	7,36	0,11	16,49	x	x	1,15	0,1	x	x	x	x	x	x	x	x	100
	C	O	Na	Mg	Al	P	S	Ca	Yb	Zn	W	Ir	Si	Mo	Cl	N	Sr	Ti	Br	F	Total	
G4	1	46,26	27,83	0,18	0,41	x	7,39	x	17,52	x	x	x	x	0,41	x	x	x	x	x	x	x	100
	2	43,21	26,97	x	0,34	x	7,74	0,15	21,6	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	100
	3	49,04	28,05	0,14	0,31	x	6,94	0,15	15,2	0,18	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	100
	4	47,04	26,75	0,19	0,29	0,08	6,29	0,14	17,87	0,23	x	x	0,99	0,08	x	0,05	x	x	x	x	x	100
	5	38,44	26,79	0,21	0,46	x	7	0,1	13,35	x	x	x	x	x	x	13,65	x	x	x	x	x	100
	C	O	Na	Mg	Al	P	S	Ca	Yb	Zn	W	Ir	Si	Mo	Cl	N	Sr	Ti	Br	F	Total	
G5	1	39,55	31,1	0,35	0,53	x	9,33	x	18,76	0,22	x	x	0,15	x	x	x	x	x	x	x	x	100
	2	45,08	28,46	0,18	0,48	x	7,88	x	16,75	0,21	0,13	x	x	0,48	0,35	x	x	x	x	x	x	100
	3	45,07	29,17	0,31	0,66	x	8,22	0,11	16,12	x	x	x	0,34	x	x	x	x	x	x	x	x	100
	4	37,3	26,41	0,23	0,5	x	7,01	0,07	14,26	x	0,09	x	0,92	0,13	x	x	13,08	x	x	x	x	100
	5	46,07	26,83	0,19	0,53	x	8,56	x	17,41	x	0,08	x	x	x	0,33	x	x	x	x	x	x	100

