

Avaliação da Eficácia do nanoXIM CarePaste na oclusão dos túbulos dentinários

Congresso da Ordem dos Médicos Dentistas, Matosinhos (Portugal), 6-8 Novembro 2014; Língua: Português

Prof. Doutor João Ferreira (Faculdade de Medicina Dentária, Universidade do Porto). Morada: Rua Dr. Manuel Pereira da Silva, S/N, 4200 – 393 Porto, Portugal; Tel: +351 220 901 100 e-Mail: jcferrera@fmd.up.pt

Prof. Doutora Pires, Patrícia (Faculdade de Medicina Dentária, Universidade do Porto); Dr. Almeida, Carlos (Faculdade de Medicina Dentária, Universidade do Porto); Dr.ª. Jerónimo, Sofia (Faculdade de Medicina Dentária, Universidade do Porto); Prof. Doutor Melo, Paulo (Faculdade de Medicina Dentária, Universidade do Porto)

Resumo

Palavras-Chave: Hipersensibilidade dentinária, Oclusão de Túbulos Dentinários, Hidroxiapatite, Dentina, Microscopia Electrónica de Varrimento, Dentífrico Dessensibilizante

Introdução: A hipersensibilidade dentinária derivada de raízes expostas tem uma elevada prevalência. Ocluindo os túbulos dentinários expostos consegue-se um alívio da mesma, evitando deslocamentos de fluido intratubularmente.

Objetivos: Avaliar qual dos diferentes métodos de preparação de amostras expostas à solução nanoXIM 9% origina melhor qualidade de microfotografias de Microscópio Electrónico de Varrimento (SEM) preservando a hidroxiapatite da solução nanoXIM no lúmen dos túbulos dentinários.

Materiais e Métodos: Seis espécimes de dentina foram recolhidos a partir de dentes humanos e mergulhados em solução dentífrica nanoXIM a 9% durante 5 dias. Estes receberam três tratamentos diferentes: adicionou-se um selante de superfície à superfície dentinária a observar a 2 dos espécimes (Grupo A - "EasyGlaze"), verniz das unhas (Grupo B - "Com Verniz") a 2 dos espécimes e nos restantes 2 nada foi utilizado para recobrir a superfície (Grupo C - "Sem Nada"). Os espécimes foram observados em Microscópio Electrónico de Varrimento (SEM).

Resultados: O grupo C foi o único onde foi possível observar túbulos dentinários obliterados com a solução nanoXIM. No grupo A, a resina hirofóbica formou prolongamentos que revestiram a dentina, dificultando a observação no SEM. O grupo B originou uma camada amorfa que impossibilitou uma correcta visualização da dentina.

Conclusões: No grupo C obtiveram-se os resultados pretendidos. A solução nanoXIM 9% parece ser eficaz na oclusão tubular.

Implicações Clínicas: Ocluindo os túbulos dentinários, a solução com hidroxiapatite poderá ser eficaz na diminuição da hipersensibilidade dentinária.

Introdução

A hipersensibilidade dentinária devido a raízes expostas tem uma elevada prevalência. À medida que a recessão gengival vai ocorrendo, o cimento inicialmente cobre e protege os túbulos dentinários, mas é gradualmente removido pela escovagem, erosão ácida, etc, deixando os túbulos abertos e expostos. Devido ao facto destes túbulos preenchidos com fluido estarem em contacto directo com as terminações nervosas da polpa, os estímulos exógenos são rapidamente transmitidos e ocorre a despolarização dos nervos, levando à sensação de dor aguda, bem localizada. Ocluindo os túbulos dentinários expostos é possível obter um alívio da mesma uma vez que se evita o deslocamento do fluido intratubular.

Objectivos

Avaliar qual dos diferentes métodos de preparação de amostras expostas à solução nanoXIM 9% origina melhor qualidade de microfotografias de Microscópio Electrónico de Varrimento (SEM) preservando a hidroxiapatite da solução nanoXIM no lúmen dos túbulos dentinários.

Materiais e Métodos

Foram utilizados 6 dentes molares humanos (2 dentes por grupo), não cariados, previamente extraídos por razões periodontais ou ortodónticas (N=6). Apenas foram seleccionados dentes sem danos visíveis, má-formações ou sinais de desmineralização. Após a extracção, os dentes foram limpos e armazenados em Cloramina T a 0,5%. Após esse período os dentes foram armazenados em água destilada (mudada semanalmente) a uma temperatura de cerca de 4°C, por um período não superior a 6 meses.

O terço oclusal coronal dos dentes foi removido, assim como as raízes, seccionando o dente transversalmente com um disco diamantado de baixa velocidade e um suprimento de água copioso com recurso a um micrómetro (*Accuton 2 - Struers*, Copenhagen, Denmark) – originando discos de dentina com cerca de 3 mm de espessura (espécimes).

De seguida os espécimes foram polidos com lixas de grão 600 até 3000 e pastas de diamante de grão 3, 1 e ¼ µm (*Kemet®-diamond spray*, Kapellen - Belgium) em panos de feltro para polimento (DP-NAP, *Struers*, Copenhagen, Denmark). Após cada pasta utilizada, os espécimes foram submergidos num banho de ultra-sons com água destilada durante 1 minuto para remover *debris*. Para remover a *smear layer*, os espécimes foram submergidos numa solução de ácido cítrico 1% durante 30 segundos e colocados em banho de água destilada no ultra-sons durante 15 minutos. Toda a superfície que não a escolhida para ser observada (oclusal) foi recoberta com verniz das unhas de modo a isolar da penetração da solução.

Os espécimes foram mergulhados numa solução dentífrica de estudo nanoXIM a 9%, num total de 2x ciclos de 2 minutos diários, a 37°C durante 5 dias. Entre as imersões (e no fim), os espécimes foram armazenados numa estufa (Hemmet, Schwabach, Germany) a 37°C com 100% humidade. De seguida, sobre a superfície oclusal de 2 espécimes foi aplicado um selante de superfície (Grupo A - "EasyGlaze"), sobre outros 2 espécimes, um verniz transparente (Grupo B - "Com Verniz"), sendo que nos restantes 2 nada foi aplicado (Grupo C - "Sem Nada"). Os discos de dentina foram fixados em 3% de glutaldeído numa solução tamponada de 0,2 M de cacodilato de sódio (pH=7,2) durante 24 horas, a 4°C. De seguida foram submergidos em banhos de 20 ml de 0,2 M cacodilato de sódio (pH=7,2) por uma hora em três banhos sucessivos e lavados por um minuto com água destilada. Os espécimes foram descalcificados com ácido hidrocloreídrico a 0,1 mol e seguidamente imersos numa solução de hipoclorito de sódio a 10% e desidratados em álcool etílico com concentrações crescentes. Finalmente os espécimes foram submersos em hexametildisilazano durante 10 minutos e deixados a secar ao ar, à temperatura ambiente.

Os espécimes foram depois montados em discos de alumínio para microscopia electrónica de varrimento com cola *Araldit® Rápido - Ceys®*, Vantico AG – (Basel, Switzerland) e metalizados numa atmosfera de Argon com 200 nm de ouro/paládio (*JEOL Fine Coat Ion Sputter JFC-1100*, Tokyo, Japan).

Os espécimes foram depois preparados e observados em Microscópio Electrónico de Varrimento (SEM) com ampliações de 1000x, 2000x, 2300x e 10.000x.

O exame SEM / EDS foi realizado utilizando o Microscópio Electrónico de Varrimento de alta resolução, com Microanálise por Raios X: *JEOL JSM 6301F/ Oxford INCA Energy 350*. As amostras foram revestidas com filme fino de Au/Pd, por pulverização catódica (*sputtering*), utilizando o equipamento SPI Module Sputter Coater.



Fig. 1: Discos de dentina

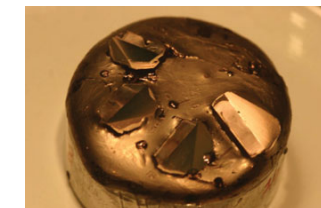


Fig. 2: Espécime no coto de alumínio do SEM



Fig. 3: Microscópio Electrónico Varrimento (SEM)

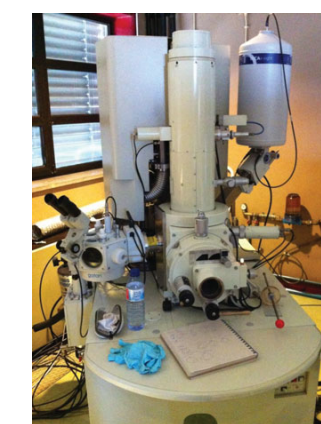


Fig. 4: Microscópio Electrónico Varrimento (SEM) - Pormenor

Resultados

O Grupo C foi o único onde foi possível observar claramente os túbulos dentinários obliterados (ocluídos) com a solução nanoXIM. No Grupo A, a resina hidrofóbica originou prolongamentos de resina (*tags*) que penetraram nos túbulos e cobriram a dentina, comprometendo desta forma a observação no SEM. O Grupo B originou uma camada amorfa que também comprometeu uma correcta observação dentinária.

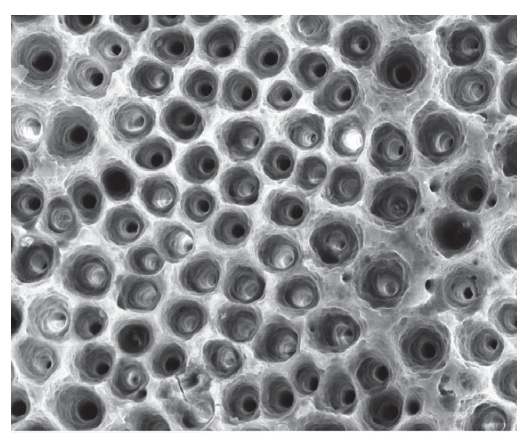


Fig. 5: SEM 2300x: Dentina e túbulos dentinários

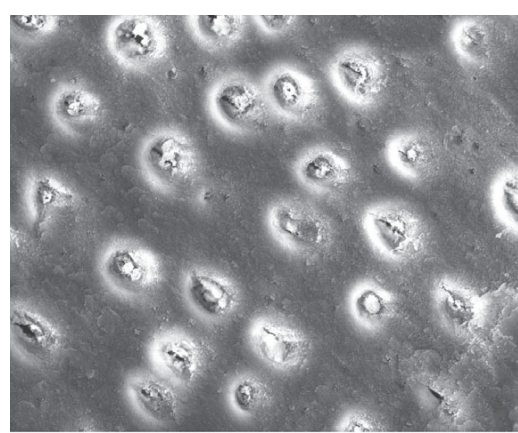


Fig. 6: SEM 2300x: Túbulos obliterados (Grupo C)

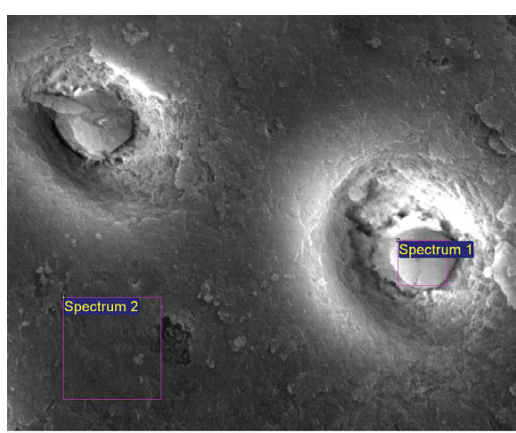


Fig. 7: SEM 10.000x: Pormenor de dois túbulos dentinários obliterados e análise de espectros

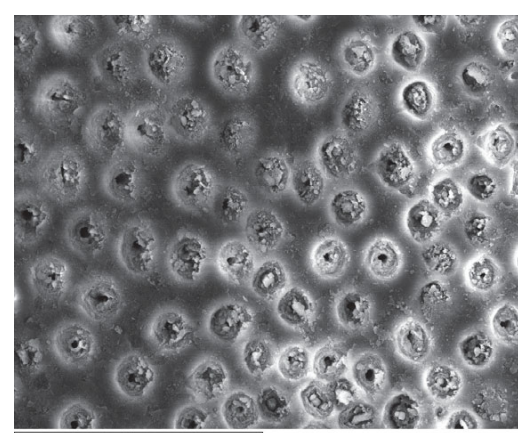


Fig. 8: SEM 2000x: Túbulos dentinários obliterados (Grupo C)

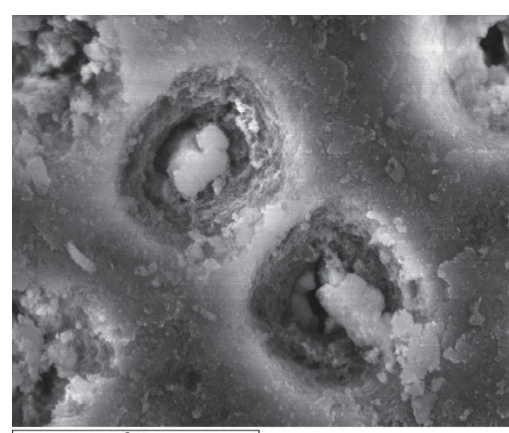


Fig. 9: SEM 10.000x: Túbulos dentinários obliterados (Grupo C)

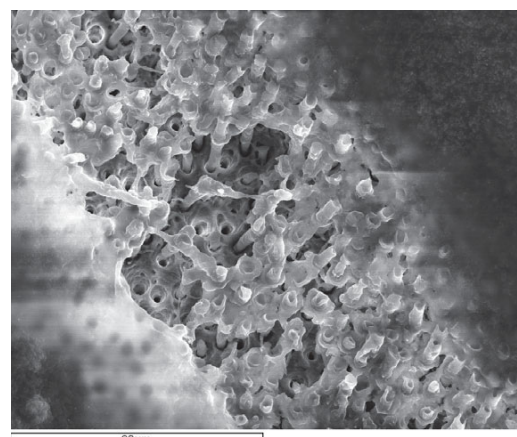


Fig. 11: SEM 1000x: "Easy Glaze" (Grupo A)

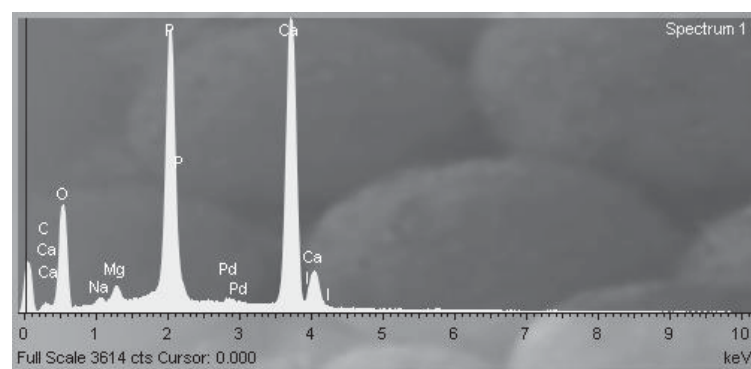


Fig. 10: Análise de espectros: Presença de elevadas concentrações de Cálcio e fosfato

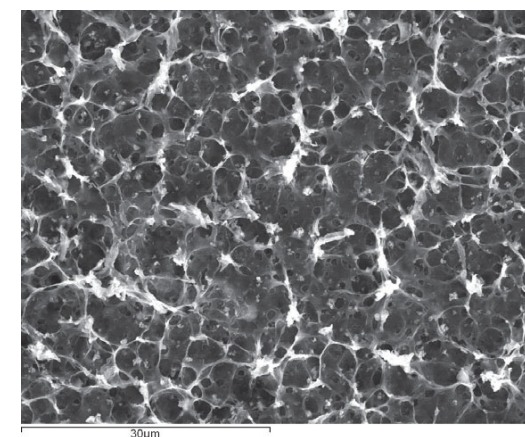


Fig. 12: SEM 2000x: "Com Verniz" (Grupo B)

Discussão e Conclusões

Relembramos que se tratou de uma prova-piloto e como tal, efectuamos alguns testes de forma a tentar otimizar o protocolo experimental de preparação das amostras, com o objectivo de obter imagens de microscopia claras, com os túbulos dentinários supostamente preenchidos pela hidroxiapatite da solução nanoXIM 9%. Assim sendo, para chegar às imagens desejadas e visíveis anteriormente (resultados pretendidos), também apenas um dos três métodos testados parece ter resultado. De um modo geral, pode-se dizer que a prova-piloto foi bem sucedida uma vez que conseguimos obter imagens de dentina com túbulos dentinários ocluídos por matéria mineral, que se supõe ser hidroxiapatite da solução nanoXIM 9%. Estas imagens correspondem às amostras que foram preparadas sem qualquer revestimento adicional da superfície (Grupo C). Para avaliar que tipo de matéria seria, efectuou-se uma análise de espectros (Figura 10) da zona ocluída e comparou-se com a de dentina sendo que os elementos presentes em maior concentração foram o cálcio e o fosfato, ambos constituintes da hidroxiapatite (que é o elemento principal da solução nanoXIM). Comparamos com a dentina, que também revela a presença dos mesmos elementos (a dentina é constituída 70% por matéria mineral, essencialmente por fosfato de cálcio sob a forma de hidroxiapatite) – Figura 5. Fazendo também a análise de espectros de algumas imagens, encontra-se a presença do elemento químico silício. No protocolo da prova piloto alguns espécimes foram revestidos na superfície dentinária a observar com verniz (Grupo B) e outros com *EasyGlaze® (VOCO)* (Grupo A). Este revestimento seria para testar a possibilidade de, durante a preparação das amostras para a microscopia electrónica de varrimento (fixação, desmineralização, desidratação e *critical point drying*), o Verniz ou o *EasyGlaze* poderem isolar ou proteger a hidroxiapatite presente nos túbulos (proveniente da solução nanoXIM) de forma a que esta não fosse removida, degradada ou dissolvida aquando das etapas acima descritas.

Curiosamente ficou demonstrado após esta prova piloto de que a melhor opção será não revestir as amostras pois o Grupo C foi o único onde foi possível observar claramente os túbulos dentinários obliterados com a solução nanoXIM (Figuras 6 a 10). No Grupo A, a resina hirofóbica acabou por formar *tags* ou prolongamentos que entraram nos túbulos e em parte revestiram a dentina, dificultando a observação no SEM (Figura 11). Por outro lado, o Grupo B também acabou por criar uma camada amorfa que impossibilitou uma correcta visualização da dentina (Figura 12), havendo mesmo na análise dos espectros a presença de óxido de titânio.

Relativamente à selecção dos espécimes, durante a preparação das amostras não foram descartados os dentes com dentina terciária presente, uma vez que não entendíamos ser este um fator de exclusão. Após as análises realizadas na CEMUP, e pela organização tecidual da dentina terciária (dentina mais estruturalmente mais desorganizada, mais atubular e mais obliterada) verificou-se que este poderia ser um fator com influência negativa nos resultados. Os dentes a ser utilizados no estudo deverão ser dentes íntegros sem presença de dentina terciária do tipo reparativo.

No Grupo C, os resultados pretendidos foram alcançados. A solução nanoXIM 9% parece ser eficaz na obliteração (oclusão) tubular.

Bibliografia

Haghighi, R., Abbasi, F. & Rezvani, M.B.: Evaluation of the effect of nano-hydroxyapatite on erosive lesions of the enamel of permanent teeth after exposing to soft beer (In vitro). *Journal of Dental School Shahid Beheshti University of Medical Sciences* 2011, 29, pp. 149-154.; Hannig, M. & Hannig, C.: Nanomaterials in preventive dentistry. *Nature Nanotechnology* 2010, 5, pp. 565-9.; Huang, S., Gao, S., Cheng, L. & Yu, H.: Remineralization Potential of Nano-Hydroxyapatite on Initial Enamel Lesions: An in vitro Study. *Caries Research* 2011, 45, pp. 460-468.; Huang, S.B., Gao, S.S. & Yu, H.Y.: Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion in vitro. *Biomedical Materials* 2009, 4, pp. 034104.; Ji-Min, H., Jong-Oh, K., Yong-Duk, P. & Young-Suk, C.: Research about bovine teeth brightness with using dentifrice slurry including nano-hydroxyapatite. *Biomedical Engineering and Informatics (BMEI)*, 2010 3rd International Conference on 16-18 Oct. 2010, pp. 1958-1960.; Jiang, T., Ma, X., Wang, Z., Tong, H., Hu, J. & Wang, Y.: Beneficial effects of hydroxyapatite on enamel subjected to 30% hydrogen peroxide. *Journal of Dentistry* 2008, 36, pp. 907-914.; Karim, B.F.A. & Gillam, D.G.: The Efficacy of Strontium and Potassium Toothpastes in Treating Dentine Hypersensitivity: A Systematic Review. *International Journal of Dentistry*, 2013, 13.; Kawamata, H., Fujita, K., Ishizaki, T., Hayman, R. & Ikemi, T.: A New Enamel Restoring Agent for Use after Bleaching. *Journal of Dental Research* 1919, 83.; Li, L., Pan, H., Tao, J., Xu, X., Mao, C., Gu, X. & Tang, R.: Repair of enamel by using hydroxyapatite nanoparticles as the building blocks. *Journal of Materials Chemistry* 2008, 18, pp. 4079-4084.; Najlifard, K., Karthikeyan, R., Chedjiru, J. & Amatechi, B.: In situ remineralization of early caries lesions by nano-hydroxyapatite dentifrice. *Journal of Dental Research* 2010, 89.; Ohta, K., Kawamata, H., Ishizaki, T. & Hayman, R.: Occlusion In of Dental Tubules by Nano-Hydroxyapatite. *Journal of Dental Research* 2007, 86, pp. 529-533.; Rowser, N. & Iafisco, M.: The Biomimetic Approach To Design Apatites For Nanobiotechnological Applications.; Rusin, R.P., Agee, K., Suchko, M. & Pashley, D.H.: Effect of a new desensitizing material on human dentin permeability. *Dental Materials* 2010, 26, pp. 600-607.; Tschopp, P., Zandim, D.L., Martus, P. & Kielbassa, A.M.: Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *Journal of Dentistry* 2011, 39, pp. 430-437.