

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

LÍDIA BATISTA CONRADO MARTINS

**Caracterização química do esmalte dental humano após infiltração de resina
através do fluxo eletrocinético**

Juiz de Fora
2022

Lídia Batista Conrado Martins

**Caracterização química do esmalte dental humano após infiltração de resina
através do fluxo eletrocínético**

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de concentração em Clínica Odontológica.

Orientador: Prof. Dr. Hugo Leme Carlos

Juiz de Fora

2022

Martins, Lídia Batista Conrado .

Caracterização química do esmalte dental humano após infiltração de resina através do fluxo eletrocinético : Após infiltração de resina por meio de fluxo eletrocinético / Lídia Batista Conrado Martins. -- 2022.

33 p.

Orientador: Hugo Lemes Carlo

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Odontologia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde, 2022.

1. Permeabilidade do esmalte. 2. Fluxo eletrocinético. 3. Infiltração . 4. Resina. 5. Nanoporos. I. Lemes Carlo, Hugo , orient. II. Título.

LÍDIA BATISTA CONRADO MARTINS

Caracterização química do esmalte dental humano após infiltração de resina através do fluxo eletrocínético

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestra em Clínica Odontológica. Área de concentração: Clínica Odontológica

Aprovada em 21 de fevereiro de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Hugo Lemes Carlo - Orientador
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof^a. Dr^a. Fabíola Galbiatti de Carvalho Carlo
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Luís Henrique Araújo Raposo
Universidade Federal de Uberlândia

Juiz de Fora, 10/02/2022.



Documento assinado eletronicamente por **Hugo Lemes Carlo, Professor(a)**, em 21/02/2022, às 10:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

Documento assinado eletronicamente por **Fabiola Galbiatti de Carvalho Carlo, Professor(a)**, em



21/02/2022, às 10:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luís Henrique Araújo Raposo, Usuário Externo**, em 21/02/2022, às 10:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **0675670** e o código CRC **931D3350**.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo fomento concedido para o desenvolvimento desta pesquisa (Processo PPM-00651-16) e pelo incentivo à inovação científica e tecnológica do Estado de Minas Gerais.

Aos meus pais por todo apoio.

Aos meus amigos pelo incentivo.

Ao meu orientador por todo conhecimento adquirido.

A UFJF pelo acolhimento.

RESUMO

A aplicação do fluxo eletrocínético (FEC) se apresenta como uma alternativa promissora no intuito de se otimizar o transporte de moléculas para o interior dos poros do esmalte, dispensando-se o uso da técnica adesiva convencional. Esse processo é baseado na geração de diferença de potencial elétrico, sendo que sua aplicação possibilita a movimentação de moléculas através dos nanoporos do esmalte. O objetivo deste estudo *in vitro* foi avaliar as alterações químicas do esmalte dentário por meio de análise por Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier no modo de reflexão total atenuada (FTIR-ATR) após infiltração de resina fluida tipo infiltrante (Icon Caries Infiltrant Proximal) utilizando-se o FEC. Cinco terceiros molares foram utilizados, os quais foram seccionados longitudinalmente no sentido mesio-distal, resultando em duas hemicoroas. Foram analisadas as bandas para fosfato (ν_2), carbonato, proteína amida I, ligação C=O e ligação C-H. Não se observou alteração das bandas de fosfato, amida, e carbonato entre os espécimes infiltrados e não-infiltrados. Verificou-se, também, a presença de banda de baixa intensidade referente à ligação C=O, anteriormente inexistente, e aumento de intensidade da área da ligação C-H no espectro do esmalte infiltrado. A resina foi infiltrada no esmalte dental via FEC, entretanto, os sinais das bandas vibracionais foram verificados em níveis mais baixos, provavelmente devido ao pequeno volume dos nanoporos na constituição do tecido. O método de FTIR-ATR parece não ter a sensibilidade necessária para se determinar a presença da resina infiltrada no esmalte.

Palavras-chave: Permeabilidade do esmalte, fluxo eletrocínético, infiltração

ABSTRACT

The traditional technique for diffusion of molecules through dental enamel has limitations due to the small size of the pores present in the tissue. In an attempt to optimize the transport of molecules into these pores, the application of electrokinetic flow (ECF) seems to be a promising alternative. Based on a process that generates an electrical potential difference, its application causes movement of the molecules through the enamel nanopores. The objective of this "in vitro" study was to determine the chemical alterations of dental enamel by Fourier Transform Infrared Spectroscopy in the attenuated total reflection mode (FTIR-ATR) after infiltration of an infiltrating resin (Icon Caries Infiltrant Proximal) by FEC. Five third molars were used, which were sectioned longitudinally in the mesio-distal direction, resulting in two hemicrowns. The bands for phosphate, carbonate, protein amide I, C=O bond and for the CH bond were analyzed. (2800-3015 cm^{-1}). It was not observed change in the phosphate, amide, and carbonate bands between the infiltrated and non-infiltrated samples. It was also verified the presence of a low intensity band referring to the C=O bond, not seen previously, and an increase in the intensity of the area of the C-H bond in the infiltrated enamel spectrum. The resin was infiltrated into the dental enamel via FEC. However, the vibrational bands presented lower levels than expected, probably due to the small volume of the nanopores in the tissue constitution. The FTIR-ATR method does not seem to have the necessary sensitivity to determine the resin infiltrated into the enamel by FEC.

Keywords: Enamel permeability, electrokinetic flow, infiltration

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|------------------|---|
| % | Porcentagem |
| Mm | Milímetro |
| FEC | Fluxo eletrocinético |
| DCE | Dupla camada elétrica |
| JAD | Junção amelodentinária |
| μm | Micrômetro |
| FTIR-ATR | Espectroscopia infravermelha com transformada de Fourier de reflexão total atenuada |
| °C | Graus Celsius |
| H | Hora |
| DDP | Diferença de potencial elétrico |
| min | Minutos |
| pH | Potencial Hidrogeniônico |
| mw | Miliwatt |
| KV | Quilovolt |
| cm | Centímetro |
| OH | Hidroxila |
| KCl | Cloreto de potássio |
| PVC | Policloreto de vinila |
| mA | Miliampére |
| K ⁺ | Íon Potássio |
| Ca ²⁺ | Íon Cálcio |
| Na ⁺ | Íon Sódio |
| F ⁻ | Íon Flúor |

LISTA DE TABELA

| | |
|--|----|
| Tabela1 - Resina fluida utilizada no estudo (marca comercial, composição*, pH* e índice de refração*) | 19 |
|--|----|

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Espectros de absorvância para o esmalte não infiltrado (linha 22 vermelha), infiltrado (linha verde) e resina fluida polimerizada (linha azul). Destaque para as bandas de fosfato (PO_4^{3-} no modo estiramento ν_1 - 956 cm^{-1} e ν_3 - 982 cm^{-1}), de carbonato (CO_3^{2-} - 1409 e 1450 cm^{-1}), da proteína amida I (R-C(=O)-NH-R - 1656 cm^{-1}), da ligação C=O no modo estiramento (1718 cm^{-1}) e da área da ligação C-H no modo estiramento (2800 - 3015 cm^{-1}).

SUMÁRIO

| | | |
|-----------|------------------------------|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 10 |
| 2 | DESENVOLVIMENTO | 12 |
| 2.1 | Revisão de literatura..... | 12 |
| 2.2 | Objetivos..... | 16 |
| 2.3 | Materiais e métodos | 17 |
| 2.4 | Resultados..... | 21 |
| 2.5 | Discussão | 23 |
| 3. | Conclusão | 27 |
| | Referências | 28 |

1 INTRODUÇÃO

Estruturalmente, o esmalte dentário se apresenta como a camada mais externa da coroa dentária, sendo constituído por cristalitos de hidroxiapatita separados por nanocanais longos e estreitos (PENG C et al. 2019). Esta estrutura desempenha um papel importante no processo de transitividade de fluidos ao longo da estrutura dentária (YING, CHUAH e HSU, 2004). Os nanoporos de esmalte, geralmente com 2 a 6 nm de diâmetro, são as vias capilares pelas quais materiais poderiam se difundir através da estrutura. Entretanto, devido ao seu diâmetro reduzido, se faz necessário a realização do alargamento dessas vias por meio de condicionamento com ácido fosfórico, em concentrações de 30 a 50%, para possibilitar posterior penetração de monômeros resinosos, por exemplo (HANNING et al., 2002). Neste contexto, o sucesso da técnica depende de uma engenharia de tecidos que é projetada para criar uma estrutura híbrida formada pelo tecido sendo este posteriormente envolvido por resina (SANO et al., 2006). Entretanto, apenas 2 a 3 mm da região mais externa do esmalte é totalmente infiltrada com esta técnica, a qual pode gerar espaços vazios no interior do tecido, diminuindo a durabilidade da camada e podendo ser facilmente removida ao longo do tempo (SANO et al., 2006).

A potencialização da difusão de materiais e substâncias ao longo do esmalte é desejável e, para isso, abordagens alternativas vêm sendo analisadas como soluções altamente viáveis (PENG et al. 2019). Recentemente, o aperfeiçoamento da infiltração da resina fluida ao longo dos prismas de esmalte com uso de fluxo eletrocínético (FEC), demonstrou potencializar o transporte de materiais ao longo dos nanoporos, tornando possível a formação de uma camada híbrida com profundidade média com aproximadamente 770 nm a 1.627 nm (GAN et al., 2015). O FEC se baseia na aplicação de um campo elétrico nas paredes dos nanocanais do esmalte favorecendo a difusão de materiais e outras substâncias através das paredes dos nanocanais do esmalte, que são carregados negativamente. Estas paredes possuem uma dupla camada de elétrons (DCE), formada por íons positivos e negativos, capaz de conduzir um campo elétrico gerado a partir de uma fonte externa (PENG et al., 2019). Assim, a água presente no interior dos nanoporos pode ser integralmente substituída por um material ou substância de interesse.

Pelas características da abordagem, outros estudos foram realizados demonstrando a eficiência desta técnica em diferentes aplicações, além da condução de resina fluida. Estas análises apontaram resultados satisfatórios no que diz respeito ao transporte de agentes clareadores (peróxido de hidrogênio e peróxido de carbamida) ao longo da superfície do esmalte dentário (PENG et al., 2019). Além disso, a metodologia sugere, de forma eficaz e controlada, ser possível um aumento significativo da penetração de íons relevantes, F^- , Ca^{2+} , K^+ e Na^+ , para o interior do esmalte, em comparação com a infiltração baseada na difusão simples (PENG et al., 2019). Fora isso, outros benefícios foram analisados utilizando flúor e peróxido de carbamida I, alcançando resultados

promissores como o alcance médio de de 50 a 100 nm no interior do esmalte dentário.(IVANOFF et al., 2013).

A técnica de infiltração de materiais no esmalte usando auxílio do FEC se apresenta como uma nova abordagem e seu efeito no tecido deve ser investigado. Assim, a hipótese deste estudo baseia-se na premissa de que a infiltração de um material resinoso por meio de uso do FEC poderá alterar o referido tecido, substituindo a água presente no interior dos nanoporos por resina. As possíveis alterações deste tecido frente a este processo foram analisadas por meio de análise de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier no modo de reflexão total atenuada (FTIR-ATR).

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão da Literatura

O esmalte é uma matriz complexa, altamente mineralizada e organizada em uma estrutura hierárquica. Esta matriz apresenta uma organização de cristalitos de hidroxiapatita com nanofibras de, aproximadamente, 50 nm de diâmetro e com comprimento que, supostamente, abrange toda camada de esmalte (KOLDEHOFF, SWAIN e SCHNEIDER, 2020). Estes cristais são responsáveis por aproximadamente 96% do peso total do tecido (AVERY e STEELE, 2002), complementado por 3% em proteínas orgânicas não colágenas e 2% em água (SIMMER et al., 2001; BRALY et al., 2007). Sua formação histológica é dada a partir de células epiteliais ectodérmicas, tonando-se acelular quando finalizada a sua formação, sem haver nesse tecido a presença de vasos sanguíneos (CARLOSTROM, GLAS e ANSGMAR, 1963; SIMMER et al., 2001).

A unidade estrutural primária baseia-se em hastes que consistem em fibras de hidroxiapatita, as quais se apresentam bem organizadas e compactadas com orientações variadas (AL-JAWAD et al., 2007). Geralmente, estas hastes crescem perpendicularmente à junção amelo-dentinária (JAD) e são separadas por finas bainhas orgânicas (HE e SWAIN, 2008), dando ao tecido uma microestrutura complexa. Tais fibras vão da JAD até próximo da superfície e são denominados prismas do esmalte (SIMMER e HU, 2011).

O tecido é dotado de alta capacidade de permeabilidade, justificada pela existência de espaços muito pequenos entre os prismas (YING, CHUAH e HSU, 2004), além de ser constituído de nanoporos ao longo de sua estrutura, onde também pode ocorrer transporte de materiais – processo conhecido como difusão (HANNING et al., 2002). No entanto, o tamanho dos poros nanométricos implicará em que pressões extremamente altas sejam necessárias para que o fluxo hidrostático possa acontecer, impossibilitando sua aplicação em um transporte aprimorado e tornando o transporte de íons ou substâncias um processo lento. Além disso, moléculas que apresentam dificuldade para penetração por difusão/capilaridade são consideradas como moléculas com tamanho acima do limiar crítico (acima de 2 a 6 nm), e podem ter capacidade bastante limitada de infiltrar os poros do esmalte (GAN et al., 2015).

Na tentativa de compensar a dificuldade de penetração de moléculas no esmalte, o condicionamento do tecido com diferentes tipos de ácidos é amplamente utilizado. Isto garante o alargamento dos nanoporos, o qual é seguido da penetração de moléculas, como monômeros resinosos por exemplo (PARIS et al., 2008). No entanto, apenas a superfície tratada do esmalte será preenchida. Algo em torno de 25 nm de profundidade aproximadamente (PARIS, DÖRFER e MEYER-LUECKEL, 2010), levando a preenchimento insuficiente do tecido condicionado (YUAN et al., 2007; PARIS, DÖRFER e MEYER-LUECKEL, 2010). Não obstante a baixa profundidade de penetração, verifica-se, também, a presença de espaços vazios (bolhas) na região infiltrada (YUAN et al., 2008;

ARSLAN et al., 2015). Além disso, evidências corroboram na impossibilidade da penetração completa da camada superficial no esmalte em dentes decíduos por meio do condicionamento com ácidos comercialmente disponíveis, mesmo em períodos mais longos de condicionamento (até 2 min) (PARIS, DÖRFER e MEYER-LUECKEL, et al., 2010).

Assim, novas abordagens têm sido testadas, na tentativa de se melhorar a difusão das moléculas ao longo dos nanoporos do esmalte, buscando-se a inovação do procedimento e a potencialização dos resultados (PENG C et al. 2019). Dentre as alternativas testadas atualmente, temos o método do Fluxo Eletrocínético (FEC) (GAN et al., 2015). O FEC baseia-se na aplicação de um campo elétrico nas paredes dos nanocanais do esmalte (SCHOCH et al., 2018). Nesta técnica, os nanocanais, preenchidos por um líquido condutor qualquer, são capazes de transportar moléculas de alto peso molecular da superfície para o interior do esmalte e em direção ao tecido pulpar, sendo que tal transporte ocorre unidirecionalmente, na direção da corrente elétrica (PENG et al.2019).

A aplicação do FEC se mostrou eficaz no transporte de moléculas para o interior dos poros do esmalte sadio (GAN et al., 2015). O processo de difusão por FEC ocorre sobre as paredes dos nanocanais do esmalte, que são carregados negativamente. Nestas paredes encontra-se uma dupla camada de elétrons (DCE) formada por íons positivos (contra-íons) capazes de conduzir o campo elétrico (voltagem) aplicado a partir de uma fonte externa (SCHOCH, HAN e RENAUD, 2008). Graças a essa dinâmica, soluções iônicas e outras moléculas de interesse foram transportadas através do esmalte sem a necessidade de promoção de perda mineral (PENG C et al.2019), promovida pela técnica de condicionamento ácido (BUINOCORE, 1955).

A técnica, ainda em fase experimental, foi descrita pela primeira vez em estudo de GAN e colaboradores (2015). A análise foi realizada em cortes histológicos de esmalte e os resultados apontaram a penetração de uma resina fluida (Icon Caries Infiltrant Proximal – DMG, Hamburgo, Alemanha) a uma profundidade média de 770 μm . Uma segunda análise foi realizada em dentes humanos íntegros, com o campo elétrico aplicado entre o esmalte e a câmara pulpar, a fim de simular preliminarmente uma situação mais próxima da condição clínica e novamente ocorreu a penetração da resina, desta vez com uma profundidade média de 1.627 μm .

Um outro estudo demonstrou a capacidade que a infiltração induzida pela técnica eletrocínética tem no transporte de soluções iônicas (F^- , K^+ , Ca^{2+} e Na^+) para os nanoporos do esmalte, sendo sugerido a possibilidade do controle da profundidade e a velocidade do transporte pelo tempo de infiltração e pela tensão aplicada, indicando sua aplicabilidade clínica na prevenção de cáries e proporcionando aumento da resistência do esmalte à desmineralização (PENG et al., 2019).

Em um outro desenvolvido pela mesma equipe de autores (PENG et al., 2019), foi verificada a penetração de peróxido de hidrogênio no interior do esmalte durante clareamento dental. Através de

diferentes voltagens, os autores demonstraram ser possível a potencialização dos efeitos do procedimento, somados à redução do tempo de tratamento em até 10 vezes quando comparado à técnica atualmente disponível, evitando também múltiplas exposições dos tecidos ao agente clareador.

Do ponto de vista clínico, a técnica possibilitaria a melhoria da penetração e formação da camada híbrida no esmalte. A possibilidade de aplicação futura da técnica *in vivo* é real, com os tecidos moles adjacentes contribuindo com a condutividade da tensão e com redução significativa da tensão ocorrendo através do esmalte e dentina.

Por ser considerada uma abordagem nova, a infiltração de materiais através de FEC e seu efeito nos tecidos dentais deve ser investigada em detalhes, particularmente quando da infiltração de materiais resinosos. Possíveis modificações estruturais em esmalte produzidas por essa técnica podem ser caracterizadas qualitativamente através de análises por FTIR-ATR. A análise é baseada na identificação de frequência específica de vibrações moleculares, que variam de acordo com a estrutura, composição e o modo de vibração da amostra, utilizando o infravermelho para interpretação dessa gama de frequência (ANJOS et al., 2016). Esta técnica de amostragem é considerada não destrutiva e com alto grau de sensibilidade, tornando possível o fornecimento de informações químicas detalhadas do tecido dental (ANJOS et al., 2016). Além disso, a técnica permite que as amostras sejam examinadas diretamente em seu estado sólido, sem preparação adicional, com capacidade de mensurar a capacidade de absorção, transmissão ou reflexão da radiação infravermelha. (GOMES et al, 2018).

2.2 Objetivos

Objetivo primário

Caracterizar quimicamente o esmalte dental humano, após infiltração de resina por meio de fluxo eletrocinético (FEC).

Objetivo secundário

Caracterizar o esmalte dental humano, quando submetido à infiltração de resina fluida, por FEC, identificando a capacidade da estrutura para absorver, transmitir, ou refletir radiação no infravermelho, por meio da técnica de FTIR-ATR, mapeando-se a extensão e as alterações ocorridas na estrutura do tecido.

2.3 Materiais e métodos

Preparo das amostras

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (Prot. N. 0118/13 – CAAE: 38394114.4.0000.5188). Cinco terceiros molares humanos hígidos recém-extraídos foram submetidos ao procedimento padrão de limpeza (escovação e raspagem) e desinfecção, antecedendo os procedimentos experimentais. Em seguida, os espécimes foram examinados por meio de lupa estereoscópica (STEMI SV11 – Carl Zeiss Company, Oberkochen, BW, Alemanha) com aumento de 2x a 4x para exclusão daquelas que apresentassem algum tipo de processo abrasivo, trincas ou qualquer outra alteração no esmalte que inviabilizasse o seu uso. Posteriormente, foram armazenados em solução aquosa de azida sódica a 0,02% (Human do Brasil, Itabira, MG, Brasil) até o seu uso.

As raízes foram seccionadas 2 mm abaixo da junção cimento-esmalte com o uso de um disco diamantado dupla face (KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil). Em seguida o tecido pulpar foi removido com auxílio de limas endodônticas do tipo Hedstroem (Mailefer/Dentsply, Ballaigues, VA, Suíça). Um dispositivo foi confeccionado, de forma individualizada na superfície oclusal de cada amostra, utilizando um elastômero translúcido à base de polidimetilsiloxano (Sylgard 184 silicone elastomer kit - Dow Corning, Midland, MI, EUA).

Para a confecção do dispositivo, cada coroa foi envolvida por uma fita adesiva com 7 mm de largura e fixada em contato com o esmalte. O elastômero foi inserido em seu interior. As amostras foram armazenadas em uma estufa a 50°C por 4h para polimerização do elastômero. Logo após o término da reação química, com o auxílio de um punch dermatológico (Kolplast Ltda, São Paulo, SP, Brasil), o dispositivo em elâstomero foi perfurado para a confecção de um reservatório cilíndrico com aproximadamente 2 mm de largura e 5 mm de altura (altura da matriz de elastômero). Os espécimes com os reservatórios acoplados foram acondicionados em água destilada e mantidos a 37° C por 24 h antes da aplicação da técnica de fluxo eletrocinético (FEC).

Os canais radiculares de cada espécime foram preenchidos por um gel condutor hidrossolúvel a base de glicerol a 70% (Mercur, Santa Cruz do Sul, RS, Brasil), para simulação da presença da polpa dental, criando as condições necessárias para a passagem da corrente elétrica de forma unidirecional, do polo positivo (ânodo) em direção ao polo negativo (cátodo). O reservatório, anteriormente confeccionado, recebeu um fio de platina (0,25 mm de espessura e 30 mm de comprimento) conectado ao ânodo, enquanto um outro fio com as mesmas características foi inserido no interior da câmara coronária e conectado ao cátodo. Para esse sistema foi gerado um campo elétrico (1,5 V) por meio de uma fonte mediadora de tensão/corrente (Sourcemeter 2400 – Keithley Instruments & Products, Solon, OH, EUA). A corrente emitida foi registrada em um software livre (Labtracer – Keithley Instruments & Products, Solon, OH, EUA).

O reservatório cilíndrico foi preenchido por uma resina fluida (Icon Caries Infiltrant Proximal – DMG, Hamburgo, Alemanha) – Tabela 1. A referida resina possui fluorescência, pH=6,2 (próximo do neutro) e índice de refração igual a 1,51 (dados do fabricante). O processo de infiltração da resina foi realizado durante 2 h, protegendo-se as amostras da luz ambiente. Ao final, a resina foi fotoativada por 40s, utilizando-se um unidade LED (Radii Cal – SDI, Bayswater, Vic, Austrália) com intensidade de 1200mW/cm². Ao final da polimerização, para fácil identificação da região infiltrada, o fundo do reservatório foi marcado com esmalte de unha (Risque, São Paulo, SP, Brasil).

Foi realizada confirmação da infiltração da resina fluida no interior do esmalte dental por meio de um microscópio óptico de luz polarizada (Axioskop 40, Carl Zeiss – Jena, TH, Alemanha) (Gan et al., 2015).

Tabela 1. Resina fluida utilizada no estudo (marca comercial, composição*, pH* e índice de refração*).

| Material | Lote | Composição | pH | Índice de refração |
|----------|------|------------|----|--------------------|
|----------|------|------------|----|--------------------|

| | | | | |
|---|--------|---|-----|------|
| Icon Caries Infiltrant Proximal (DMG, Hamburgo, Alemanha) | 669742 | Icon - infiltrant: matriz de resina a base de TEGDMA, iniciadores e aditivos. | 6,2 | 1,51 |
|---|--------|---|-----|------|

* Conforme informações do fabricante.

Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier no modo de reflexão total atenuada (FTIR- ATR)

As cinco amostras foram seccionadas utilizando-se um disco diamantado dupla face (KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil), montado em mandril para peça-de-mão em baixa rotação sob refrigeração (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil). Inicialmente, foram seccionadas na altura da junção amelo-cemetária, separando a coroa da raiz. Em seguida, os espécimes foram seccionados no sentido ocluso-cervical pelo centro do dente de modo a dividir a coroa dentária em duas metades, obtendo-se, em uma mesma fatia, áreas infiltrada e não infiltrada por resina.

Um molde de silicone cilíndrico com dimensões internas de 6 mm de diâmetro e 1 mm de profundidade foi utilizado para a obtenção de cinco amostras da resina fluida (Icon Caries Infiltrant Proximal – DMG, Hamburgo, Alemanha). As amostras foram polimerizadas por 20 s utilizando-se unidade fotoativadora do tipo LED (Radii Cal – SDI, Bayswater, Vic, Austrália). A irradiância do aparelho foi medida obtendo-se o valor de 1000 mW/cm². O aparelho possuía o diâmetro da ponta com 9,75 mm.

As amostras polimerizadas de resina e as áreas infiltradas e não-infiltradas nos dentes foram analisadas usando a técnica de FTIR-ATR (Perkin Elmer, Norwalk, CA, EUA) entre 4000-650 nm. A superfície a ser testada foi posicionada contra o cristal de diamante da unidade ATR e recebeu uma pressão constante para facilitar o contato da amostra com o cristal. Foram realizadas três varreduras de cada amostra com resolução de 2 cm⁻¹. Os espectros foram registrados e transferidos para análise no programa Origin (OriginLab - Northampton, Massachusetts, EUA). Foi realizada correção da linha

de base utilizando-se as ferramentas apropriadas do programa (Lopes et al., 2018). Considerando-se a estrutura dental, foram analisadas as presenças de bandas para fosfato (PO_4^{3-} - 1190-702 cm^{-1}), com destaque para aquelas no modo de estiramento (ν_1 - 956 cm^{-1} e ν_3 - 982 cm^{-1}), para carbonato (CO_3^{2-} - 1350-1550 cm^{-1}), com destaque para os dois maiores picos, 1409 e 1450 cm^{-1} e para a proteína amida I (R-C(=O)-NH-R - 1656 cm^{-1}). Identificando a composição da resina foram selecionadas a presença de bandas para a ligação C=O no modo estiramento (1718 cm^{-1}) e para a área da ligação C-H no modo estiramento (C-H - 2800-3015 cm^{-1})

Os resultados foram analisados de forma qualitativa para se determinar a presença das possíveis estruturas moleculares nas regiões selecionadas, comparando-se os espectros do esmalte não infiltrado pela resina, do tecido infiltrado por resina e da resina polimerizada de forma isolada.

2.4 Resultados

Com a aplicação da técnica do FEC, obteve-se uma variação de corrente (μA) positiva para todas as amostras. A infiltração da resina fluida foi confirmada pela microscopia de fluorescência, sendo o padrão de infiltração compatível com a área do dente onde a mesma foi realizada, preenchendo-se todo o tecido com resina até a junção amelo-dentinária.

Os espectros de infravermelho, no modo de absorbância, para o esmalte não infiltrado pela resina (linha vermelha), infiltrado (linha verde) e da resina polimerizada (linha azul) estão apresentados na Figura 1. Observou-se a presença, sem alteração, das bandas de fosfato (PO_4^{3-}), representando o conteúdo mineral do tecido (Lopes et al., 2018), nos espécimes infiltrados e não-infiltrados pela resina. Da mesma forma não se verificou alteração nas bandas relativas à matriz orgânica do tecido, representada pelas bandas da proteína amida I (R-C(=O)-NH-R), e pelas bandas do carbonato (CO_3^{2-}), presente na hidroxiapatita, entre os espectros das amostras infiltradas e não-infiltradas.

Com relação às bandas características da resina, verificou-se a presença de banda de baixa intensidade referente à ligação C=O, antes inexistente, e aumento de intensidade da área da ligação C-H no espectro do esmalte infiltrado.

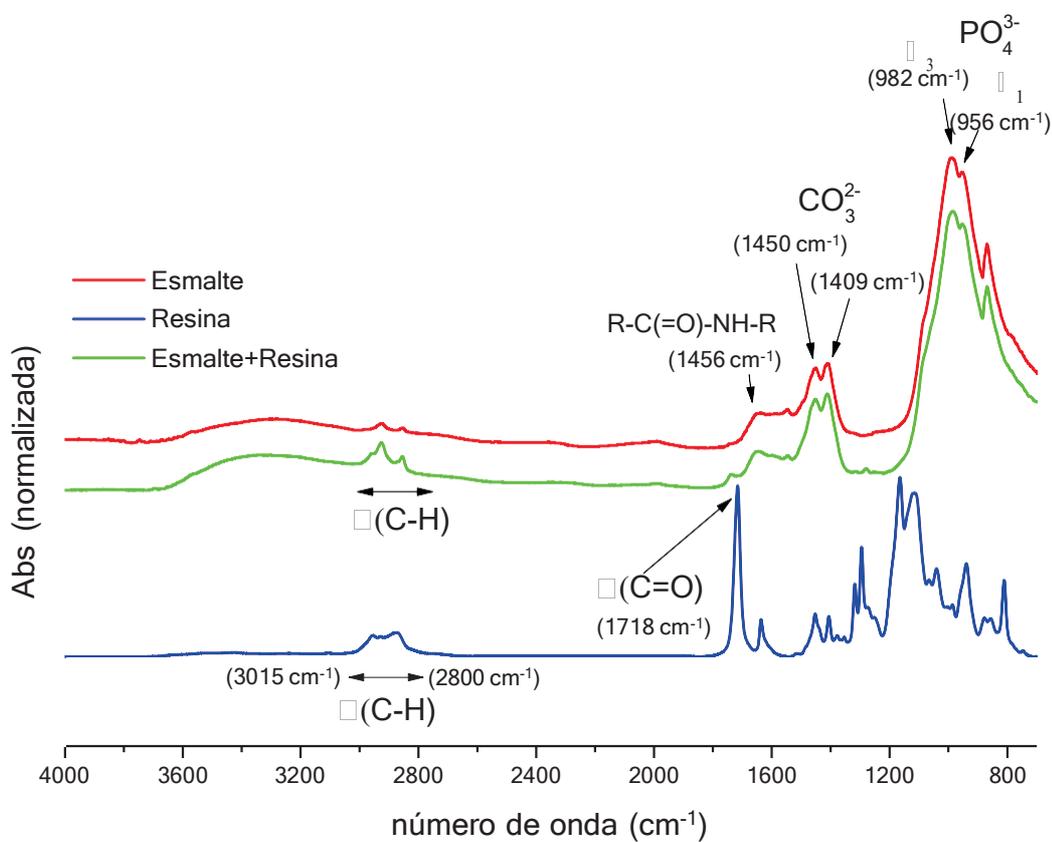


Figura 1. Espectros de absorvância para o esmalte não infiltrado (linha vermelha), infiltrado (linha verde) e resina fluida polimerizada (linha azul). Destaque para as bandas de fosfato (PO₄³⁻ no modo estiramento ν₁ - 956 cm⁻¹ e ν₃ - 982 cm⁻¹), de carbonato (CO₃²⁻ - 1409 e 1450 cm⁻¹), da proteína amida I (R-C(=O)-NH-R - 1656 cm⁻¹), da ligação C=O no modo estiramento (1718 cm⁻¹) e da área da ligação C-H no modo estiramento (2800-3015 cm⁻¹).

2.5 Discussão

O Fluxo eletrocinético (FEC) trata-se do movimento de líquidos impulsionados por um campo elétrico através de materiais nanoporosos (SCHOCH, HAN e RENAUD, 2008). Recentemente, Peng e colaboradores (2019), utilizaram a técnica para transporte de moléculas iônicas (F^- , Ca^{2+} , K^+ e Na^+), relevantes para a saturação da hidroxiapatita, através dos nanoporos em toda camada de esmalte. Semelhante aos achados de Gan e colaboradores (2015), o presente estudo utilizou a aplicação do FEC para infiltrar um tipo de resina fotopolimerizável de baixa viscosidade nos poros do esmalte, apresentando porções coronária e radicular sem qualquer condicionamento ácido prévio.

Os achados da literatura apontam que a infiltração na superfície do esmalte dental induzida por FEC, é possível em nanocanais (com até 100 nm) envoltos por paredes relativamente não condutoras (SCHOCH, HAN e RENAUD, 2008; PENG et al., 2019). No esmalte, a condução é baseada no direcionamento unilateral das cargas positivas da dupla camada de elétrons (DCE), transportando quaisquer substâncias, desde que respeitada a escala nanométrica dos poros. Achados de Nekoofar et al. (2006), demonstraram que uma diferença de potencial é formada à medida que o campo elétrico é aplicado, possibilitando o transporte de moléculas a partir da superfície do tecido (ânodo) em direção a polpa (cátodo), onde esta diferença de potencial pode sofrer variação não apenas do diâmetro do poro, mas também pela viscosidade do material.

Evidências comprovam que o transporte do conteúdo dos nanocanais possa sofrer influência tanto do tamanho dos poros, como também da viscosidade do material, sendo demonstrado através da variação dos valores de corrente elétrica aplicados em cada composto (NEKOOFFAR et al., 2006). O processo de infiltração de um material com maior viscosidade, a resina utilizada, por exemplo, tem duração expressivamente menor se comparado com uma solução de KCl, mais fluida do que a anterior, como já demonstrado (GAN et al., 2015). A capacidade do FEC em deslocar e infiltrar a DCE com moléculas de diferentes viscosidades sugere que a barreira para o transporte de tais substâncias foi rompida, possibilitando o entendimento de que a técnica poderá ser utilizada em ambiente clínico.

A espectroscopia FTIR- ATR fornece informações sobre a composição química das amostras analisadas por meio de vibrações moleculares. As vantagens desta técnica incluem a obtenção de

uma boa relação sinal/ruído, obtenção de espectros de alta qualidade em pouco tempo e a possibilidade de se analisar os materiais em sua forma natural, sem a necessidade de preparações específicas. O esmalte é caracterizado como o tecido mais mineralizado do corpo humano. Consiste em 96% de matriz inorgânica na forma de cristais de hidroxiapatita. O fosfato está entre os principais elementos formadores destes cristais $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$. Isto é condizente com a alta intensidade do sinal entre $1190-702\text{ cm}^{-1}$ observada nos espectros das amostras infiltrada e não infiltrada (Figura 1). Entretanto, esperava-se que a intensidade desta área fosse diminuída pela presença da resina, entremeando os cristais, nas amostras infiltradas, sendo que este achado esse não foi verificado no presente estudo.

A matriz orgânica do esmalte influencia a quantidade, qualidade e distribuição dos cristais minerais, podendo alterar a arquitetura hierárquica do tecido e afetar suas propriedades mecânicas. No presente estudo a matriz orgânica do tecido foi identificada pela avaliação da amida I, que corresponde à banda de absorção mais intensa das proteínas (MIRANDA et al., 2021). Por sua vez, o carbonato é uma impureza que confere maior solubilidade e instabilidade ao esmalte e também representa a sua composição orgânica (XU E WANG, 2012). Embora a intensidade do sinal dos componentes orgânicos do esmalte se apresente baixa, condizente com a sua menor quantidade na composição do tecido, também não se verificou diminuição em tais bandas após infiltração da resina. Entende-se que tais resultados de não alteração nas bandas referentes aos componentes inorgânicos e orgânicos tenha ocorrido devido ao fato de os nanoporos representarem uma quantidade muito pequena, em volume, na estrutura do tecido. Desta forma, determinadas bandas relacionadas à composição da resina podem ter sido mascaradas pela sobreposição das bandas de fosfato, carbonato e amida I (Figura 1).

O perfil do espectro da resina polimerizada apresenta várias bandas de alta intensidade determinando a sua composição. Entretanto, dentre tantos sinais, aqueles relacionados às ligações C=O e C-H foram os únicos identificados nas amostras de esmalte infiltrado por resina. E mesmo estes sinais apresentaram-se com baixa intensidade, quando comparados à resina pura. Tais resultados nos permitem verificar a penetração da resina nos nanoporos do esmalte, substituindo a

água anteriormente presente. Entretanto, parece-nos que isto ocorreu em pequena quantidade na área total. Provavelmente pelo fato, já citado, de que infiltração ocorreu apenas nos nanoporos e estes constituírem uma fração muito pequena do tecido.

Embora a quantidade de resina infiltrada pareça ser pequena, foi suficiente para alterar a dureza do esmalte, conforme verificado no estudo de Gadelha (2015). O presente estudo utilizou a mesma metodologia do autor, resultando de forma análoga o aumento na dureza do tecido, em todas as profundidades analisadas.

O período utilizado para realização da infiltração de resina foi de duas horas. Embora seja um período longo, este tempo foi necessário para uma melhor comparação com os resultados de Gan e colaboradores (2015), que realizaram a técnica pelo mesmo período. Tal período é evidentemente longo e novos estudos devem ser realizados buscando-se a sua redução. Isso deve ser possível porque quando o FEC é aplicado, inicia-se o deslocamento da DCE e a velocidade do líquido passa de zero a máxima imediatamente (PENG et al., 2019). Entretanto, ainda não é conhecida a velocidade máxima do deslocamento da resina para que o tempo necessário para infiltração, em toda a profundidade do esmalte, seja calculado.

O método de FTIR-ATR parece não apresentar a sensibilidade necessária para se determinar a presença da resina infiltrada no esmalte, provavelmente por ser um método influenciado pela quantidade dos componentes presentes na amostra. Entretanto, os resultados do presente estudo nos permitem supor que a água fracamente aderida foi substituída pela resina no interior dos nanoporos do esmalte. Sendo assim, essa técnica se apresenta como uma alternativa importante para infiltração de moléculas no interior do esmalte, as quais podem colaborar com a prevenção da cárie, aumentando a resistência deste tecido ao processo de desmineralização ou remineralizando lesões cariosas iniciais.

Estudos futuros que contemplem análises complementares associadas como avaliações por microtomografia computadorizada, microscopia eletrônica de varredura, microscopia confocal, espectroscopia por micro Raman, microscopia de Força Atômica e/ou microdureza Knoop (??) se

fazem necessários para melhor caracterização e diferenciação entre os tecidos infiltrados ou não por materiais resinosos distintos utilizando-se a técnica do FEC em tempos clinicamente viáveis.

3 CONCLUSÃO

Diante das limitações do estudo e da metodologia utilizada é possível concluir que:

- A utilização do FEC permitiu a infiltração da resina fluída nos nanoporos do esmalte dentário;
- A penetração da resina foi verificada no esmalte, através da técnica de FTIR-ATR. Entretanto, com sinais de bandas vibracionais mais baixas devido ao pequeno volume dos nanoporos na constituição do tecido;
- O método de FTIR-ATR parece não apresentou sensibilidade suficiente para determinar a presença da resina infiltrada no esmalte.

REFERÊNCIAS

- Al-JAWAD, M.; STEUWER, A., Kilcoyne, S.H., Shore, R.C., Cywinski, R., Wood, D.J. 2D mapping of texture and lattice parameters of dental enamel. **Biomaterials**, n. 28, p. 2908-2914. 2007
- ANJOS O, SANTOS AJ, ESTEVINHO LM, CALDEIRA I. FTIR-ATR spectroscopy applied to quality control of grape-derived spirits. **Food Chem.** 2016.
- ARSLAN S, ZORBA YO., Atalay MA., Özcan S., Demirbuga S., Pala K., Percin D., Ozer F. Effect of resin infiltration on enamel surface properties and Streptococcus mutans adhesion to artificial enamel lesions. **Dent Mater J**, n. 34, p.25-30. 2015.
- AVERY, J. K.; STEELE, P. F.; AVERY, N. **Oral development and histology**. New York: Thieme, 2002
- CARLSTROM D.; GLAS, J. E.; ANGMAR, B. Studies on the ultrastructure of dental enamel. V The state of water in human enamel. **J. Ultrastruct Res.**; v.8, n.1-2, p. 24-29, 1963.
- BUONOCORE, MG. A simple method of increasing the of acrylic filling materials to enamel surfaces. **J. Dent Res** v. 34, p.84 9-853, 1955.
- BUSSCHER, HJ, PLOEG RJ, VAN DER MEI HC . SnapShot: biofilms and biomaterials; mechanisms of medical device related infections. **Biomaterials** v.30 p.4247-4248, 2009.
- FONSECA, R. et al. Radiodensity and hardness of enamel and dentin of human and bovine teeth, varying bovine age. **Archives of oral Biology** . v.53: p. 1023-1029, 2008.

GADELHA, Gabrielle Abrantes. **Análise de propriedades mecânicas do esmalte dentário após hibridização utilizando fluxo eletrocínético**. Dissertação [mestrado em odontologia] - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

GAN HY, SOUSA FB, CARLO HL, MACIEL PP, MACENA MS, HAN J. Enhanced transport of materials into enamel nanopores via electrokinetic flow. **J Dent Res**. v. 4, n.94, p. 615-21, 2015.

GOMES RNS, BHATTACHARJEE TT, CARVALHO LFCS, SOARES LES. ATR-FTIR spectroscopy and μ -EDXRF spectrometry monitoring of enamel erosion caused by medicaments used in the treatment of respiratory diseases. **Microsc Res Tech**, 2018.

HANNIG M, BOCK H, BOTT B, HOTH-HANNIG W. Inter-crystallite nanoretention of selfetching adhesives at enamel imaged by TEM. **Eur J Oral Sci**. V.110, p.464.470, 2002.

HE LH, SWAIN MV. Enamel: A functionally graded natural coating. **Journal of Dentistry**. v.37, p.596-603, 2009.

LOPES CCA, Soares CJ, Lara VC, Arana-Chavez VE, Soares PB, Novais VR. Effect of fluoride application during radiotherapy on enamel demineralization. **J Appl Oral Sci**. 2018 Dec 10; 27:e20180044.

MIRANDA RR, RIBEIRO TE, SILVA ELC, SIMAMOTO JÚNIOR PC, SOARES CJ, NOVAIS VR. Effects of fractionation and ionizing radiation dose on the chemical composition and microhardness of enamel. **Arch Oral Biol**.2021.

MIYAZAKI M, SATO H, ONOSE H, MOORE BK, PLATT JÁ. Analysis of the enamel/adhesive resin interface with laser Raman microscopy. **Oper. Dent**. v.28, n. 2, p. 136-148, 2003.

NEKOOOFAR MH, GHANDI MM, HAYES SJ, DUMMER PM. The fundamental operating principles of electronic root canal length measurement devices. **Int Endod J.** v. 8, n. 39, p. 595- 609, 2006.

PASHLEY EL, TAO L, DERKSON G, PASHLEY DH. Dentin permeability and bond strengths after various surface treatments. **Dent Mater.** v.5, p. 375-378, 1989.

PARIS S, DÖRFER CE, MEYER-LUECKEL H. Surface conditioning of natural enamel caries lesions in deciduous teeth in preparation for resin infiltration. **J Dent.** v.1, n. 38, p.65-71, 2010.

PENG C, PARK S, DE SOUSA FB, GAN H, LEE SJ, WANG W, LAVENDER S, PILCH S, HAN J. Enhanced teeth whitening by nanofluidic transport of hydrogen peroxide into enamel with electrokinetic flows. **Dent Mater.** v. 11, n. 35, p. 1637-1643, 2019.

PENG C, DE SOUSA FB, GAN HY, KWON HJ, PARK S, KILPATRICK-LIVERMAN L, WANG W, LAVENDER S, PILCH S, HAN J. Enhanced Delivery of F^- , Ca^{2+} , K^+ , and Na^+ Ions into Enamel by Electrokinetic Flows. **J Dent Res.** v. 4, n. 98, p. 430-436,2019.

ROBINSON C. Filling without Drilling. **J Dent Res.** v.90, n. 11, p. 1262-1264, 2011.

SANO H. et al. Longterm durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. **J Dent Res,** v. 78, n. 4, p. 906-911, 1999.

SIMMER JP, HU JC. Dental enamel formation and its impact clinical dentistry. **J. Dent. Educ.** v.65, n. 9, p. 896-905, 2005.

SCHOCH RB, HAN J, RENAUD P. Transport phenomena in nanofluids. **Reviews of modern Physics.** v. 80, p. 839-883, 2008.

VAN MEERBEEK B. et al. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. **Oper Dent.** v. 32, p. 41-46, 2006.

XU, C E WANG, Y. Chemical composition and structure of peritubular and intertubular human dentine revisited. **Archives of Oral Biology.** v. 4, n.57, p.383-391,2012.

YUAN Y, SHIMADA Y, ICHINOSE S, TAGAMI J. Hybridization quality in cervical cementum and superficial dentin using current adhesives. **Dent Mater.** v. 5, n. 24, p. 584-93, 2008.

YING D, CHUAH GK, HSU CS. Effect of Er: YAG laser and organic matrix on porosity changes in human enamel. **Journal of Dentistry** . v. 32, p. 41-46, 2004.

LÍDIA BATISTA CONRADO MARTINS

Caracterização química do esmalte dental humano após infiltração de resina através do fluxo eletrocínético

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica. Área de concentração: Clínica Odontológica

Aprovada em 21 de fevereiro de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Hugo Lemes Carlo - Orientador
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof^a. Dr^a. Fabíola Galbiatti de Carvalho Carlo
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Luís Henrique Araújo Raposo
Universidade Federal de Uberlândia

Juiz de Fora, 10/02/2022.



Documento assinado eletronicamente por **Hugo Lemes Carlo, Professor(a)**, em 21/02/2022, às 10:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

Documento assinado eletronicamente por **Fabiola Galbiatti de Carvalho Carlo, Professor(a)**, em



21/02/2022, às 10:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luís Henrique Araújo Raposo, Usuário Externo**, em 21/02/2022, às 10:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **0675670** e o código CRC **931D3350**.