

Avaliação da associação do biosilicato® ao laser de Nd:YAG para o tratamento de cárie

Nd:YAG biosilicate® association assessment for the treatment of cárie

DOI:10.34119/bjhrv3n6-240

Recebimento dos originais:12/11/2020

Aceitação para publicação:14/12/2020

Leonardo Josias Messias

Graduação (Bacharelado em Ciência e Tecnologia)

Instituição de atuação atual: UFABC

Endereço :Rua Arcturus, 03, Bloco Delta, sala D111, Jardim Antares, São Bernardo do Campo, SP, CEP 09606-070

E-mail: l.messias@aluno.ufabc.edu.br

Patricia A. da Ana

Pós-doutorado

Instituição de atuação atual: docente do Centro de Engenharia, Modelagem e Ciências Sociais Aplicadas (CECS)/ Universidade Federal do ABC (UFABC)

Endereço :Alameda da Universidade, s/n- Jardim Antares - São Bernardo do Campo, Brasil, CEP 09606-070

E-mail: patricia.ana@ufabc.edu.br

Daniela Casimiro de Figueredo

Mestre em Engenharia Biomédica

Instituição de atuação atual: UNIVESP - Universidade Virtual do Estado de São Paulo

Endereço :Av Prof Almeida Prado, 532, Prédio 1, Térreo, Cidade Universitária, São Paulo, SP, CEP 05508-901

E-mail: danielacfigueredo@gmail.com

Matheus Del -Valle

Mestre em Biotecnologia

Instituição de atuação atual: IPEN - USP

Endereço :Centro de Lasers e Aplicações, Laboratório de Biofotônica, Av Professor Lineu Prestes, 2242, Cidade Universitária, São Paulo, Brasil, CEP 05508-000

E-mail: matheus.valle@usp.br

Juliana Kelmy Macário Barboza Daguano

Pós-doutorado

Instituição de atuação atual: docente do Centro de Engenharia, Modelagem e Ciências Sociais Aplicadas (CECS)/ Universidade Federal do ABC (UFABC)

Endereço :Alameda da Universidade, s/n- Jardim Antares - São Bernardo do Campo, Brasil, CEP 09606-070

E-mail: juliana.daguano@ufabc.edu.br

RESUMO

A cárie é uma doença infecciosa, transmissível, crônica, multifatorial e de lenta progressão. Ultimamente, há a busca pelo desenvolvimento de tratamentos minimamente invasivos das lesões cariosas com preservação estética. Uma estratégia interessante é o tratamento com Biomateriais e Laserterapia, pois permitiria uma melhor absorção e aproveitamento do Biosilicato® (BS) pelo dente lesionado com intuito de regeneração. Este estudo objetivou a investigação de métodos de aderência de BS ao dente cariado, assim como o desenvolvimento de metodologia para melhor interação do BS com o *laser* de Nd:YAG. O estudo foi conduzido em 2 fases experimentais. Na primeira, adotou-se o modelo de cárie química em dentina radicular bovina e, após, foi feito o tratamento com as partículas de BS em diferentes veículos de aplicação (água destilada, silicone e gel dental), com posterior avaliação composicional e morfológica, que mostraram a efetividade do tratamento de cárie com o BS veiculado em água destilada. Na segunda fase, a dentina cariada foi tratada com BS, associado ou não à irradiação *laser* e diferentes fotoabsorvedores, e avaliaram-se a morfologia e temperatura intrapulpal decorrentes dos tratamentos. A irradiação *laser* após a aplicação do BS, com utilização de carvão como fotoabsorvedor, possibilitou o recobrimento dos túbulos dentinários de forma uniforme, com aspecto de derretimento e recristalização do BS, proveniente do aquecimento promovido pelo *laser*. Ademais, a temperatura intrapulpal, monitorada durante a etapa de irradiação não apresentou variação superior a 5,6 °C, que é considerada crítica para a vitalidade da polpa. Em conclusão, o tratamento de BS combinado ao *laser* de Nd:YAG se mostrou promissor ao tratamento da cárie.

Palavras-chave: Engenharia Biomédica, Biomateriais, Laserterapia, Cárie.

ABSTRACT

Caries is an infectious, transmissible, chronic, multifactorial and slowly progressing disease. Lately, there is a search for the development of minimally invasive treatments of carious lesions with aesthetic preservation. An interesting strategy is the treatment with Biomaterials and Lasertherapy, because it would allow a better absorption and utilization of Biosilicate® (BS) by the injured tooth with the intention of regeneration. This study aimed to investigate methods of adherence of BS to the decayed tooth, as well as the development of methodology for better interaction of BS with the laser of Nd:YAG. The study was conducted in 2 experimental phases. In the first, it was adopted the chemical caries model in bovine root dentin and, after, it was made the treatment with the BS particles in different application vehicles (distilled water, silicone and dental gel), with subsequent compositional and morphological evaluation, which showed the effectiveness of the caries treatment with the BS conveyed in distilled water. In the second phase, the carious dentin was treated with BS, associated or not with laser irradiation and different photoabsorbers, and the morphology and intrapulpal temperature resulting from the treatments were evaluated. The laser irradiation after the application of BS, with the use of coal as photo absorber, made possible the covering of the dentinal tubules in a uniform way, with an aspect of melting and recrystallization of BS, from the heating promoted by the laser. Moreover, the intrapulp temperature, monitored during the irradiation stage, did not present a variation of more than 5.6 °C, which is considered critical for the pulp vitality. In conclusion, the combined BS treatment with the Nd:YAG laser proved promising for caries treatment.

Keywords: Biomedical Engineering, Biomaterials, Lasertherapy, Caries.

1 INTRODUÇÃO

A cárie é uma doença infecciosa, transmissível, crônica, multifatorial e de lenta progressão. Inicia-se a partir de bactérias que, mediante o metabolismo de carboidratos fermentáveis, produzem ácidos que dissolvem a matriz inorgânica dos tecidos duros dentais (desmineralização). No entanto, existem mecanismos inatos ao organismo que buscam reverter a perda de minerais, isto é, a remineralização. O surgimento de uma lesão cáriosa, portanto, está relacionado ao desequilíbrio entre desmineralização e remineralização (Featherstone, 2008; Pitts et al., 2017).

Apesar de a profilaxia com flúor ser a abordagem preferencial adotada por odontologistas em relação à cárie, tem surgido o interesse no desenvolvimento de tratamentos minimamente invasivos que paralise a progressão da lesão cáriosa antes que ocorra a cavitação e, simultaneamente, preservem tanto a funcionalidade da dentição quanto a estética (Featherstone, 2008; Pitts et al., 2017).

Nesse contexto, biomateriais como o Biosilicato[®] tornam-se atraentes para esse fim, pois são capazes de promover a remineralização de tecidos ósseos por meio da formação de uma camada de hidroxiapatita carbonatada (Crovace, Souza, Chinaglia, Peitl, & Zanotto, 2016). Além disso, estudos recentes evidenciam seu uso bem sucedido em testes *in vitro* para o tratamento de erosão dental (Chinelatti et al., 2017) e em testes clínicos para tratamento de hipersensibilidade dentinária (Tirapelli et al., 2011) e de cárie (Pintado-Palomino, de Almeida, da Motta, Fortes, & Tirapelli, 2019).

Em relação ao tratamento da lesão cáriosa, um dos desafios atuais incide na melhoria da adesão de materiais ao tecido cariado (de Moraes, Silveira, Chinelatti, Geraldeli, & de Carvalho Panzeri Pires-de-Souza, 2018). Neste sentido, *lasers* em alta intensidade, como o de Nd: YAG ($\lambda = 1064$ nm), podem promover maior integração destes materiais com a dentina ao formar uma superfície mais uniforme na interface material/tecido, bem como prolongar o efeito destes materiais (Lee, Chang, Chen, Lan, & Lin, 2005).

Desta forma, neste estudo propõe-se a associação de Biosilicato[®] ao *laser* de alta intensidade de Nd:YAG de pulsos curtos ($\lambda = 1064$ nm, $t = 5$ ns) a fim de se obter um efeito sinérgico na adesão do biomaterial com o tecido dentário e, assim, paralisar a progressão da lesão de cárie radicular. Primeiramente, diferentes veículos visando a aplicação do Biosilicato[®] foram avaliados, mediante as técnicas de reflexão total atenuada da espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (ATR - FTIR) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Após essa seleção, condições para irradiação com *laser* de Nd:YAG ($\lambda = 1064$ nm, $t = 5$ ns) associado ou não com Biosilicato[®], com e sem fotoabsorvedor, foram averiguadas mediante o

monitoramento da temperatura intrapulpar e MEV.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Considerações éticas

Este estudo recebeu aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Fundação da Universidade Federal do ABC (CEUA-UFABC) sob processo de número 9614190917 e foi realizado com a observância dos procedimentos exigidos por este mesmo comitê.

Preparação das amostras de dentina radicular

20 blocos de dentina radicular, com dimensões de aproximadamente 5,0 x 5,0 x 2,0 mm, foram preparados a partir de 10 raízes de dentes bovinos. Estes blocos dentina foram lixados manualmente com uma lixa de carbetto de silício com granulação de 600 a fim de se obter uma face plana livre de irregularidades. Depois do preparo, os blocos de dentinas foram mantidos em ambiente fechado e úmido sob refrigeração (± 4 °C, com algodão estéril umedecido em solução de timol (0,64 g/L) trocado semanalmente) até o início dos experimentos.

Indução da lesão incipiente de cárie química

Todas as amostras de dentina (n = 20) foram revestidas com verniz ácido-resistente (Impala, São Paulo, Brasil) de tal modo que apenas uma das faces ficou intacta. Posteriormente, cada uma das amostras foi submersa em uma solução desmineralizadora (2 mL/mm²), com pH = 5,0 e composição de 1,4 mM de cálcio, 0,91 mM fosfato, 0,06 ppm de flúor em 0,05 M tampão acetato, por 32 horas a 37 °C (Queiroz, Hara, Paes Leme, & Cury, 2008).

Tratamentos

As 20 amostras de dentina foram distribuídas aleatoriamente em 4 grupos (n = 5) que receberam os seguintes tratamentos:

G1: sem tratamento (controle negativo, amostras);

G2: tratamento com Biosilicato[®] veiculado em silicone gel;

G3: tratamento com Biosilicato[®] veiculado em dentifrício em gel (Boni Natural, São Paulo, Brasil);

G4: tratamento com Biosilicato[®] veiculado em água destilada.

Em cada tratamento, foi utilizada a proporção de 1:10 de Biosilicato[®] (LaMaV-UFSCar, São Paulo, Brasil) para cada veículo testado. Cada amostra recebeu o respectivo tratamento por 30 segundos e, em seguida, foi enxaguada por outros 30 segundos. Posteriormente, as amostras

foram submersas em uma solução remineralizadora (2 mL/mm²), com pH = 7,0 e composição de 1,5 mM de cálcio e 0,9 mM fosfato em 0,01 M tampão tris, por 24 horas a 37 °C (Hara, Queiroz, Giannini, Cury, & Serra, 2004).

Avaliação composicional por ATR - FTIR

Um espectrômetro (Frontier, Perkin Elmer, EUA) configurado com intervalo entre 4000 e 700 cm⁻¹, resolução de 4 cm⁻¹, 60 *scans* e acoplado a um acessório de ATR (reflexão total atenuada) foi utilizado para a obtenção dos espectros das amostras de dentina antes e após a indução das lesões de cárie química e, também, após aos tratamentos.

Para a análise semiquantitativa dos espectros, um algoritmo específico foi desenvolvido em ambiente MATLAB. Primeiramente, uma linha de base foi subtraída e o espectro foi normalizado a partir da banda de fosfato de maior intensidade (1181 – 887 cm⁻¹). Em seguida, foi efetuada a integração das áreas sob as seguintes bandas de absorção: amida I (1720-1593 cm⁻¹), amida II (1580-1510 cm⁻¹), amida III (1296-1181 cm⁻¹), a superposição dos modos de alongamento ν_3 e flexão ν_4 do carbonato (entre 1510-1300 cm⁻¹), o modo de vibração ν_2 do carbonato (887-880 cm⁻¹) e fosfato (1181-887 cm⁻¹).

Para a análise estatística, utilizou-se o método de Shapiro-Wilk para avaliar a homogeneidade e normalidade das amostras. Para a comparação entre as dentinas híginas e após a indução de cárie química utilizou-se o teste não-paramétrico de Wilcoxon. Para a comparação entre os grupos de tratamento com o Biosilicato® em diferentes veículos, por sua vez, utilizou-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Todos os testes tinham nível de significância de 5%.

Avaliação da elevação da temperatura pulpar durante irradiação *laser* associada ao Biosilicato®

Vinte dentes incisivos inferiores humanos foram higienizados e tiveram o canal radicular preenchido com uma solução de gelatina vermelha a 10%. Um acesso na região cervical até a câmara pulpar foi feito em cada dente, pela face lingual, com pontas diamantadas esféricas #1012 em alta rotação, para inserção dos termopares. As amostras, então, foram aleatoriamente distribuídas em 4 grupos experimentais:

- irradiação *laser* isoladamente;
- irradiação *laser* após aplicação de fotoabsorvedor (pasta de pó de carvão);
- irradiação *laser* após aplicação de Biosilicato®;
- irradiação *laser* após aplicação de Biosilicato® seguida da aplicação de fotoabsorvedor (pasta de pó de carvão).

Para as irradiações, foi empregado *laser Q-switched Nd:YAG Brilliant* (Quantel, EUA) do Laboratório de Biofotônica do Centro de *Lasers e Aplicações* (IPEN-CNEN/SP), sob configurações de taxa de repetição de 10 Hz, largura temporal dos pulsos de 5 ns, diâmetro ajustado do feixe de 5000 μm e energia por pulso de 280 mJ (delay L-Q 220 μs). As irradiações foram realizadas com ausência de refrigeração, por um tempo padronizado de 5 segundos, com o dente posicionado em um suporte óptico de controle micrométrico, a 1 metro de distância da saída do *laser*.

A mensuração da temperatura pulpar durante as irradiações foi aferida com termopares de resposta rápida do tipo K (chromel-alumel, Omega Engineering, Stamford, EUA), com 0,05 mm de diâmetro da ponta e sensibilidade para variações entre 0,1-100° C e foram conjugados a um conversor (NI USB 9162, National Instruments, Texas, USA) conectado a um computador. Todo o sistema pertence ao Laboratório de Biofotônica do Centro de *Lasers e Aplicações* do IPEN-CNEN/SP.

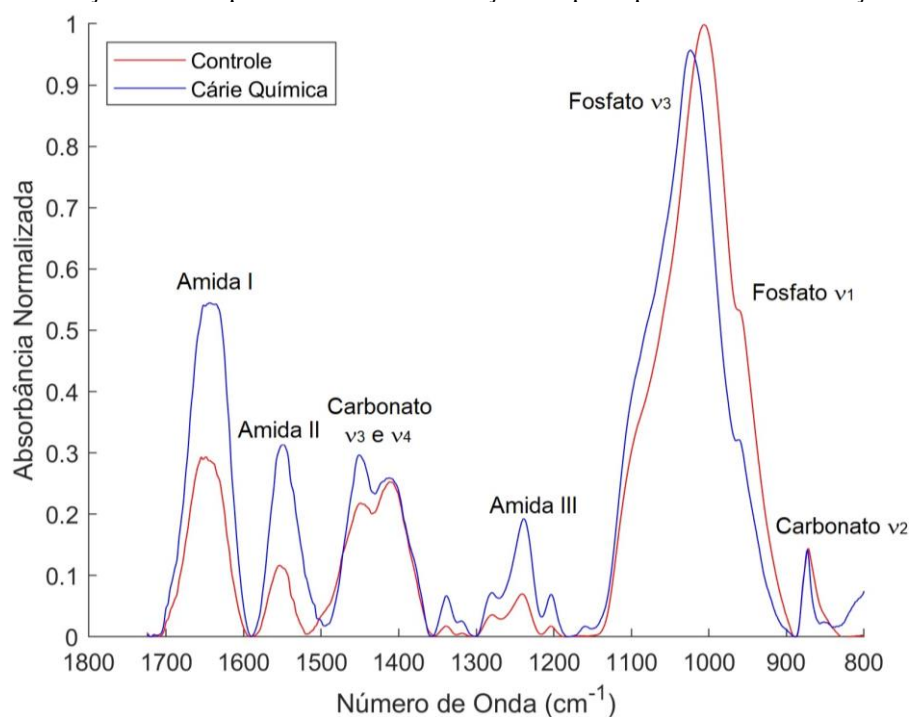
Quatro amostras oriundas dos tratamentos com Biosilicato[®] em diferentes veículos (uma de cada grupo) e outras quatro amostras oriundas dos grupos experimentais irradiados com *laser* (uma de cada grupo) foram selecionadas aleatoriamente e fixadas em suportes metálicos apropriados (*stubs*) com auxílio de fita de carbono dupla face. Em seguida, depositou-se um filme fino de ouro (espessura de 20 nm) sobre as amostras, em modo direcional, por 20 segundos em um evaporador a vácuo (*sputtering* LEICA EM ACE 200, Leica Microsystems, Alemanha). A avaliação morfológica foi efetuada empregando-se o microscópio eletrônico de varredura FEI Quanta 250 (Thermo Fisher Scientific, EUA).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação composicional por ATR-FTIR

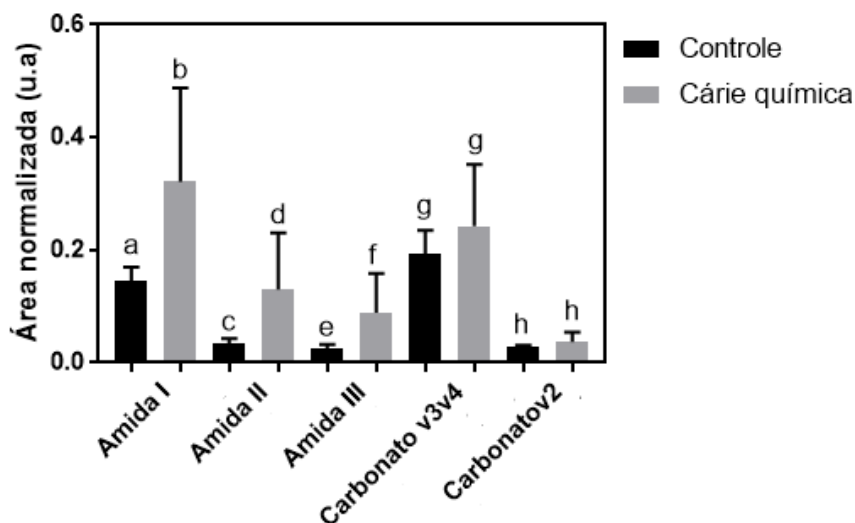
A dentina é um tecido composto por uma matriz orgânica formada principalmente por colágeno tipo I (bandas de amida I, II e III) e por uma matriz inorgânica de hidroxiapatita carbonatada (bandas de fosfato e carbonato) (Figura 1) (Zezell, Benetti, Veloso, Castro, & Ana, 2015).

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



Após a indução da lesão de cárie química, há a preservação de todas as bandas de absorção e não há a formação de nenhuma nova banda (Figura 1). No entanto, nota-se maior intensidade nas bandas relacionadas à matriz orgânica, bem como o deslocamento da banda de fosfato ν_3 (de 1003 para 1020 cm^{-1}) para um número de onda maior. Tais alterações são decorrentes do processo de desmineralização que é promovido pela cárie química (Gandolfi et al., 2018). A análise semiquantitativa (Figura 2) corroborou tais resultados ao demonstrar diferenças estatisticamente significantes nas bandas de amida I, amida II e amida III (todas com $p < 0,0001$).

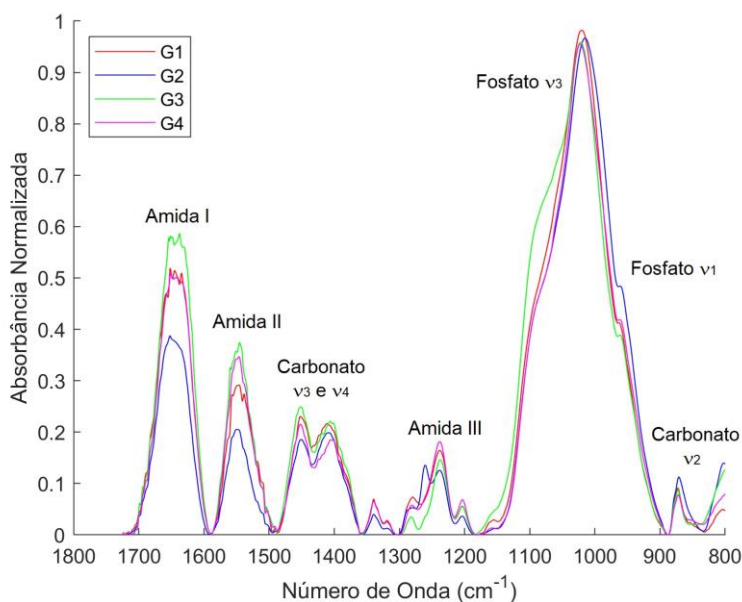
Figura 2: Valores médios, antes e após a indução da cárie química, das áreas normalizadas pela banda de fosfato. As barras de erro representam desvio padrão. Letras diferentes denotam diferenças estatisticamente significantes de acordo com o teste de Wilcoxon, com $\alpha = 0,05$.



Fonte: Do autor, 2019.

A partir da Figura 3, é possível observar a manutenção das bandas que compõem a dentina após todos os tratamentos aplicados. Nota-se, também, a formação de uma banda em 800 cm^{-1} em G2. Possivelmente, ela está relacionada ao silicone gel utilizado para a veiculação do Biosilicato®.

Figura 3: Média dos espectros de ATR-FTIR, na região entre 1800 e 700 cm^{-1} , das amostras de dentina radicular e após os tratamentos com Biosilicato® em diferentes veículos com a identificação das principais bandas de absorção.

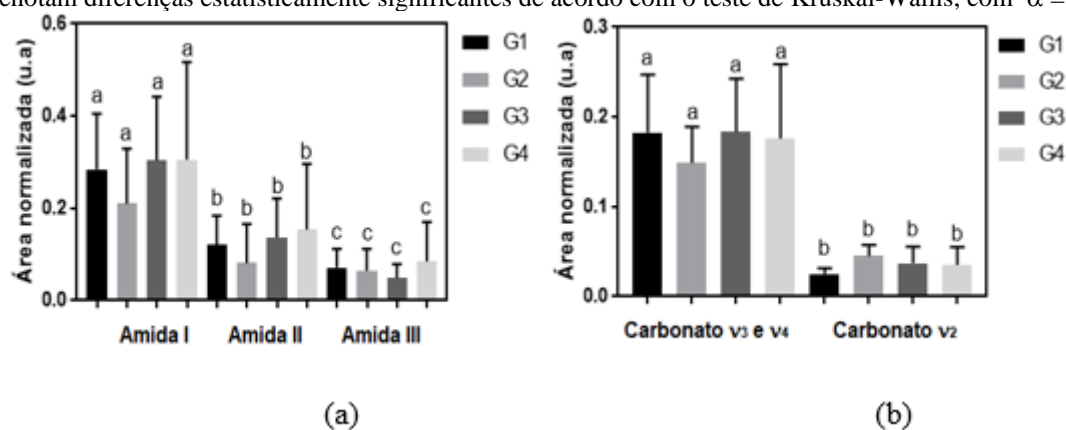


Fonte: Do autor, 2019.

Apesar dos tratamentos de remineralização com Biosilicato[®], observa-se que ainda há a exposição de material orgânico, haja vista a intensidade das bandas de amida I, II e III.

A similaridade entre os espectros médios obtidos para cada tratamento foi corroborada pela análise semiquantitativa que demonstrou a inexistência de diferenças estatisticamente significantes entre as bandas após os tratamentos (Figuras 4 a,b). Isso pode ter ocorrido por diversos fatores: o enxágue das amostras tratadas pode ter removido parte das partículas de Biosilicato[®]; pode ter havido o encapsulamento destas partículas pelo veículo utilizado nos tratamentos ou, ainda, a população amostral ($n = 5$) pode ter sido pequena para uma análise estatística adequada.

Figura 4: Valores médios, após os tratamentos com Biosilicato[®] em diferentes veículos, das áreas das bandas de (a) amida e (b) carbonato normalizadas pelo fosfato. As barras de erro representam desvio padrão. Letras diferentes denotam diferenças estatisticamente significantes de acordo com o teste de Kruskal-Wallis, com $\alpha = 0,05$.



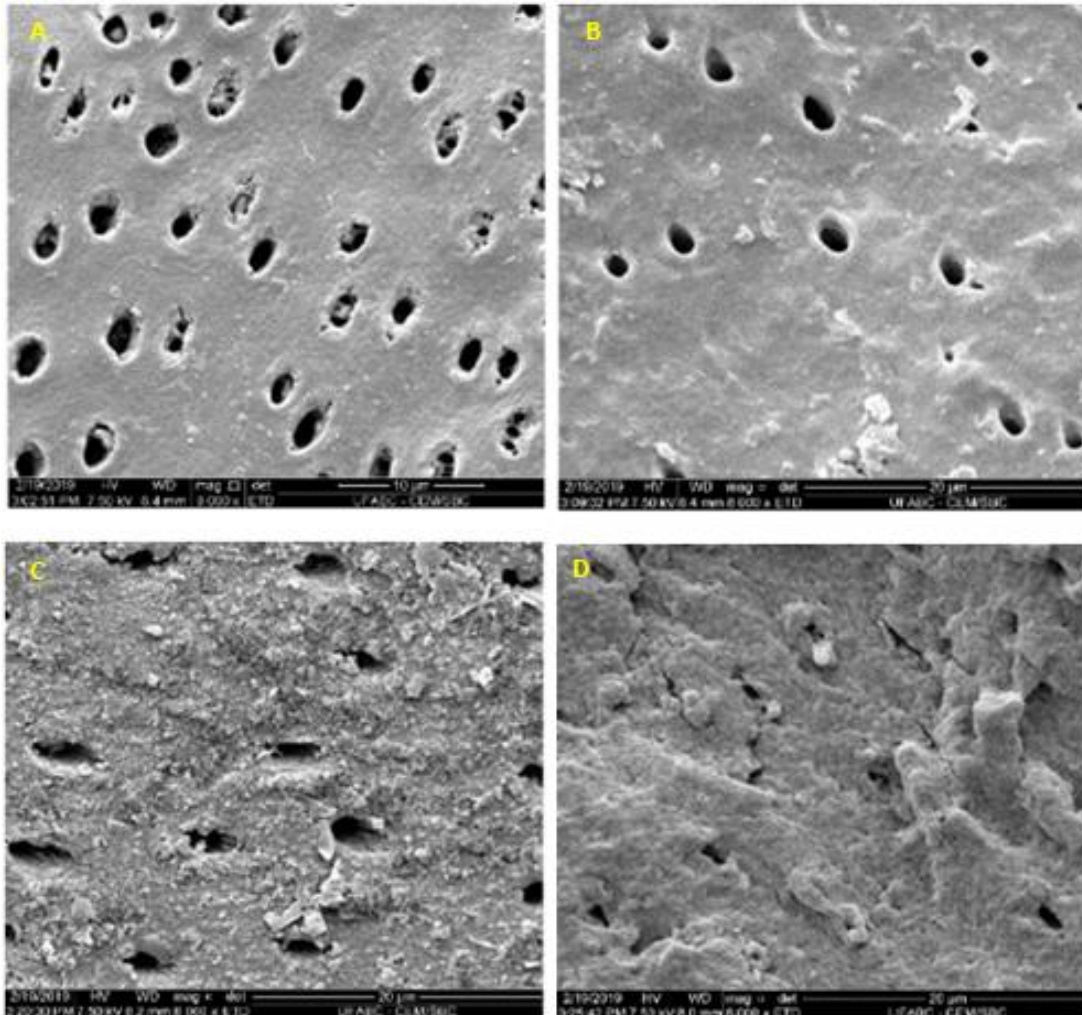
Fonte: Do autor, 2019.

Análise Morfológica por MEV após tratamentos com Biosilicato[®] em diferentes veículos

Na Figura 5(a), observa-se que a amostra de dentina radicular apresenta morfologia com túbulos parcialmente expostos, além da camada de *smear* que é oriunda do preparo da amostra por lixamento e polimento. Estas características são compatíveis com as da dentina desmineralizada, na qual há maior exposição da matriz orgânica devido à perda de minerais. As Figuras 5 (b,c) apresentam aspecto morfológico similar ao da Figura 5a. Notam-se também partículas de Biosilicato[®] que, muito provavelmente, ficaram envoltas no veículo (silicone gel e dentifrício em gel) e não sofreram o processo de dissolução que culmina na formação da hidroxiapatita carbonatada (Siqueira & Zanotto, 2011). Na Figura 5d, verifica-se que os túbulos dentinários estão parcialmente obliterados e há a formação de uma camada na superfície da dentina que pode ser hidroxiapatita carbonatada. Dentre as amostras analisadas, esta foi a que apresentou o melhor

aspecto morfológico e, por este motivo, a água destilada foi selecionada como o veículo mais adequado para o Biosilicato®.

Figura 5: Eletromicrografias das amostras dos tratamentos G1 (a), G2 (b), G3 (c) e G4 (d). Magnificação original: 8000x.



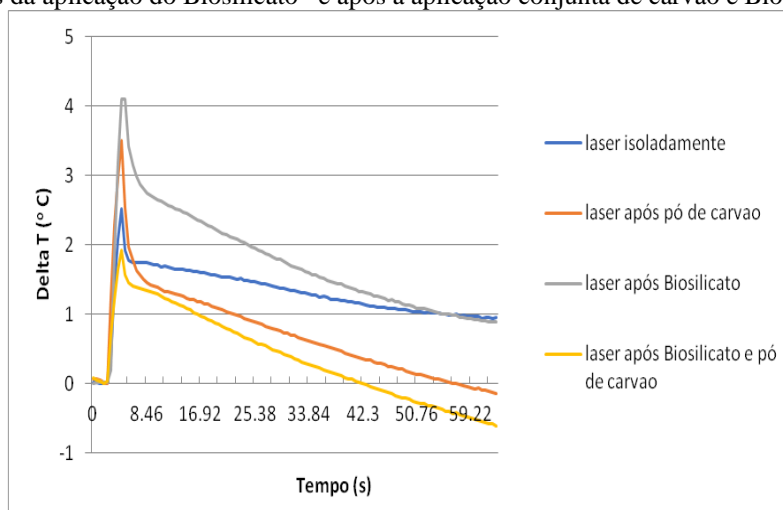
Tanto os espectros de ATR-FTIR quanto às imagens obtidas por MEV demonstram que, após os tratamentos, as superfícies das dentinas apresentam heterogeneidades, com áreas com túbulos totalmente expostos e outras áreas com túbulos parcialmente obliterados. Por este motivo, sugere-se a associação do *laser*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

Avaliação da elevação da temperatura pulpar durante irradiação *laser* associada ao Biosilicato®

A partir da Figura 6 é possível verificar que a maior elevação de temperatura ocorreu quando o Biosilicato® foi aplicado ao bloco de dentina. Em contrapartida, a menor variação de

temperatura deu-se quando se associou o carvão ao Biosilicato[®]. Uma possível explicação é que o carvão foi eficiente como fotoabsorvedor.

Figura 6: Variação da temperatura pulpar dentes incisivos inferiores humanos durante a irradiação com *laser* de Nd:YAG ($\lambda=1064$ nm, 5ns) em quatro condições distintas: apenas com o *laser*; após a aplicação do carvão (pasta absorvedora); depois da aplicação do Biosilicato[®] e após a aplicação conjunta de carvão e Biosilicato[®].

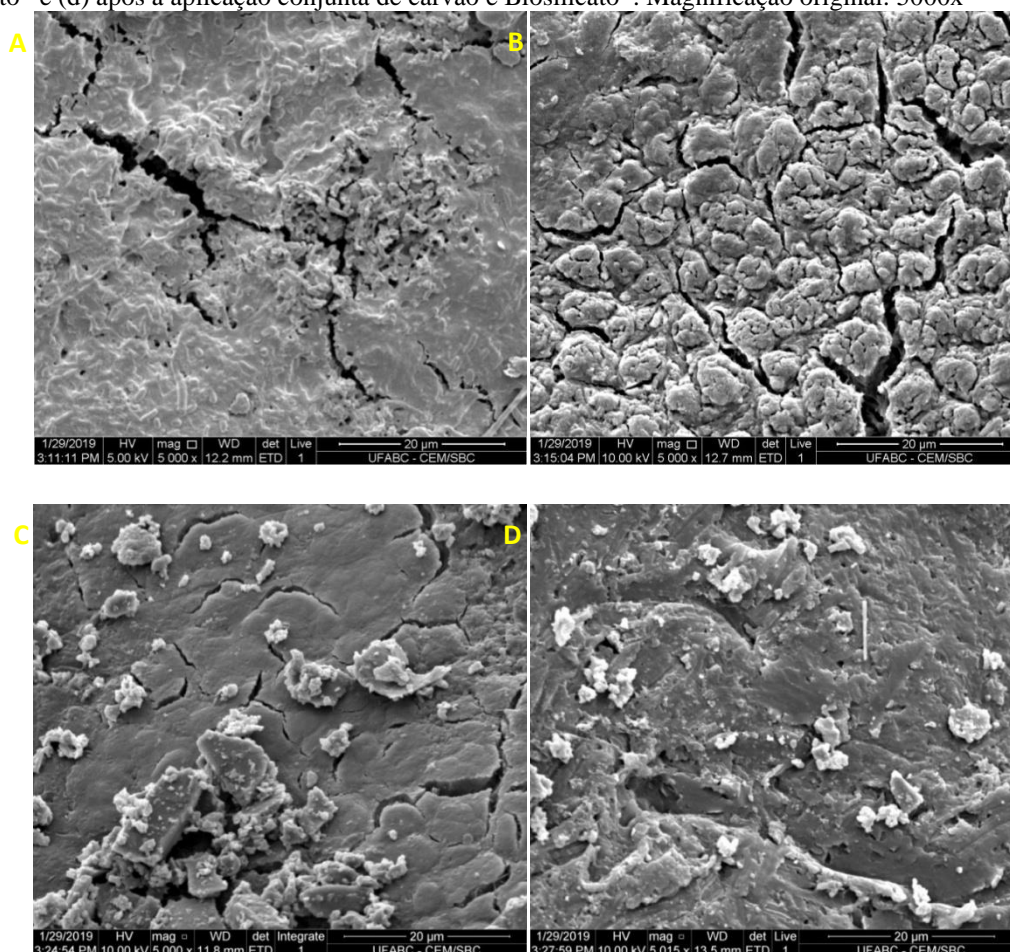


Apesar dessas considerações, é possível inferir que a temperatura intrapulpar não apresentou variações superiores a 5,6 °C, que é considerada crítica para a vitalidade da polpa (Ana, Bachmann, & Zezell, 2006), em nenhuma das condições avaliadas (Figura 6). Assim, qualquer um desses protocolos mostrou-se seguro e viável para aplicação clínica.

Avaliação morfológica após irradiação *laser*

Como pode ser observado nas Figuras 7 (a-d), o *laser* foi capaz de promover o derretimento e a recristalização tanto da superfície da dentina quanto da camada de *smear*, além de obliterar os túbulos dentinários. Em especial, na Figura 7(b), é perceptível a formação de uma superfície com formações globulares decorrentes de um maior aumento da temperatura superficial. Em 7 (c-d) observam-se superfícies recristalizadas mais uniformes com partículas de Biosilicato[®] que foram ejetadas no momento em que o *laser* foi aplicado.

Figura 7: Eletromicrografias dos blocos de dentina após a irradiação *laser* (Nd:YAG - $\lambda = 1064$ nm, 5 ns) em quatro condições distintas: (a) apenas o *laser*; (b) após a aplicação do carvão (pasta absorvedora); (c) depois da aplicação do Biosilicato® e (d) após a aplicação conjunta de carvão e Biosilicato®. Magnificação original: 5000x



Fonte: Do próprio autor, 2019.

Ainda, nota-se em Figura 7(a,b), a existência de trincas provenientes do processo de preparação da amostra para imageamento, ao passo que, em 7(c,d), as trincas são decorrentes do aquecimento promovido pelo *laser*. É importante salientar que, em 7(c,d), há regiões que se assemelham à formação de hidroxiapatita (*cauliflower pattern*) ainda em estágio inicial.

Assim, estes achados morfológicos estão em concordância com os resultados do monitoramento da variação de temperatura intrapulpar e corroboram a segurança e a viabilidade do uso do *laser* de Nd:YAG ajustado nestas configurações. No entanto, salienta-se que a melhor configuração é a que combinou a irradiação *laser* após a aplicação conjunta de Biosilicato® e pasta de carvão.

4 CONCLUSÃO

Apesar da análise semiquantitativa dos espectros de ATR-FTIR ter demonstrado a ausência de diferenças estatísticas, por meio do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, entre os

tratamentos com o Biosilicato[®] em diferentes veículos, a avaliação morfológica por MEV evidenciou uma superfície menos heterogênea e com obliteração parcial de túbulos dentinários para o G4 (cujo veículo era água destilada).

Em relação aos testes com irradiação *laser*, o grupo que combinou *laser* após a aplicação conjunta de Biosilicato[®] e pasta de carvão demonstrou a menor elevação de temperatura intrapulpal e a posse de uma superfície recristalizada, homogênea com túbulos dentinários obliterados que sugere uma boa adesão do Biosilicato[®] com auxílio do *laser*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Central Experimental Multiusuário da Universidade Federal do ABC pelo apoio técnico e ao Laboratório de Materiais Vítreos da Universidade Federal de São Carlos pela doação de Biosilicato. Esse trabalho foi financiado com a concessão de bolsas pela UFABC e Capes, com recursos da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) projeto nº 17/21887-4, PROCAD-CAPES (88881.068505/2014-01), e Instituto Nacional de Fotônica (CNPq/INCT 465763/2014-6).

REFERÊNCIAS

Ana, P.A., Bachmann, L., & Zezell, D.M. (2006). Lasers effects on enamel for caries prevention. *Laser Physics*, 16(5), 865. doi: 10.1134/s1054660x06050197

Chinelatti, M.A., Tirapelli, C., Corona, S.A.M., Jasinevicius, R.G., Peitl, O., Zanotto, E.D. (2017).

Effect of a Bioactive Glass Ceramic on the Control of Enamel and Dentin Erosion Lesions. *Brazilian Dental Journal*, 28, 489-497.

Crovace, M.C., Souza, M.T., Chinaglia, C.R., Peitl, O., & Zanotto, E.D. (2016). Biosilicate® — A multipurpose, highly bioactive glass-ceramic. In vitro, in vivo and clinical trials. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 432, 90-110. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2015.03.022>

de Moraes, R.C., Silveira, R.E., Chinelatti, M., Geraldeli, S., & de Carvalho Panzeri Pires-de-Souza, F. (2018). Bond strength of adhesive systems to sound and demineralized dentin treated with bioactive glass ceramic suspension. *Clinical Oral Investigations*, 22(5), 1923-1931. doi: 10.1007/s00784-017-2283-z

Featherstone, J. (2008). Dental caries: a dynamic disease process. *Australian Dental Journal*, 53(3), 286-291. doi: doi:10.1111/j.1834-7819.2008.00064.x

Gandolfi, M.G., Taddei, P., Pondrelli, A., Zamparini, F., Prati, C., & Spagnuolo, G. (2018). Demineralization, Collagen Modification and Remineralization Degree of Human Dentin after EDTA and Citric Acid Treatments. *Materials*, 12(1), 25.

Hara, A.T., Queiroz, C.S., Giannini, M., Cury, J.A., & Serra, M.C. (2004). Influence of the mineral content and morphological pattern of artificial root caries lesion on composite resin bond strength. *European Journal of Oral Sciences*, 112(1), 67-72. doi: 10.1111/j.0909-8836.2004.00093.x

Lee, B.S., Chang, C.W., Chen, W.P., Lan, W.H., & Lin, C.P. (2005). In vitro study of dentin hypersensitivity treated by Nd:YAP laser and bioglass. *Dent Mater*, 21(6), 511-519. doi: S0109-5641(04)00157-5 [pii]

10.1016/j.dental.2004.08.002 [doi]

Pintado-Palomino, K., de Almeida, C.V.V.B., da Motta, R.J.G., Fortes, J.H.P., & Tirapelli, C. (2019). Clinical, double blind, randomized controlled trial of experimental adhesive protocols in caries-affected dentin. *Clinical Oral Investigations*, 23(4), 1855-1864. doi: 10.1007/s00784-018-2615-7

Pitts, N.B., Zero, D.T., Marsh, P.D., Ekstrand, K., Weintraub, J.A., Ramos-Gomez, F. (2017). Dental caries. *Nature Reviews Disease Primers*, 3, 17030. doi: 10.1038/nrdp.2017.30

Queiroz, C.S., Hara, A.T., Paes Leme, A.F., & Cury, J.A. (2008). pH-cycling models to evaluate the effect of low fluoride dentifrice on enamel de- and remineralization. *Brazilian Dental Journal*, 19, 21-27.

Siqueira, R.L., & Zanotto, E.D. (2011). Biosilicato®: histórico de uma vitrocerâmica brasileira de elevada bioatividade. *Química Nova*, 34, 1231-1241.

Tirapelli, C., Panzeri, H., Lara, E.H., Soares, R.G., Peitl, O., & Zanotto, E.D. (2011). The effect of a novel crystallised bioactive glass-ceramic powder on dentine hypersensitivity: a long-term clinical study. *J Oral Rehabil*, 38(4), 253-262. doi: 10.1111/j.1365-2842.2010.02157.x [doi]

Zezell, D.M., Benetti, C., Veloso, M.N., Castro, P.A.A., & Ana, P.A. (2015). FTIR Spectroscopy Revealing the Effects of Laser and Ionizing Radiation on Biological Hard Tissues. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 26, 2571-2582.