



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

CAMILA REIS PAMPURI

**EFEITO DA APLICAÇÃO DE LASER E FOSFATO DE CÁLCIO NA
PERMEABILIDADE E RESISTÊNCIA DE UNIÃO DA DENTINA HUMANA**

2017

CAMILA REIS PAMPURI

**EFEITO DA APLICAÇÃO DE LASER E FOSFATO DE CÁLCIO NA
PERMEABILIDADE E RESISTÊNCIA DE UNIÃO DA DENTINA HUMANA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciência e Tecnologia,
Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte
das exigências para a obtenção do grau de CIRURGIÃO-DENTISTA.

Orientador: Prof. Adj. Cesar Rogério Pucci
Coorientador: Prof. Adj. Carlos Rocha Gomes Torres

São José dos Campos

2017

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2018]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Pampuri, Camila Reis

Efeito da aplicação de laser e fosfato de cálcio na permeabilidade e resistência de união da dentina humana / Camila Reis Pampuri. - São José dos Campos : [s.n.], 2017.

57 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) - Graduação em Odontologia - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2017.

Orientador: Cesar Rogério Pucci.

1. Permeabilidade da dentina. 2. Fosfato de cálcio. 3. Laser de Nd:YAG. 4. Resistência de união. I. Pucci, Cesar Rogério, orient. II. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. IV. Universidade Estadual Paulista (Unesp). V. Título.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Adj. Carlos Rocha Gomes Torres (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Odontologia Restauradora

Profa. Ass. Dra. Taciana Marco Ferraz Caneppele

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Odontologia Restauradora

Prof. Adj. Claudio Antonio Talge Carvalho

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Odontologia Restauradora

São José dos Campos, 9 de novembro de 2017.

DEDICATÓRIA

Aos meus avós paternos e maternos, por plantarem a semente da educação no jardim da nossa família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família, meu maior amor e minha maior gratidão. Obrigada por me apoiarem, por acreditarem e investirem em mim. Pai, sua presença sempre significa segurança e a certeza de que não estou sozinha nessa caminhada. Obrigada por não medir esforços para tornar isso tudo realidade, cada vitória minha é sua também! Mãe, seu cuidado e carinho por muitas vezes me deram força para seguir em frente, obrigada por cada visita e pelos colos recheados de amor, eles fizeram eu me sentir acolhida longe de casa. Cris, obrigada por assumir papel de mãe e pai por tantas vezes, você é um exemplo que busco sempre seguir e um presente de Deus na minha vida. Aos meus irmãos Alexandre, Clarisse e Vinícius deixo também o meu obrigada. Me espelho nas muitas virtudes de cada um de vocês. E não deixando de agradecer de forma grata e grandiosa aos meus avós, Ermelinda, Celso, Ilda e Acácio, a quem eu rogo todas as noites a existência desta família.

Agradeço também ao meu melhor amigo e namorado. Marius, com você eu aprendi o real significado de parceria. Obrigada pelo carinho, amor e paciência e por sua capacidade de me trazer paz na correria de cada semestre. Nesses anos você foi a minha maior fonte de alegria.

Agradeço aos meus amigos e colegas, pelas alegrias multiplicadas e tristezas divididas. Sem os momentos que dividimos nesses quatro anos não seria possível chegar até aqui. Vou levar um pedacinho de cada um de vocês comigo. Obrigada!

Agradeço também a todos os professores e técnicos que me acompanharam durante a graduação, eu posso dizer que a minha formação, inclusive pessoal, não teria sido a mesma sem eles. Minha gratidão aos meus orientadores em especial ao colega mestrando Dr. Pablo Benítez, por toda paciência, ajuda e conhecimento compartilhado. Vocês são responsáveis pela realização deste trabalho. Obrigada!

"Mantenha-se faminto por coisas novas, mantenha-se certo de sua ignorância. Continue ávido por aprender, continue ingênuo e humilde para procurar. Tenha fome de vida, sede de descobrir. ***Stay hungry, stay foolish.***" - Steve Jobs.

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
1 INTRODUÇÃO	10
2 MATERIAL E MÉTODOS	13
2.1 Delineamento experimental	13
2.1.1 Unidades experimentais	13
2.1.2 Fatores de estudo	13
2.1.3 Variável de resposta	13
2.2 Adequações e preparo dos espécimes	14
2.3 Mensuração da permeabilidade	17
2.3.1 Mensuração da permeabilidade dentinária inicial	17
2.3.2 Mensuração da permeabilidade dentinária máxima	21
2.3.3 Permeabilidade após cada tratamento	22
2.4 Divisão dos grupos experimentais	23
2.4.1 Características do laser e da técnica de irradiação	25
2.4.2 Cálculo da densidade de energia	26
2.5 Técnica restauradora	28
2.6 Ciclagem termomecânica	28
2.7 Teste de resistência à microtração	28
2.8 Forma de análise dos resultados	30
3 RESULTADOS	32
3.1 Análise estatística	32
3.1.1 Estatística para permeabilidade dentinária	32
3.1.2 Estatística para resistência de união	33
3.1.3 Correlação para teste de permeabilidade e resistência de união	36
3.2 Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)	37
4 DISCUSSÃO	39
4.1 Da Metodologia	39
4.2 Dos Resultados	43
5 CONCLUSÃO	46

REFERÊNCIAS.....	47
ANEXO.....	53

Pampuri CR. Efeito da aplicação de laser e fosfato de cálcio na permeabilidade e resistência de união da dentina humana [trabalho de conclusão de curso]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2017.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* o efeito da utilização do fosfato de cálcio e aplicação de laser na permeabilidade e resistência de união da dentina humana, modificando as técnicas de aplicações do sistema adesivo universal com a finalidade de formar uma dentina com permeabilidade reduzida. Foram utilizados discos de dentina com aproximadamente 6mm de diâmetro e 1,5mm de altura, obtidos de molares humanos hígidos. A permeabilidade dentinária foi mensurada em diferentes momentos. Os espécimes (n=40) foram divididos em dois grupos com e sem a aplicação do fosfato de cálcio e depois foram novamente subdivididos em dois subgrupos, resultando em 4 subgrupos (n=10): AL- Adesivo + Laser, FAL- Fosfato de Cálcio + Adesivo + Laser, LAL- Laser + Adesivo + Laser, FLAL- Fosfato de Cálcio + Laser + Adesivo + Laser. A aplicação do Laser Nd: YAG com energia a 60 mJ foi sem contato. Foi utilizado o sistema adesivo Single Bond Universal (3M-ESPE). Os espécimes foram submetidos a 5000 ciclos térmicos e 120.000 ciclos mecânicos, e posteriormente foi utilizado o teste de microtração. Os grupos foram comparados entre si e em cada momento da avaliação utilizando ANOVA a um fator. Os percentuais de permeabilidade inicial e após o tratamento de cada grupo foi comparado usando o teste t não pareado. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos na permeabilidade inicial ($p=0,48$) e após o tratamento ($p=0,70$). O percentual de permeabilidade após o tratamento foram (AL: 39,09; LAL: 35,78; FAL: 34,23; FLAL: 30,25). O teste t não pareado apresentou diferenças significativas apenas para os grupos LAL (Laser + Adesivo + Laser) ($p=0,005$) e FLAL (Fosfato + Laser + Adesivo + Laser) ($p=0,0001$) que promoveram uma redução significativa da permeabilidade em relação à inicial. Após a fotopolimerização do adesivo foi aplicado uma camada de 3mm com a resina composta Filtek Z350 XT (3M-ESPE) utilizando a técnica incremental. Os dados obtidos foram submetidos ao Teste de Tukey ($\alpha= 5\%$). Foi observado que na resistência de união a aplicação de Fosfato apresentou a maior média, que diferiu estatisticamente do grupo sem aplicação do Fosfato e os diferentes tratamentos não apresentaram diferenças estatisticamente significantes. Adicionalmente foram observados em microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Palavras-chave: Permeabilidade da dentina. Fosfato de cálcio. laser de Nd:YAG. Resistencia de união.

Pampuri CR. Effects of laser with calcium phosphate on permeability and bond strength in human dentin [graduation final work]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2017.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate in vitro the effect of the use of calcium phosphate and application of laser in the permeability of human dentin and bond strength, modifying the application technique of the universal adhesive system for the purpose of forming a dentine with permeability reduced. Dentine discs were used with approximately 6mm in diameter and 1,5mm height, obtained from healthy human molars. Dentin permeability was measured in four stages: initial, maximum, during treatment and after treatment. After specimens standarization (n = 40) were divided into two groups with (CFC) and without (SFC) the application of calcium phosphate and then was divided into two subgroups, resulting in 4 subgroups (n = 10): AL- Adhesive + Laser, FAL- Calcium phosphate + Adhesive + Laser, LAL- Laser + adhesive + Laser, FLAL- Calcium phosphate + Laser + Adhesive + Laser. The application of Nd: YAG laser with energy of 60 mJ was without contact. The results of permeability showed that groups LAL (Laser + Adesivo + Laser)(p=0,005) e FLAL (Fosfato + Laser + Adesivo + Laser) (p=0,0001) promoted significant reduction between inicial and final permeability. We used the Single Bond Universal (3M-ESPE) and after curing we restored with Filtek Z 350 XT (3M ESPE) of approximately 1mm in diameter. The specimens was submitted to 1000 thermal cycles, and later was used microtensile test. The data were submitted to the Tukey test ($\alpha = 5\%$). It was observed that in the bond strength the Phosphate application presented the highest mean, which differed statistically from the group without application of the Phosphate and the different treatments did not present statistically significant differences. In addition, they were observed in scanning electron microscopy (SEM).

Keywords: Permeability of human dentin. Calcium phosphate. Laser. Bond strength.

1 INTRODUÇÃO

A adesão às estruturas dentárias tem um desenvolvimento na atualidade em técnicas para melhorar a interface entre o material restaurador e tecido dental, sendo Buonocore (1955) [1] o primeiro a introduzir a técnica de condicionamento ácido em esmalte, para que resinas adesivas pudessem penetrar nos prismas de esmalte condicionado, envolvendo cristais de apatita, apresentando resistência de adesão. Posteriormente, Nakabayashi et al. (1982) demonstraram que resinas poderiam se infiltrar em dentina condicionada por ácido formando uma adesão reforçada pelo contato das fibras colágenas com o composto resinoso, gerando assim o conceito da camada híbrida [2].

Vários fatores podem colaborar na degradação da interface adesiva, porém a água exerce um papel antagônico no processo de adesão na superfície dentinária. Na dentina desmineralizada, a presença de água mantém a matriz de colágeno plenamente expandido, uma vez que esse elemento forma ligações de hidrogênio com os peptídeos das fibrilas colágenas impedindo sua aproximação, devido ao seu elevado parâmetro de solubilidade [3]. Para os sistemas autocondicionantes a água pode influenciar na diluição dos monômeros ácidos e em sua atuação na *smear layer* e na dentina subjacente [4-5].

Dessa forma, enquanto a umidade é inicialmente importante para manter os espaços interfibrilares produzidos pela remoção ácida do componente inorgânico e promover a infiltração monomérica da dentina desmineralizada [6], em excesso, pode afetar negativamente a integridade da união resina-dentina resultando na formação de uma camada híbrida com um maior número de imperfeições [7], por favorecer a separação de fases dos componentes presentes no agente de união [8]. Adicionalmente, o excesso de umidade influencia negativamente a evaporação dos solventes [9], e o processo de polimerização da resina [10]. Ainda, a presença da água torna-se um fator indispensável para ativação das metaloproteinases que promovem a degradação do colágeno [11]. Portanto a resistência da união resina-dentina e a biodegradação podem ser comprometidas com a presença de umidade em demasia.

No estudo do Tay et al. (2005) [12] onde foi utilizado o termo “*Water Trees*” para descrever canais de água dentro da camada de adesivo utilizando a metodologia da nanoinfiltração com nitrato de prata, esses canais de infiltração não apenas ocorrem na interface adesiva, também apresentam uma tendência de ultrapassar em direção a interface adesivo-resina composta. No mesmo ano Tay et al. (2005) [12] utilizaram dentina cariada translúcida para realizar a nanoinfiltração e observaram que a formação de “*Water Trees*” reduziu com a presença de túbulos dentinários ocluídos presente na dentina reacional em relação a dentina sadia, demonstrando que a infiltração do nitrato de prata pode ser contida, assim os esforços devem se concentrar no desenvolvimento de metodologias com melhor desempenho nessas condições e no desenvolvimento de técnicas que superem essa dificuldade.

A irradiação de laser sobre a superfície dentinária pode causar a desnaturação das fibras colágenas e também reduzir o conteúdo de material orgânico [13]. A redução na permeabilidade do substrato como consequência à fusão e a posterior a recristalização da superfície do tecido foi relatado por Lee et al. (2002) [20] utilizando o laser de Nd: YAG. O Nd: YAG tem sido investigado para irradiar dentina antes ou depois da aplicação do adesivo [14]. Há relatos de que quando o laser Nd: YAG foi aplicado antecipadamente ao procedimento adesivo, houve um aumento na resistência de união para adesivos de passo único [15]. Matos et al. 2000 sugere que o melhor momento para a aplicação do laser Nd: YAG é após a aplicação do adesivo, porém anteriormente à sua polimerização, Gonçalves et al. (1999) [16], descreveram que essa aplicação do laser cria uma interface formada por monômero resinoso travado em um tecido dentinário fusionado. Verificou-se também a formação de tags resinosos na dentina [17].

Quando aplicado sem associação com sistema adesivo, o laser Nd: YAG provoca uma fusão dentinária (melting) e recristalização quando o esmalte e dentina são irradiados, resultando em uma superfície com a morfologia similar à de lava e sem microrganismos [18]. Na superfície da dentina, a irradiação com esse laser promove uma mudança física, morfológica e química, criando uma superfície irregular, fusionada ou com a evaporação da *smear layer*, apresentando túbulos dentinários parcialmente fechados, e os componentes orgânicos evaporados [19].

Dessa forma nota-se o potencial do laser de Nd: YAG na obtenção de uma superfície dentinária com permeabilidade reduzida evitando a influência da degradação causada pela presença da água, independente do momento em que ocorre a irradiação.

Embora a irradiação direta do laser na dentina seja vantajosa, por diminuir a permeabilidade dentinária [20], e conseqüentemente promover a prevenção da degradação do colágeno no processo adesivo, não há evidências na literatura que demonstrem que a aplicação do laser diretamente na dentina, ou combinado com tratamentos superficiais alternativos anteriormente à aplicação do sistema adesivo. Dessa forma tais tratamentos podem gerar uma nova capacidade de interação dos sistemas adesivos na superfície dentinária anteriormente fusionada. A aplicação do Laser por meio de diferentes técnicas pode promover a formação de uma dentina modificada pela formação do “*melting*”, que apresenta menor permeabilidade e conseqüentemente menor quantidade de água dificultando as degradações provenientes da presença do excesso de umidade na interface adesiva, torna-se relevante lembrar que a presença da água também é fundamental para a ativação das MMPs, ou seja, na ausência de água as MMPs não podem ser ativadas [21].

Portanto, torna-se relevante investigar a permeabilidade dentinária e o desempenho da resistência de união de um sistema adesivo universal aplicado em momentos diferentes com a combinação com o Laser e com a utilização do fosfato de cálcio, pois a permeabilidade pode influenciar com maior ou menor intensidade fatores que regulam o processo de adesão dos sistemas adesivos. Adicionalmente foi observado a interferência desses fatores na qualidade da interface resina-dentina por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Delineamento Experimental

Para o teste de permeabilidade a análise estatística foi realizada por meio do percentual de redução da permeabilidade em relação aos valores máximos (P%), por outro lado para o teste de microtração será utilizado os valores da resistência de união (Mpa) dos palitos de dentina.

2.1.1 Unidades experimentais

“Discos” de dentina humana
“Palitos” de resina composta

2.1.2 Fatores de estudo

Tratamento em 4 níveis (permeabilidade e microtração):

- a) FAL- Fosfato de Cálcio + Adesivo + Laser;
- b) FLAL- Fosfato de Cálcio + Laser + Adesivo + Laser;
- c) AL- Adesivo + Laser;
- d) LAL- Laser + Adesivo + Laser.

2.1.3 Variável de resposta

Percentual de permeabilidade (permeabilidade).

Resistência de união (MPa) (microtração).

2.2 Adequações e preparo dos espécimes

Quarenta terceiros molares humanos recém extraídos e livres de caries foram coletados após consentimento livre e esclarecido dos pacientes. O trabalho foi submetido à aprovação do comitê de ética e pesquisa com seres humanos Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP. Os dentes foram armazenados em água destilada a 4°C, trocada 1 vez por semana, até o momento da utilização, não excedendo o período de 6 meses (ISO 11405).

Para obtenção de amostras circulares de dimensões padronizadas, primeiro as raízes dos dentes foram embutidas em resina acrílica autopolimerizável (Jet-Artigos Odontológicos, Clássico, São Paulo, SP, Brasil) vertida em tubo de PVC (poli cloreto de vinila) que foi encaixado em uma matriz de silicone industrial – Rodhorsil (Clássico, São Paulo, SP, Brasil) (Figura 1A) com medidas internas de 2 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura, permanecendo toda a coroa exposta e a superfície oclusal paralela à base da resina acrílica (Figura 1B).

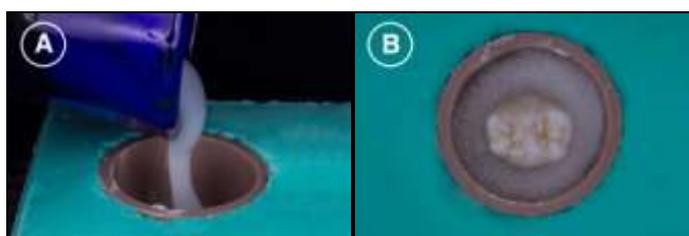


Figura 1- Preparo dos dentes para obtenção dos espécimes. a) Inclusão da resina acrílica; b) Vista frontal do dente incluído.

Realizaram-se duas secções, a primeira na superfície oclusal de esmalte foi removida com disco diamantado de dupla face montado em uma cortadora de precisão (Labcut 1010, Extec Technologies Inc., Enfield, CT, EUA) (Figura 3A e 3C), sob refrigeração à água, expondo uma superfície plana de dentina oclusal (Figura

3D).

Em seguida, foi utilizada a Máquina para Corte de Amostras Circulares (Micro Mill – Washington, EUA)(Figura 3B), as coroas dentais embutidas em tubo de PVC foram fixadas em uma base posicionadora para permitir o corte das amostras cilíndricas de dentina (Figura 3E), com exatamente 6 mm de diâmetro utilizando uma broca trefina revestida por diamante com irrigação constante e após o término do corte foram levados novamente a uma cortadora de precisão (Figura 3F)(Labcut 1010, Extec Technologies Inc., Enfield, CT, EUA) para o segundo corte a 3mm do primeiro corte para separação da porção radicular (Figura 2G e 2H).

A seguir as amostras foram levadas a uma politriz circular com lixa 600 a 300rpm sob refrigeração com água (Figura 4A) (Fepa-P, Extec, Enfield, CT, USA), com auxílio de um dispositivo metálico para remover todo o excedente de esmalte (Figura 4B e 4C), obtendo-se um espécime de superfície plana com exatamente 1,6 mm de espessura em dentina e a superfície foi polida com lixas 2400 e 4000 (Fepa-P, Extec, Enfield, CT, USA), por 30s em cada uma, obtendo-se espécimes com espessura padronizada de 1,5 mm e adequada lisura superficial. Para identificar o lado pulpar do espécime, um pequeno risco foi realizado sobre essa superfície utilizando uma lâmina de bisturi número 12 (Med Blade), para verificação de trincas e uma superfície de dentina sem a presença de ilhas de esmalte as amostras foram observadas em estereomicroscópio eletrônico com aumento de 40x (steREO Discovery V20, G ttingen, Germany) (Figura 4D e 4E).

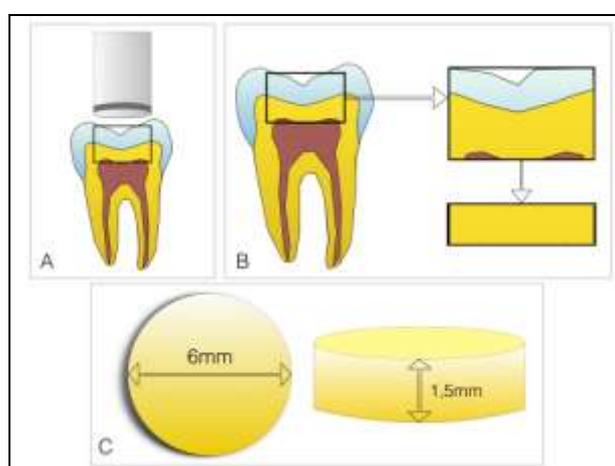


Figura 2 – Preparo dos espécimes: A) Posicionamento da face oclusal do molar na broca; B) Obtenção do espécime cilíndrico cortado; C) Espécime cilíndrico com as dimensões finais.

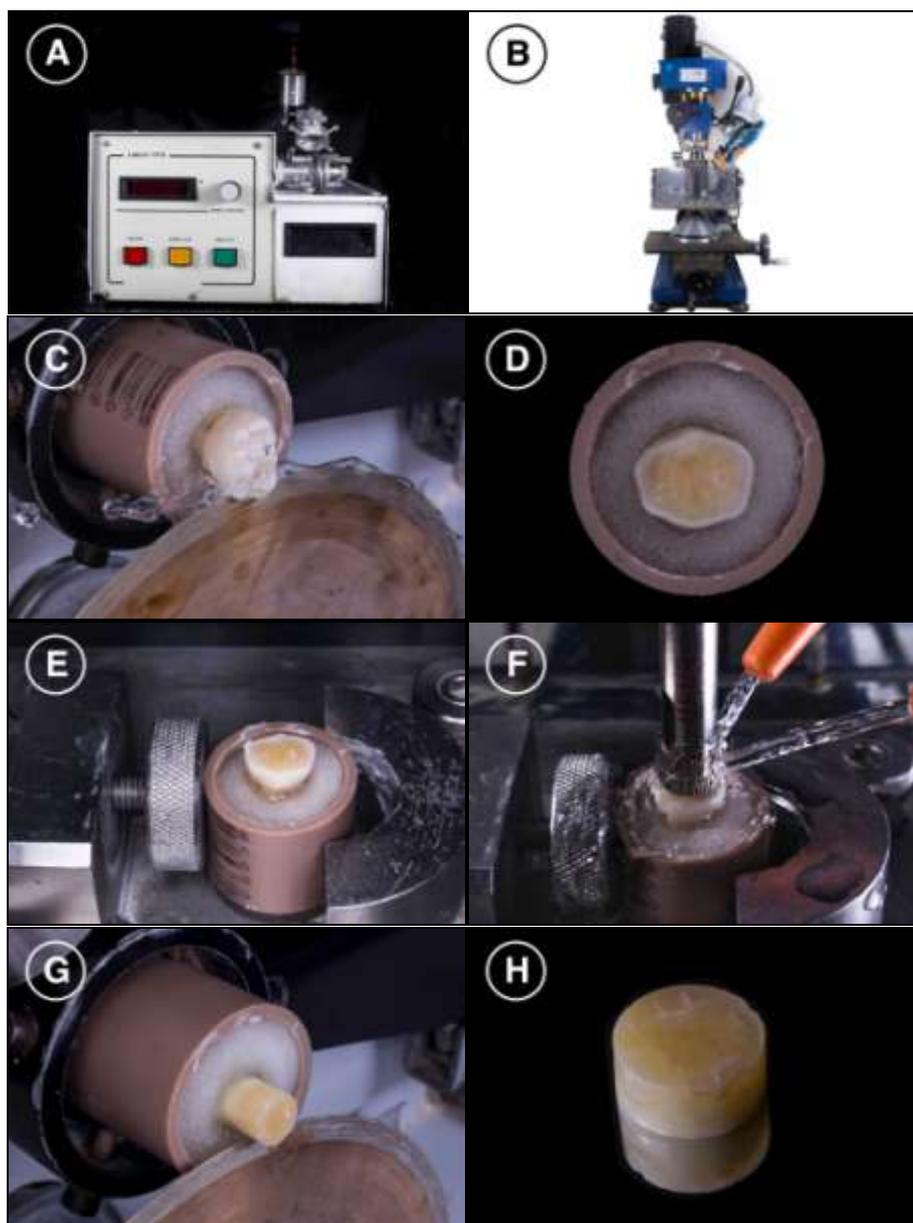


Figura 3- Preparo dos espécimes. a) Cortadora de precisão (Labcut1010); b) Máquina para corte de amostras circulares; c) Secção da superfície oclusal do dente; d) Vista frontal do dente incluído sem superfície oclusal; e) Alinhamento da superfície oclusal do dente incluído para que fique perpendicular ao longo eixo da trefina; f) Corte do dente de 6mm para obtenção da amostra circular através de uma broca trefina diamantada com irrigação de água; g) Segunda secção para separação do espécime da porção radicular; h) Espécime cortado.

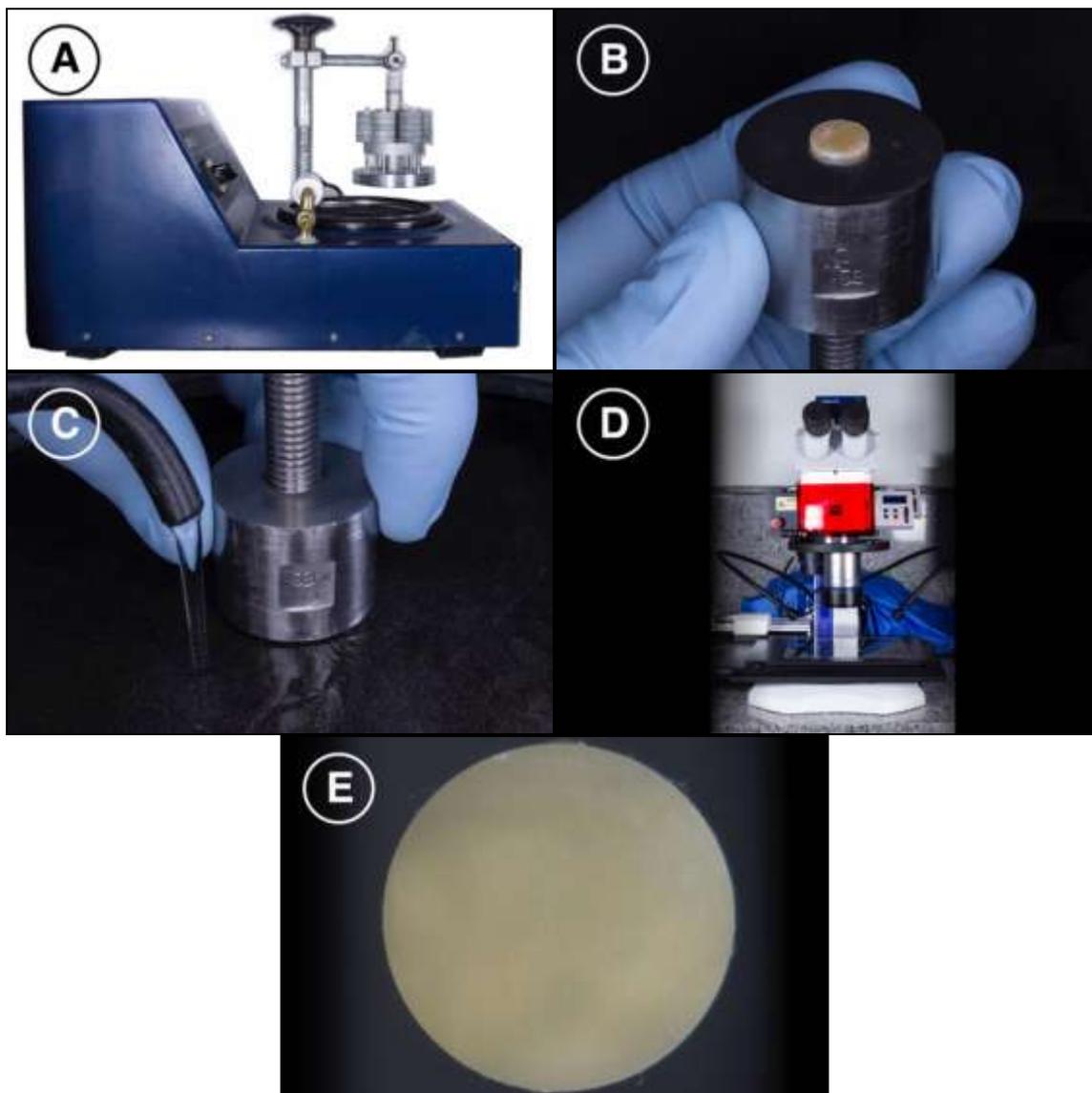


Figura 4- Padronização da espessura da amostra. a) Politriz circular; b) Posicionamento da amostra no orifício do dispositivo metálico; c) Desgaste na politriz; d) Estereomicroscópio eletrônico (steReo Discovery V20); e) Imagem da amostra do lado da dentina observada em estereomicroscópio eletrônico.

2.3 Mensurações da permeabilidade

2.3.1 Mensurações da permeabilidade dentinária inicial

Para a análise quantitativa da condutividade hidráulica, utilizou-se o sistema proposto por Pashley et al. (1981) [22], o qual foi especialmente desenvolvido para medição da permeabilidade dentinária. Para permitir a mensuração inicial da permeabilidade nessas amostras, a *smear layer* formada do lado pulpar dos espécimes foi removida utilizando ácido fosfórico a 37% por 15 segundos [23] (Figura 5).

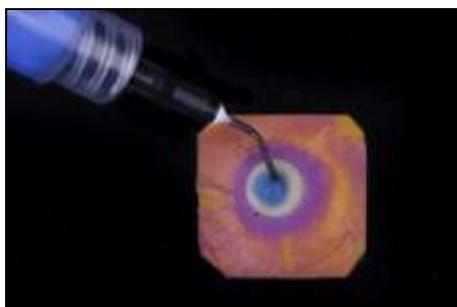


Figura 5- Remoção do *smear layer* do lado pulpar.

A mensuração da permeabilidade foi realizada utilizando o modelo de câmara dividida (split chamber) através do aparelho THD-02b (Figura 6A e 6B)(Odeme Equipamentos Médicos e Odontológicos Ltda, Joaçaba, SC, Brasil). A câmara de perfusão permite a colocação do disco de dentina, exatamente na mesma posição, entre dois anéis de borracha do tipo O'Ring com abertura central de diâmetro padronizado (Figura 6C), os quais proporcionaram uma adequada vedação e determinando uma área de superfície dentinária padronizada de $0,075 \text{ cm}^2$ exposta a pressão de 10 psi do lado pulpar (Figura 6D).

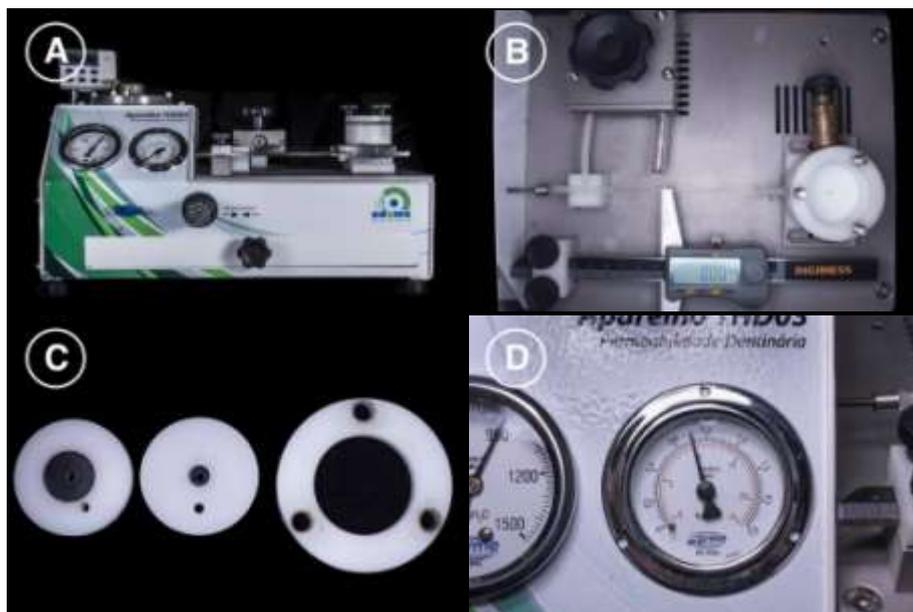


Figura 6- Descrição do aparelho THD-02b. a) Aparelho para mensuração da permeabilidade dentinária; b) Peças que compõem a máquina de permeabilidade; c) Anéis de borracha do tipo O'Ring; d) Manômetro regulado a pressão de 10 psi.

Para a montagem dos discos de dentina na máquina coloca-se na câmara dividida, o O-ring inferior do lado da câmara pulpar do disco dentinário, depois posiciona-se o O-ring superior na amostra na parte superior que representa a face oclusal do dente, sendo que do lado da amostra da câmara pulpar foi colocado em contato com a água ultrapura sob pressão, enquanto o outro lado relativo a câmara pulpar ficou em contato com o ambiente em pressão atmosférica (1 atm) (Figura 7C, 7D, 7E, 7F e 7G). A água sai do reservatório e passou através de um tubo capilar, seguindo até a câmara de perfusão. Após o preenchimento de todo o sistema com a água ultrapura [66], uma pequena bolha de ar foi inserida através de uma seringa micrométrica penetrando no interior do capilar (Figura 7B).

A taxa de movimento de fluido na dentina foi mensurada seguindo-se o deslocamento linear da bolha de ar dentro de um tubo capilar, através do qual passa a água, utilizando um paquímetro digital com resolução de 0,01 mm (Figura 7A), realizando-se três medidas consecutivas do movimento da bolha através do capilar, a fim de computar os valores médios de P_{Min} para cada disco de dentina. Essas medidas eram representadas pela distância percorrida da bolha em mm/min [24,25] (Figura 7H).

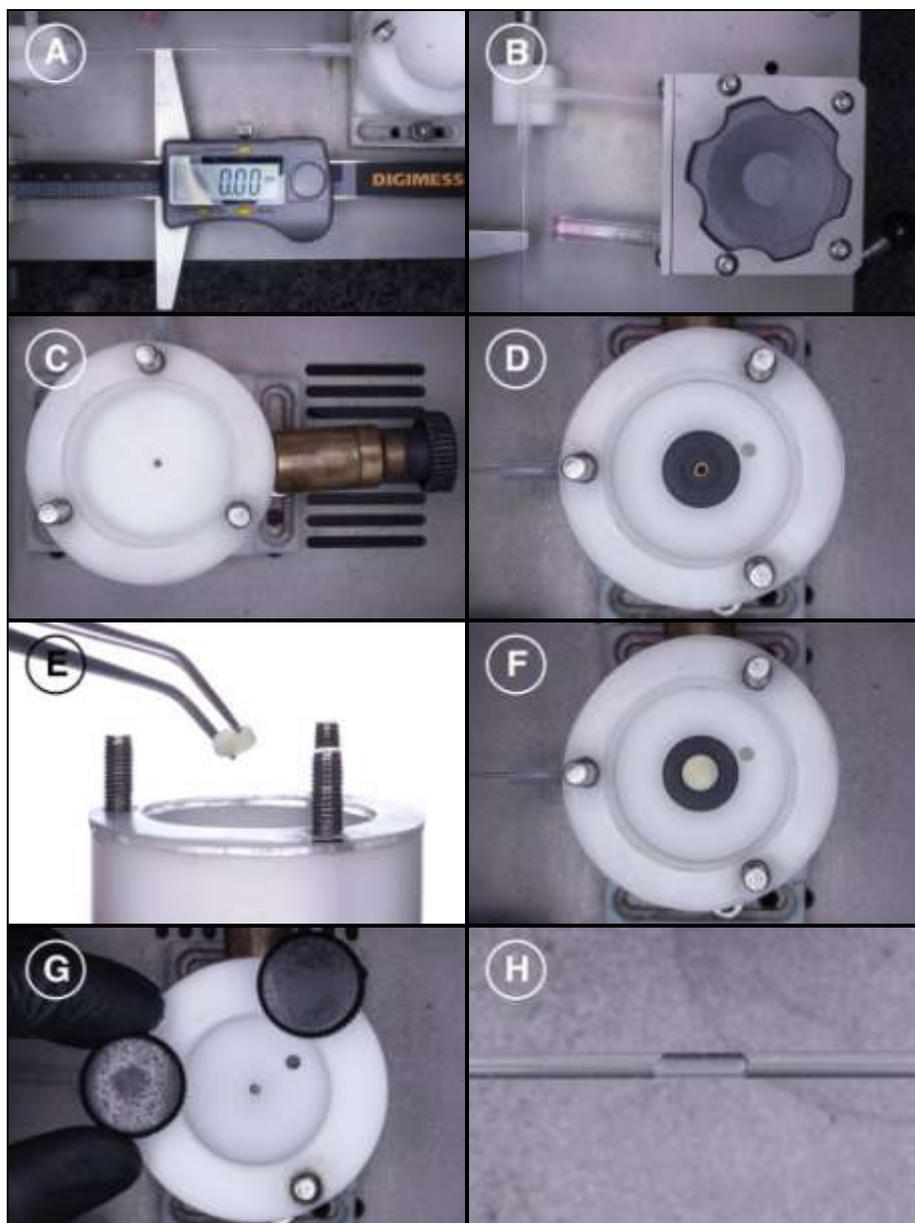


Figura 7- Montagem da amostra na câmara de perfusão. a) Paquímetro digital, o qual medirá a taxa de movimento do fluido através da dentina pelo deslocamento linear da bolha de ar; b) Seringa micrométrica; c) Câmara de perfusão; d) Encaixe do O ring inferior; e - f) Posicionamento da amostra; g) Posicionamento do O'ring superior e trava em forma de anel com 3 roscas; h) Bolha de ar se deslocando pelo capilar de vidro.

Para que os cálculos da passagem dos fluidos pela dentina fossem realizados, inicialmente foi calculada a constante de proporcionalidade (CP) do movimento linear da bolha, dentro do tubo capilar, em relação ao volume de água deslocada. Como o capilar tem o diâmetro do calibre interno (DC) constante,

dividindo-se o volume interno de todo capilar (VI) em μL pelo seu comprimento (CO) em mm, obtém-se uma constante de proporcionalidade (CP) (Santiago. et al., 2006) [25]. Como o capilar tem um volume interno de 50 μL e 101 mm de comprimento total, o valor da constante de proporcionalidade será de 0,495.

A taxa de filtração (**Q**), medida em $\mu\text{L}.\text{min}$, é o volume da solução que passou através dos túbulos dentinários e constatado através do deslocamento (**DL**) de uma bolha de ar introduzida no capilar em mm, sob pressão conhecida e constante, multiplicado pela constante de proporcionalidade (**CP**) e dividido pelo tempo de filtração (**T**) que percorre em minutos [26]. Para cada leitura foi utilizado um tempo de filtração de 2 minutos. Três leituras foram realizadas sucessivamente em cada disco, obtendo-se três valores de deslocamento linear (DL), dos quais será obtida uma média que será utilizada para o cálculo da taxa de filtração (Q) [26].

A permeabilidade dentinária foi expressa em valores de condutância hidráulica (L_p) [24,25,26,42]. A condutividade hidráulica (L_p) é entendida como o resultado do coeficiente entre a filtração dentinária (Q) e a pressão hidrostática (P), multiplicada pela área da superfície dentinária exposta (AS). Essas medidas podem ser obtidas pelas seguintes equações:

$$Q = (DL \times CP)/T$$

$$L_p = Q / AS(P_1 - P_2)$$

L_p = condutância hidráulica e pressão em $\mu\text{L}.\text{cm}^{-2}.\text{min}^{-1}.\text{cm H}_2\text{O}^{-1}$, **Q** = Taxa de filtração em $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$, **AS** = área de superfície em cm^2 , **P₁** = pressão hidrostática da solução dentro da câmara em cmH_2O e **P₂** = pressão atmosférica em $\text{cm H}_2\text{O}$.

A pressão hidrostática (P) foi convertida em $\text{cm H}_2\text{O}$ e mantida constante em 703,1 $\text{cm H}_2\text{O}$ durante todo o experimento. A área de superfície (AS) foi determinada pelo diâmetro dos espaçadores da câmara de filtração em 0,075 cm^2 .

2.3.2 Mensurações da permeabilidade dentinária máxima

Para simular a dentina com túbulos abertos presentes em áreas hipersensíveis, a *smear layer* das superfícies dentinárias externas, voltadas para o esmalte, foi removida usando ácido cítrico a 0,3% por 30 segundos em ultrassom (Figura 8) (Ultrasonic Cleaner 1440D, Odontobrás Indústria e Comércio, São Paulo,SP, Brasil) [22].



Figura 8- Remoção de *smear layer* para permeabilidade máxima.

Após a abertura dos túbulos da superfície externa, a leitura da permeabilidade dentinária foi repetida em cada espécime através do aparelho de permeabilidade, conforme descrito anteriormente. Será obtido então o valor da condutância hidráulica máxima de cada amostra ($L_{p_{max}}$), representando a abertura total dos túbulos dentinários. Após a leitura, eles foram imersos novamente na água ultra pura (MEGApurity, Water Purification System, Billerica, USA) e lavados em ultrassom por 10 minutos (Ultrasonic Cleaner 1440D, Odontobrás Indústria e Comércio, São Paulo,SP, Brasil).

2.3.3 Permeabilidade após cada tratamento

A permeabilidade de cada amostra, em cada momento da leitura após os respectivos tratamentos, foi calculada proporcionalmente como um percentual em relação à condutância hidráulica máxima, obtida após a abertura dos túbulos, a qual foi considerada uma permeabilidade de 100% [24,43,25]. A seguinte fórmula foi

aplicada:

$$P\% = (L_p \times 100) / L_{p\max}$$

P% = Percentual de permeabilidade em relação ao valor máximo; L_p = Condutância hidráulica em cada momento; L_{pmax} = condutância hidráulica máxima com os túbulos abertos.

2.4 Divisão dos grupos experimentais

Para a realização dos tratamentos, os dentes foram divididos em dois grupos de acordo com a aplicação do fosfato de cálcio e cada grupo, por sua vez, foram subdividido novamente em dois subgrupos, os materiais foram utilizados de acordo com a indicação dos fabricantes:

a) Com fosfato de cálcio (CFC):

- grupo FAL, foi aplicado o *TeethMate Desensitizer* (Kuraray Notitake Dental Inc.) e o adesivo *Single Bond Universal* (3M-ESPE) foi aplicado ativamente em duas camadas durante 20 segundos e posteriormente foi aplicado um jato de ar (Figura 9C), em seguida foi feita a polimerização por 10 segundos (Figura 9D). O Laser de Nd: YAG foi aplicado em seguida a 1 mm de distância e perpendicular à superfície dentaria com comprimento de onda de emissão de 1,096 μm, não contato a 60 mJ de energia por pulso e 10 Hz, varrendo-se uma área média de 6 mm de diâmetro por 60 segundos utilizando a fibra ótica de quartzo com diâmetro de 320 μm, original do aparelho, e a largura do pulso de 0,1ms, com densidade de energia de 74,64 J/cm² (Figura 9B). Em seguida foi feita a polimerização por 10 segundos.
- grupo FLAL, os procedimentos para utilização do *TeethMate Desensitizer* (Kuraray Notitake Dental Inc.) foram exatamente iguais ao grupo anterior, entretanto após disso foi aplicado o Laser de Nd: YAG, com a finalidade de

fusão e recristalização da hidroxiapatita dentinária em presença do fosfato de di e tetracálcio especulando a redução da permeabilidade dentinária e em seguida o adesivo *Single Bond Universal* (3M-ESPE) e novamente o Laser de Nd: YAG conforme descrito por Gonçalves et al. (1999) e Matos et al. (1999) [16,28]. Em seguida foi feita a polimerização por 10 segundos.

b) Sem fosfato de cálcio (CFC):

- grupo AL, foi feito a aplicação do sistema adesivo *Single Bond Universal* (3M-ESPE) e em seguida o Laser de Nd:YAG conforme descrito nos outros grupos.

- grupo LAL, foi feito a aplicação do Laser de Nd:YAG, com a finalidade de fusão e recristalização da hidroxiapatita dentinária especulando a redução da permeabilidade dentinária, em seguida o sistema adesivo *Single Bond Universal* (3M-ESPE) e novamente a aplicação do Laser de Nd:YAG, conforme descrito por Gonçalves et al. (1999) [27]; Matos et al. (1999) [28].

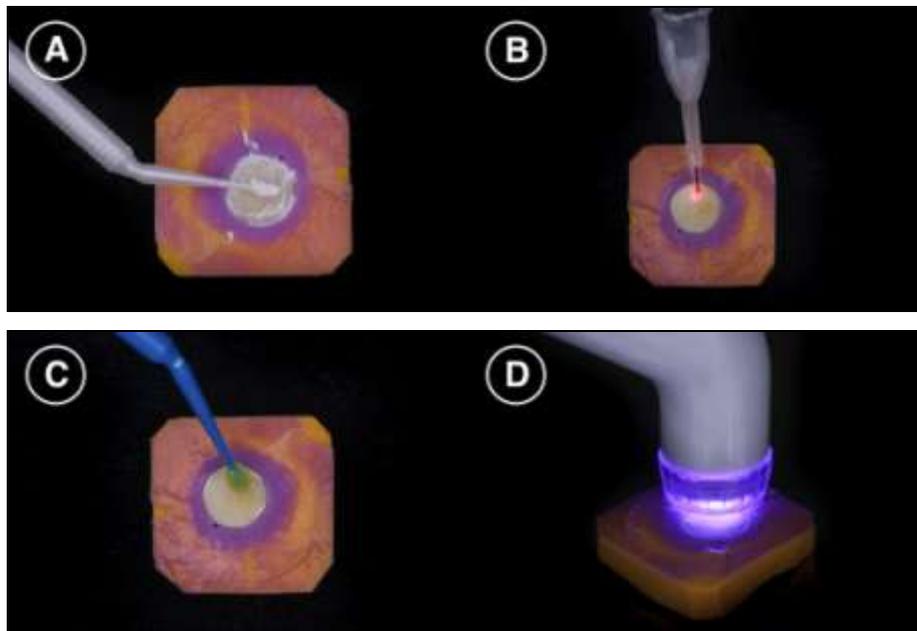


Figura 9- Tipos de tratamento em dentina. a) Aplicação de TeethMate Desensitizer; b) Aplicação de laser Nd:YAG; c) Aplicação de Adesivo Single Bond Universal; d) Fotopolimerização depois da última aplicação do tratamento.

Dessa forma foram obtidos 4 subgrupos (n=10). A figura 10 mostra a divisão experimental dos grupos.



Figura 10 - Delineamento dos grupos da pesquisa.

2.4.1 Características do laser e da técnica de irradiação

Foi utilizado o aparelho Nd:YAG Laser (Nd:YAG Pulse Master 600 IQ Laser, American Dental Technologies, Corpus Christi, Texas, EUA)(Figura 10A), com comprimento de onda de emissão de 1,096 μm . O Nd:YAG Laser foi focado a 1 mm e perpendicular à superfície dentária, sem contato [28,30], varrendo-se uma área média de 6 mm de diâmetro por 60 segundos. No experimento, foi utilizada a fibra ótica de quartzo com diâmetro de 320 μm , original do aparelho, e a largura do pulso de 0,1 ms. A etapa de irradiação do Nd:YAG Laser foi realizada por um único operador calibrado para manter padronizada a distância de 1 mm à superfície dentária.

2.4.2 Cálculo da densidade de energia

A energia é uma grandeza física que expressa a quantidade de luz de *Laser* depositada no tecido irradiado, e depende do tempo de exposição no tecido em s, sendo expressa em J [29]. A densidade de energia, fluência ou dose de energia é o parâmetro mais importante para discutir os resultados obtidos. Pois essa é a grandeza que permite avaliar a dose de estimulação, inibição ou a não-manifestação dos efeitos no tecido irradiado [30].

A densidade de energia (DE) é taxa de energia por unidade de área aplicada no tecido irradiado, expressa em J/cm^2 [29]. Para o substrato dentina, foram utilizados os seguintes parâmetros: 60 mJ de energia por pulso e 10 Hz (ou 10 pps) de frequência (Figura 10B). A fibra ótica de quartzo utilizada possui diâmetro de 320 μm . Para o cálculo da área de secção transversal da fibra ótica do *Laser*, utilizou-se a equação:

$$A = \pi \cdot r^2$$

Onde A é a área de secção transversal, π é a constante matemática 3,1415 e r é o raio da fibra ótica 0,016 (expressa em cm). A área calculada da secção transversal para cada pulso foi 0,00080384 cm^2 .

Para cálculo da DE (densidade de energia) na dentina, utilizou-se a equação:

$$DE = E / A$$

Onde DE é a densidade de energia, E é a energia irradiada 0,06 (expressa em J) e A é a área da secção transversal da fibra ótica 0,00080384 (expressa em cm^2). A DE a ser utilizada para a dentina será de 74,64 J/cm^2 .

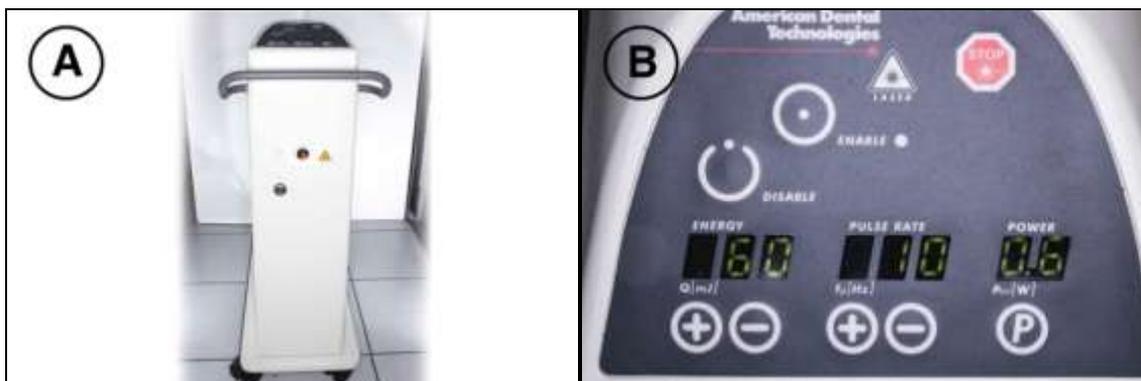


Figura 11- Características do laser. a) Laser de Nd:YAG; b) Energia aplicada.

Todos os materiais, fabricantes e composições estão listados no Quadro 1.

Quadro 1 - Materiais utilizados no estudo: material, marca comercial, fabricante e composição

Material	Marca Comercial	Fabricante	Composição
Ácido fosfórico	Magic Acid	Vigodent/ Rio de Janeiro, RJ	Ácido Fosfórico 37%
Sistema Adesivo	Single Bond Universal	3M ESPE, St. Paul, MN, EUA	MDP, Bis-GMA, HEMA, diuretano dimetacrilato, copolímero do ácido polialcenólico, canforoquinona, água, etanol, glicerol, dimetacrilato, nanopartículas de sílica
Resina composta	Filtek-Z 350XT	3M ESPE, St. Paul, MN, EUA	Bis-GMA, UDMA, TEGDMA, Bis-EMA, nanosílica filler, zircônia/ partículas de sílica
Laser de Nd: YAG	Pulse Master 600 IQ	American Dental Technology- USA	Comprimento de onda de 1,064 μ m e fibra óptica de 320 m.
Desensibilizante	TeethMate Desensitizer	Kuraray Notitake Dental Inc.	Powder: Tetra-calcium phosphate, dicalcium phosphate anhydrous Liquid: Water, preservative

2.5 Técnica Restauradora

Após a aplicação das diferentes técnicas adesivas, foram adicionados 2 incrementos de 1,5 mm de espessura da resina composta nanoparticulada (Filtek Z 350 XT - 3M-ESPE - Cor A2) em todos espécimes. Estes foram fotoativados, um de cada vez, por 20 s, a uma distância padronizada, com o aparelho fotopolimerizador de LED, emissor de luz azul, comprimento de onda que varia entre 440 nm a 480 nm com uma densidade de potência de 1200 mW/cm² (Ratii-cal, SDI, Victoria, Austrália).

2.6 Ciclagem Termomecânica

Os espécimes foram submetidos ao desgaste termomecânico para simulação do envelhecimento de 6 meses ocorrido na cavidade bucal, por meio da máquina de ciclagem Termomecânica ER 37000 (ERIOSEquipamentos Técnicos e Científicos Ltda., São Paulo, SP, Brasil). As amostras sofreram 120.000 ciclos mecânicos e 5.000 ciclos térmicos com banhos em água durante 30 segundos para cada temperatura (5 ± 2 C, 37 ± 2 C e 55 ± 2 C) [31].

2.7 Teste de resistência à microtração

Após a termociclagem, os corpos-de-prova foram submetidos ao teste mecânico laboratorial, para avaliação da resistência da união às tensões de microtração. Este teste foi realizado em uma máquina de ensaios universal EMIC DL2000 com uma célula de carga de 10 kg. Esta máquina possui um terminal de computador acoplado, preparado para efetuar a leitura dos dados transmitidos pelo ensaio mecânico, por meio de um programa próprio. Os espécimes foram fixados a

uma base de resina acrílica transparente ativada quimicamente, com cera pegajosa. Após a fixação, os espécimes foram seccionados, com o auxílio de uma cortadeira de precisão Isomet (Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA) sob irrigação com água, em prismas de secção quadrangular, denominadas “palitos”, com dimensões aproximadas de 1 mm x 1 mm. Cada espécime apresentou em média 8 “palitos”, cuja área da interface adesiva foi medida com o paquímetro digital.

Os palitos foram fixados individualmente pelas suas extremidades com cianoacrilato em gel (Zapit, Dental Ventures of American, Corona, CA, EUA) no dispositivo de microtração metálico, para realização do ensaio de microtração na máquina de testes, a uma velocidade de 0,5 mm/min, no momento da fratura, o teste foi automaticamente interrompido (Figura 12).

Ao final do ensaio as partes fraturadas foram analisadas quanto ao padrão de fratura em estereoscópico (steREO Discovery V20, G ttingen, Germany), e classificadas em fratura coesiva em resina, coesiva em dentina, adesiva e mista. As falhas pré-teste e fraturas coesivas em resina e dentina não foram consideradas (Figura 13).

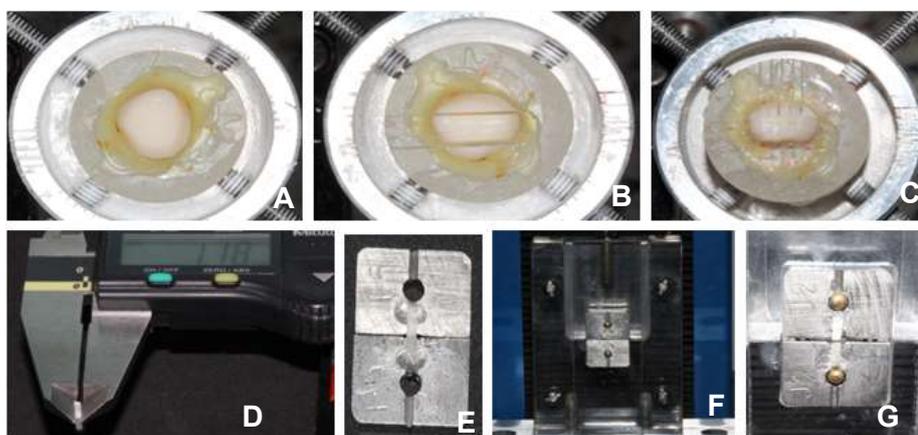


Figura 12- A) Amostra fixada sobre resina acrílica; B) Corte longitudinal da amostra; C) Corte transversal da amostra; D) Paquímetro medindo palito; E) Palito colado no dispositivo de metal; F) Dispositivo na máquina de testes universais; G) Palito fraturado.

Adesiva - Para fraturas em que a falha ocorreu na interface adesivo-estrutura dental ou na interface entre o adesivo e a resina composta, em mais de 75% da área analisada.

Coesiva em resina - Para fraturas em que a falha ocorreu predominantemente no interior da resina composta, cerca de 75%.

Coesivas na estrutura dental - Para fratura em que a falha ocorreu predominantemente no interior da estrutura dental, cerca de 75%.

Mista - Para fraturas nas quais não existiu uma predominância maior que 75% de qualquer tipo de falha.

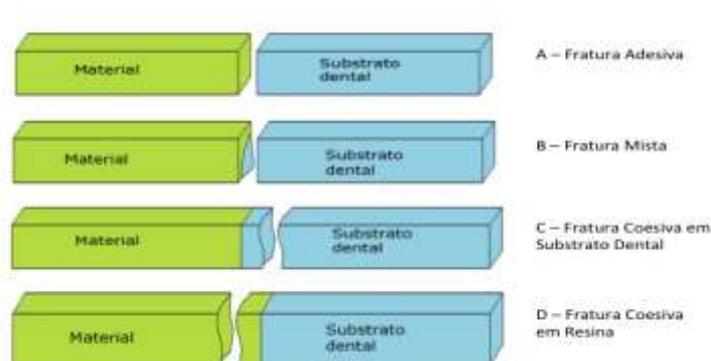


Figura 13 - Tipos de Fratura.

2.8 Forma de análise dos resultados

Neste estudo, para o teste de permeabilidade a análise estatística foi realizada por meio do percentual de redução da permeabilidade em relação aos valores máximos (P%), por outro lado para o teste de microtração foram utilizados os valores da resistência de união (Mpa) dos “palitos” de dentina. Os dados foram analisados estatisticamente, sendo avaliados quanto à sua normalidade, por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. Caso estes tenham apresentado distribuição normal, ambos os dados foram analisados pelo teste da análise de variância (ANOVA)

paramétrica e pelo Teste t pareado, sendo adotado o nível de significância de 5% para tomada de decisões.

As seguintes hipóteses estatísticas foram analisadas:

- H01- Os diferentes tipos de tratamentos na dentina não influenciam significativamente na permeabilidade dentinária;
- H02- Os diferentes tratamentos na dentina não influenciam significativamente a resistência de união entre a dentina e a resina;
- H03- A permeabilidade dentinária não influencia significativamente a resistência de união.

3 RESULTADOS

Os dados obtidos serão apresentados em duas partes: análise estatística e análise das imagens obtidas por MEV referentes à obliteração dos túbulos dentinários dos grupos após os diferentes tratamentos.

3.1 Análise estatística

3.1.1 Estatística para permeabilidade dentinária

Os grupos foram comparados entre si e em cada momento da avaliação utilizando ANOVA a 1 fator, os resultados podem ser observados na Tabela 1, evidenciando que não tem diferenças significativas entre os grupos.

Os resultados para o teste-t não pareado para amostras dependentes compararam a porcentagem de permeabilidade para cada grupo com *smear layer* presente (Inicial) e depois do tratamento (final) em relação ao valor máximo, como mostra na Tabela 1. Diferenças significativas foram observadas apenas para os grupos LAL (Laser + Adesivo + Laser) e FLAL (Fosfato + Laser + Adesivo + Laser) que promoveu uma redução significativa da permeabilidade em relação à inicial. Os meios de redução da permeabilidade para todos os grupos, inicial e final pode ser visto na Figura 11.

Tabela 1- Resultados do teste ANOVA a um fator e teste t não pareado para permeabilidade

Grupos	Inicial	Final	Teste t
AL	44,95 ($\pm 23,42$)	39,09 ($\pm 18,96$)	$p=0,70$ ($t=0,38$)
LAL	47,40 ($\pm 10,64$)	35,78 ($\pm 11,009$)	$p=0,005$ ($t=3,67$)
FAL	35,84 ($\pm 11,13$)	34,23 ($\pm 15,99$)	$p=0,37$ ($t=0,92$)
FLAL	49,42 ($\pm 17,82$)	30,25 ($\pm 17,42$)	$p=0,0001$ ($t=6,09$)
ANOVA 1 fator	$p=0,48$ ($f=0,91$)*	$p=0,70$ ($f=0,59$)**	

*Resultado da ANOVA um fator para a comparação entre os grupos na avaliação inicial

**Resultado da ANOVA um fator para a comparação entre os grupos na avaliação final

***Teste t não pareado para a comparação inicial versus final

Fonte: Elaborado pelo autor.

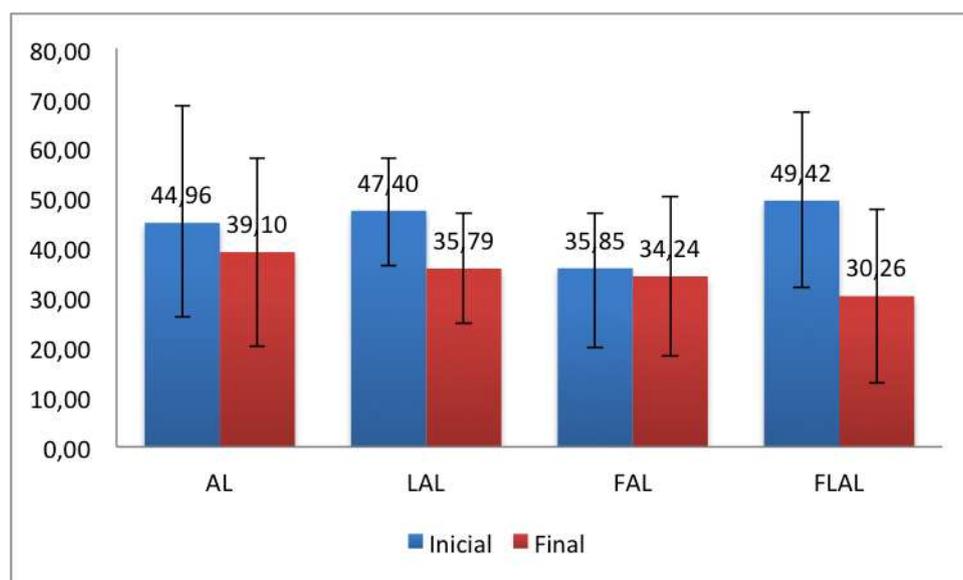


Gráfico 1- Gráfico que mostra a permeabilidade inicial e final de cada grupo.

3.1.2 Estatística para resistência de união

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a dois fatores para os fatores “Fosfato” e “Tratamento”. Os resultados do teste ANOVA dois fatores (Tabela 2), mostraram que houve uma diferença significativa para o fator

Fosfato e na interação entre eles.

Tabela 2- Resultados do teste ANOVA a dois fatores para a resistência de união

FATORES	SQ	GL	MQ	F	p
Fosfato	0,11	1	0,11	0,02	0,89
Tratamento	30,54	1	30,54	5,10	0,03
Tratamento x Fosfato	0,03	1	0,03	0,01	0,94

GL = grau de liberdade; SQ = soma quadrática; MQ = média quadrática; F = variância; p- valor = probabilidade.

* Diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Dessa forma o Teste de Tukey (5%) foi realizado para os fatores:” Tratamento” e “Fosfato”, assim como a interação entre eles. A tabela 3 mostra que não ocorreu diferença significativa entre o fator Tratamento.

Tabela 3- Resultados do teste de Tukey 5% para o fator Tratamento

Tratamento	Média (Mpa)	±DP	Grupos Homogêneos
LAL	30,52	2,18	A
AL	30,62	2,86	A

Na avaliação do fator Fosfato (Tabela 4), observou-se que houve uma diferença significativa quando foi aplicado ou não o Fosfato de Cálcio.

Tabela 4- Resultados do teste de Tukey 5% para o fator Fosfato

Fosfato	Média (Mpa)	DP	Grupos Homogêneos
SF	29,69	2,64	A
CF	31,44	2,08	B

Quando o Teste Tukey (5%) foi realizado para a interação dos fatores (Tabela 5), foi observado que não houve diferença estatística significativa entre os grupos.

Tabela 5- Resultados do teste de Tukey 5% para a interação dos fatores Tratamento x Fosfato

Tratamento	Fosfato	Média (Mpa)	DP	Grupos Homogêneos
LAL	SF	29,67	2,30	A
AL	SF	29,72	3,07	A
LAL	CF	31,36	1,77	A
AL	CF	31,52	2,45	A

As médias de resistência de união de todos os grupos, podem ser vistas no Gráfico 2.

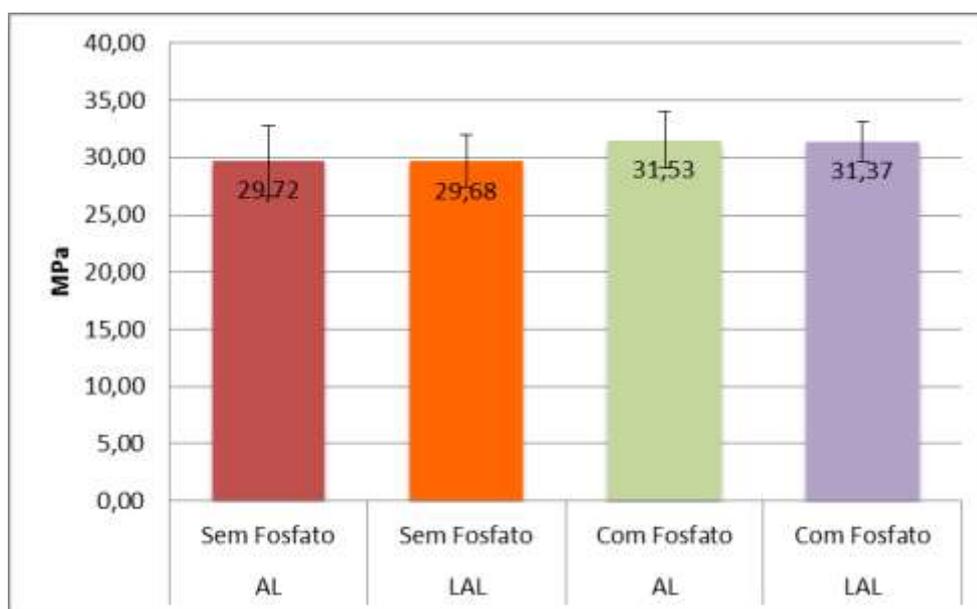
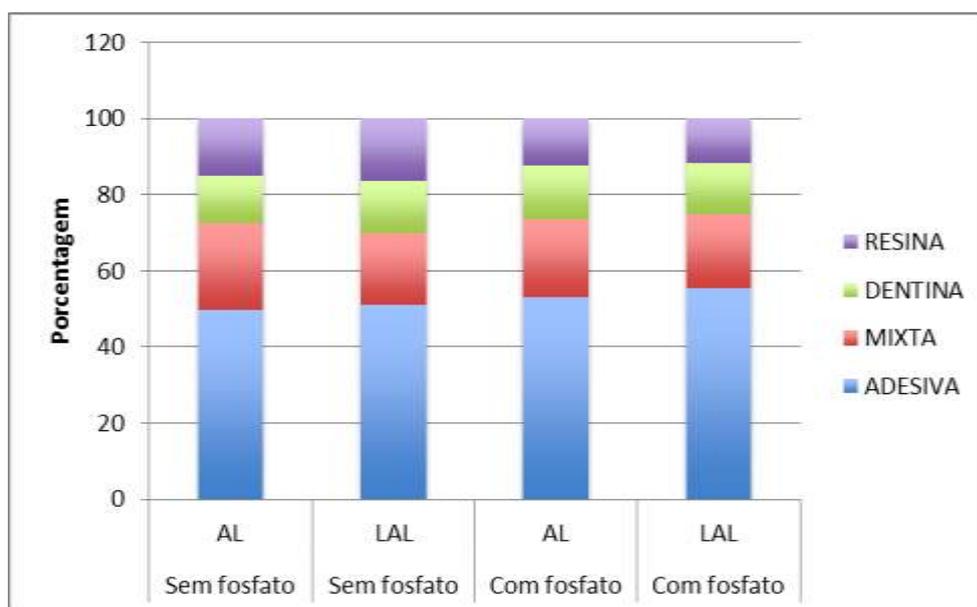


Gráfico 2- Gráfico que mostra as médias dos grupos em Mpa.

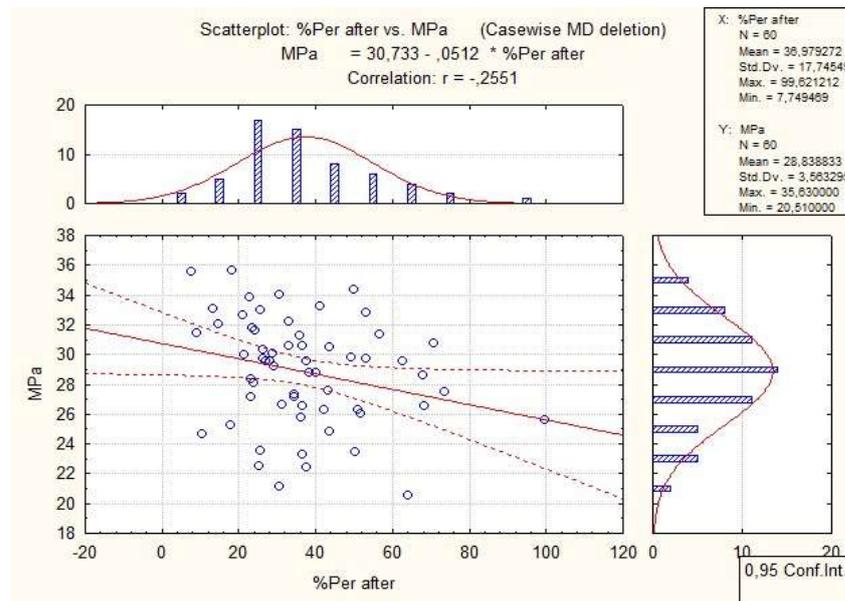
O gráfico 3 mostra a porcentagem do tipo de fratura obtido por cada grupo após a realização do teste de microtração.

Gráfico 3- Gráfico que mostra a porcentagem do tipo de fratura obtido por cada grupo



3.1.3 Correlação para teste de permeabilidade e resistência de união

A correlação entre a permeabilidade e a resistência de união mostrou que não houve correlação entre os resultados. A permeabilidade não influenciou na resistência de união, mostrando uma correlação negativa desprezível.



3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

As imagens obtidas pelo MEV da porção de dentina do “palito” fraturado seguem abaixo nas figuras de a com aumentos de 2000 x e 15, 20 ou 25 KV de potência.

A figura 14 apresenta a fotomicrografia de MEV da porção de dentina do palito fraturado do grupo Adesivo + Laser com e sem previa aplicação do Fosfato de Cálcio. A figura A (2000 x/25 KV) mostra porção de dentina do palito fraturado do grupo Adesivo + Laser, com a entrada dos túbulos dentinários obliterados. A figura B (2000 x/25 KV) mostra porção de dentina do palito fraturado do grupo Adesivo + Laser com previa aplicação de Fosfato, com a entrada dos túbulos dentinários obliterados.

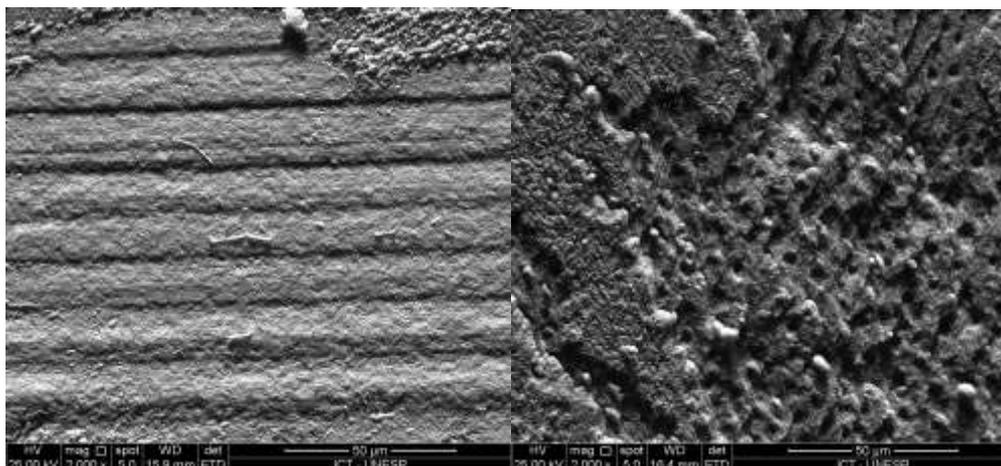


Figura 14- Fotomicrografia de MEV da porção de dentina do palito fraturado do grupo Adesivo + Laser com e sem previa aplicação do Fosfato de Cálcio.

A figura 15 apresenta a fotomicrografia de MEV da porção de dentina do palito fraturado do grupo Laser + Adesivo + Laser com e sem previa aplicação do Fosfato de Cálcio. A figura A (2000 x/25 kV) mostra porção de dentina do palito fraturado do grupo Laser + Adesivo + Laser, com a entrada dos túbulos dentinários obliterados. A figura B (2000 x/25 kV) mostra porção de dentina do palito fraturado do grupo Laser + Adesivo + Laser com previa aplicação de Fosfato, com a entrada dos túbulos dentinários obliterados.

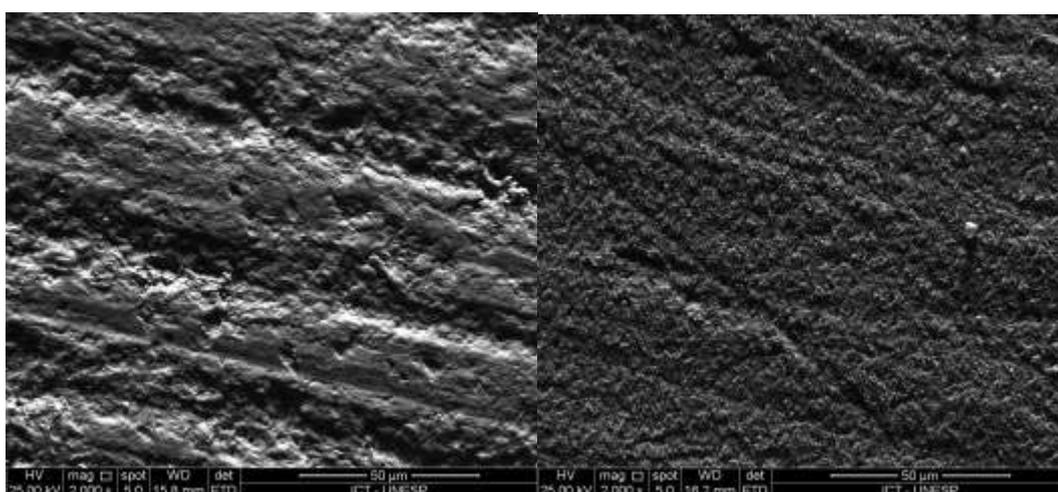


Figura 15- fotomicrografia de MEV da porção de dentina do palito fraturado do grupo Laser + Adesivo + Laser com e sem previa aplicação do Fosfato de Cálcio.

4 DISCUSSÃO

A Odontologia evolui nos últimos anos, conseguindo simplificar passos operatórios com o desenvolvimento de vários materiais restauradores. Dentre destes materiais temos os sistemas adesivos, compostos por monômeros resinosos de diferente natureza. Pelo avanço na área da adesão, pesquisas objetivam análises na resistência adesiva e seu comportamento através do tempo [32].

A adesão num substrato de esmalte é facilmente conseguida quando comparado ao substrato dentinário, sendo o mecanismo de união de sistemas adesivos à dentina um grande desafio. Uma característica da dentina é que na sua estrutura é penetrada por uma malha de canalículos que contém um grande volume de água, tornando-a um substrato úmido, fator que pode contribuir negativamente na longevidade dos procedimentos adesivos. Varias técnicas foram propostas para melhorar as condições encontradas no substrato dentinário, dentre das quais esta a utilização de varias formas de energia laser como o Nd:YAG e aplicação de vários tratamentos da superfície [33].

De acordo com o sistema sugerido por Pashley e Gallowey (1985) [23], discutiremos como diversos tratamentos tem a capacidade da obliteração de túbulos e redução da permeabilidade dentinária, assim como influência na resistência de união dente-material restaurador. A discussão deste trabalho foi dividida em duas partes. Na primeira parte as metodologias utilizadas no estudo, e na segunda parte a discussão dos resultados encontrados.

4.1 Da Metodologia

Para este estudo foram utilizados terceiros molares hígidos, com o fim de simular as condições *in vivo* [34], a qual reflete resultados mais próximos a realidade. Existe uma dificuldade para se obter dentes humanos hígidos, sendo uma

desvantagem a querer formar grandes grupos experimentais. Apesar de maior tempo para aquisição dos dentes, preferimos optar por este substrato. Assim, conforme dados observados na literatura, no presente trabalho foi utilizado dez dentes por cada grupo experimental [28,43].

A coleta dos dentes foram de pacientes entre 18 e 25 anos de idade por indicação ortodôntica ou cirúrgica, com a finalidade de padronizar as características de maturação da estrutura dental e foram doados baixo um termo de consentimento e submetidos a comitê de ética. Os dentes foram armazenados em água destilada a 4°C, trocada 1 vez por semana, até o momento da utilização, não excedendo o período de 6 meses (ISO 11405). Neste estudo obteve-se pela estocagem em freezer com a finalidade de evitar variações na permeabilidade (Goodis91) e como método eficiente de armazenamento para dentes com finalidade a análise de resistência de união e assim também manter o colágeno dentinário o mais próximo das condições *in vivo* (Tonami-Titley).

Para o teste de permeabilidade, dois tipos de espécimes foram encontrados na literatura, um em forma de disco [24, 25, 43] e outro que utiliza segmentos de coroas [35,36,37]. Os discos de dentina são mais utilizados por possuir várias vantagens como facilidade de manuseio, bom acabamento dos espécimes e uma espessura uniforme em comparação com os segmentos de coroa, que pela estrutura da sua câmara pulpar possuem espessura de dentina variáveis [38].

Para obtenção dos espécimes, os dentes foram cortados e lixados até remover o esmalte e expor a dentina do lado oclusal, seguido pelo corte com uma trefina circular de aproximadamente 6 mm de diâmetro para remoção do esmalte que circunda o dente. Vários autores para avaliar a permeabilidade usaram discos com uma espessura de 1 mm [24,25,26,43]. Para obter a espessura foi feito um estudo piloto, na qual foi testado a espessura de 2 mm pensando em não deixar uma espessura muito fina para o teste da resistência de união. Porém, pela característica do lado pulpar da dentina, por possuir a presença dos cornos pulpares e uma região irregular que pode influenciar na permeabilidade dentinária, foi lixada e polida com ajuda de um dispositivo metálico numa politriz com diferentes gramaturas de lixas. Assim, com a finalidade de compensar essas diferenças regionais e obter amostras de discos padronizados, de espessura de aproximadamente 1,5 mm [39].

Neste estudo para mensuração da permeabilidade dentinária foi aplicado o método de Pashley (1981) [22]. Para permitir o registro da permeabilidade inicial, foi removido o *smear layer* do lado pulpar dos discos de dentina, aplicando ácido fosfórico a 37% por 15 segundos [23,24]. A condutância hidráulica foi mensurada aplicando uma pressão de 10 psi [24,25,40], que permitiu o movimento do fluido através do sistema e do disco de dentina. A pressão utilizada difere da pressão fisiológica de aproximadamente 0,5 psi [34,41,], o que atrasaria a leitura e o movimento lento da bolha, pela pressão reduzida.

Para simular regiões com túbulos abertos e ter uma referência com as outras mensurações foi realizada a permeabilidade máxima, já que representa o 100%. Para remoção do *smear layer* das superfícies externas, os discos de dentina foram submergidos em solução de ácido cítrico a 0,3% por 30 segundos usando ultrassom [22]. Considerando este tipo de ensaio, independentemente dos parâmetros usados, é que cada espécime serve como controle de si mesmo, o que reduz a diferença que podem ter entre os espécimes. A solução utilizada no presente estudo foi a água ultrapura que difere do fluido dentinário in vivo, com a finalidade de não influenciar nos resultados, por qualquer componente mineral pudesse interferir na infiltração [42].

A última medição de permeabilidade foi realizada depois da aplicação de cada tratamento, com o fim de estabelecer que tratamento foi mais eficaz. Assim, quando o tratamento tem uma maior redução da taxa de filtração, teoricamente, mais durável é o efeito oclusivo [43]. Os tratamentos realizados foram associados, o fosfato de cálcio, adesivo e Laser Nd:YAG.

A irradiação do Laser Nd:YAG sobre a dentina provoca alterações morfológicas, como a fusão e solidificação da dentina, além de reduzir o conteúdo de material orgânico [13]. Assim, a dentina pode obter uma permeabilidade reduzida como consequência da recristalização do substrato [44]. Na literatura encontramos que há relatos que as primeiras aplicações do laser foram previamente a qualquer tratamento restaurador, na qual Rolla et al. (2006) [45] demonstrou que há um aumento na resistência adesiva, porém outros pesquisadores mostram que há uma redução na resistência adesiva [16,28,33]. Razão pela qual neste estudo a aplicação do Laser foi aplicado previamente e após do sistema adesivo.

Para a aplicação de Laser, estudos tem mostrado a dificuldade de padronização dos parâmetros utilizados. Considerando isto, os efeitos produzidos pelos lasers dependem da intensidade de energia e da dose aplicada [46,50,62,]. Os parâmetros deste estudo foram escolhidos pelo resultado encontrados por Silva (2013) [47], que avaliou a influência da aplicação do Nd:YAG na variação da temperatura pulpar. Demonstrou que o parâmetro de 60 mj/ pulso, resulto ser mais segura para a vitalidade pulpar.

Um produto utilizado neste estudo é o Fosfato de cálcio, utilizado na clinica como dessensibilizante. Na literatura encontramos vários produtos para o tratamento da sensibilidade, utilizados com eficácia na redução da permeabilidade dentinária [48-51]. No trabalho de Zhou (2016) [52], relatou que a utilização de Fosfato de cálcio teve um desempenho superior com demais produtos indicados para esta finalidade, mostrando uma redução maior da permeabilidade.

O sistema adesivo usado neste estudo foi o Scotchbond Universal Adhesive, e aplicado pela técnica de autocondicionante com as recomendações do fabricante. A infiltração do sistema adesivo proporciona um selamento dos túbulos dentinários quando realizada corretamente [53,54]. O uso de adesivos tem efetividade para redução de permeabilidade, mas diminui com o tempo [55]. Por isso, alternativas para melhorar a penetração adesiva e a longevidade foram desenvolvidas, como a utilização da energia laser.

Após os diferentes tratamentos e realizado o processo restaurador, para verificar a degradação da interfase adesiva que ocorre ao longo do tempo e simular as situações que ocorrem no meio bucal foi aplicado um envelhecimento artificial. Dentre dos tipos de envelhecimentos relatados na literatura, para este estudo foi escolhido o método da ciclagem termomecânica. Para a escolha dos ciclos térmicos teve como base a revisão de literatura de Gale e Darvell (1999) [56], que relatou que a aplicação de 10.000 ciclos térmicos seriam correspondentes a um ano in vivo, desse modo 5.000 ciclos térmicos corresponderiam a 6 meses in vivo, que foi aplicado neste estudo. Para a escolha dos ciclos mecânicos foi baseado no trabalho de Blatz et al. (2008) [57], onde 1,2 milhões de ciclos corresponderiam a 5 anos in vivo, desse modo 120.000 ciclos mecânicos corresponderiam a 6 meses in vivo, que foi aplicado neste estudo.

Para avaliar a resistência adesiva foi aplicado o método de microtração, amplamente empregado, sendo Sano et al. (1994) [58] o primeiro em empregar este método. Para realizar o teste utilizamos espécimen em forma de palito com uma área de aproximadamente de 1mm^2 . Essa característica permite a obtenção de um maior número de amostras, maior resistência e menor número de falhas [58,59].

4.2 Dos Resultados

A primeira parte deste estudo, teve como objetivo avaliar os efeitos de vários tratamentos na permeabilidade dentinária, sua capacidade de reduzir a mesma. Considerando que a diminuição da quantidade de fluido pode contribuir a uma menor degradação da interfase adesiva.

Todos os tratamentos testados produziram algum grau de alteração da condutância hidráulica. Na literatura, aquele que se aproxima da permeabilidade mínima é tido como um bom resultado, isto é, a capacidade obstrutiva semelhante ao conseguido pela *smear layer* [60]. Como se pode observar na Tabela 1, a média dos valores da permeabilidade após os tratamentos comparado com a permeabilidade mínima, foi capaz de reduzir a permeabilidade em relação a permeabilidade máxima.

Os resultados deste estudo, foram avaliados pelo teste de ANOVA a 1 fator, podendo observar que não houve diferença significativa entre os grupos. Isso quer dizer que os resultados indicam que os diferentes tratamentos são capazes de bloquear a movimentação do fluido dentinário dentro dos túbulos de maneira semelhante. Dessa forma, alguns autores relatam que quando os tratamentos não são estatisticamente significante na redução da permeabilidade dentinária, pode não ser eficaz *in vivo* [26].

Para mostrar a eficácia após os diferentes tratamentos comparando com a permeabilidade inicial, foi aplicado o teste-t não pareado para amostras dependentes em relação ao valor máximo, como mostra na Tabela 1. Diferenças significativas foram observadas apenas para os grupos LAL (Laser + Adesivo + Laser) e FLAL

(Fosfato + Laser + Adesivo + Laser) que promoveu uma redução significativa da permeabilidade em relação à inicial. A permeabilidade após o tratamento com laser aplicado prévio ao sistema adesivo mostrou diferença com a permeabilidade mínima, que concorda com os resultados encontrados na literatura [61-65]. Porém, o efeito da associação com laser aplicado antes do sistema adesivo, pode ter um efeito deletério na interfase adesiva, segundo relatado por vários autores que melhor momento para aplicar a irradiação laser é depois do sistema adesivo [27,33].

Vários produtos indicados para sensibilidade dentinária são aplicados para a redução da permeabilidade [48,50,51]. Thanatvarakorn et al. (2013) [66] afirmaram que o uso de Fosfato de Cálcio se mostra efetivo a longo prazo, que pelas suas propriedades químicas promovem aumento de cristais após do desafio em saliva. Porém estatisticamente os dois grupos com melhor resultado não mostraram muita diferença entre eles quando a associação com o Fosfato.

Como se pode observar, a interação de vários produtos como os utilizados neste estudo, levou a uma redução maior da permeabilidade comparado aos outros grupos. A capacidade do laser para resolidificar a dentina [67] e interagir com outros produtos, pode aumentar a durabilidade dos tratamentos. Tosun et al. 2016 [68] afirmaram que quando o laser era combinado com clinpro melhorou a capacidade de obliteração tubular, mas o laser reduziu a penetração do clinpro. Os produtos à base de Fosfato de cálcio apresentam características que permitem maior penetração nos túbulos, pois o pequeno diâmetro de suas partículas e sua morfologia aumentam sua área superficial.

Para os resultados da microtração foi aplicado o teste ANOVA a 2 fatores, considerando o fator Tratamento (associação de adesivo, Fosfato de cálcio e laser Nd:YAG) e o fator Fosfato (tratamentos com e sem aplicação do Fosfato de cálcio), não mostrando uma diferença significativa no fator Tratamento mas sim na interação entre eles. Foi aplicado o teste de Tukey (5%). Considerando o fator Fosfato, observou-se que teve uma diferença significativa quando foi aplicado ou não o Fosfato de Cálcio previamente aos diferentes tratamentos. Mostrando que a aplicação deste produto influencia na resistência de união, pois na média dos valores houve um leve aumento quando os tratamentos foram aplicados com o fosfato de cálcio.

Para a interação dos fatores, foi observado que os resultados não diferiram estatisticamente entre grupos, os quais não apresentaram diferenças estatisticamente significantes. Sendo assim, a aplicação do Fosfato previa ao sistema adesivo não comprometeu a resistência de união.

5 CONCLUSÃO

Os diferentes tipos de tratamentos na dentina influenciam significativamente na permeabilidade dentinária;

Os diferentes tratamentos na dentina não influenciam significativamente a resistência de união entre a dentina e a resina;

A permeabilidade dentinária não influencia significativamente a resistência de união.

REFERÊNCIAS

1. Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res.* 1955 Dec;34(6):849-53.
2. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res.* 1982;16(3):265-73.
3. Carvalho RM, Yoshiyama M, Pashley EL, Pashley DH. In vitro study on the dimensional changes of human dentine after demineralization. *Arch Oral Biol.* 1996;41(4):369-77.
4. Van Landuyt KL, De Munck J, Mine A, Cardoso MV, Peumans M, Van Meerbeek B. Filler debonding & subhybrid-layer failures in self-etch adhesives. *J Dent Res.* 2010;89(10):1045-50.
5. Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater.* 2011;27(1):17-28.
6. Gwinnett AJ. Moist versus dry dentin: its effect on shear bond strength. *Am J Dent.* 1992;5(3):127-9.
7. Tay FR, Pashley DH, Hiraishi N, Imazato S, Rueggeberg FA, Salz U, et al. Tubular occlusion prevents water-treeing and through-and-through fluid movement in a single-bottle, one-step self-etch adhesive model. *J Dent Res.* 2005;84(10):891-6.
8. Spencer P, Wang Y. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions. *J Biomed Mater Res.* 2002;62(3):447-56.
9. Yiu CK, Pashley EL, Hiraishi N, King NM, Goracci C, Ferrari M, et al. Solvent and water retention in dental adhesive blends after evaporation. *Biomaterials.* 2005;26(34):6863-72.
10. Jacobsen T, Soderholm KJ. Some effects of water on dentin bonding. *Dent Mater.* 1995;11(2):132-6.
11. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res.* 2004;83:216-21.
12. Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Hiraishi N, Yiu CK. Water treeing in simplified dentin adhesives--deja vu? *Oper Dent.* 2005;30(5):561-79.

13. Ishizaka Y, Eguro T, Maeda T, Tanaka H. Effects of Er:YAG laser irradiation on human dentin: polarizing microscopic, light microscopic and microradiographic observations, and FT-IR analysis. *Lasers Surg Med.* 2002;31:171-6.
14. Tanji EY, Soares SCG, Eduardo CPE. Mev De canais radiculares irradiados com Er:YAG e Nd:YAG laseres. *In: 15ª Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Pesquisa Odontológica, 1998, Águas de São Pedro. Anais. São Paulo : SBPqO, 1998. p. 47.*
15. Rolla JN, Mota EG, Oshima HMS, Burnett Júnior LH, Spohr AM. Nd:YAG laser influence on microtensile bond strength of different adhesive systems for human dentin. *Photomed Laser Surg.* 2006; 24:730-4.
16. Gonçalves SEP, Araujo MAM, Damião AJ. Dentin bond strength: influence of laser irradiation, acid etching, and hypermineralization. *J Clin Laser Med Surg.* 1999;17(2):77-85.
17. Ghiggi PC, Agnol RJCD, Burnett LH Jr, Borges GA, Spohr AM. Effect of the Nd:YAG and the Er:YAG laser on the adhesive-dentin interface: a scanning electron microscopy study. *Photomed Laser Surg.* 2010;28(2):195-200.
18. Rappelli G, Massaccesi C, Putignano A, Procaccini M. Influence of Nd:YAG laser pretreatment on hybrid layer formation in luting ceramic inlays: an SEM evaluation. *J Oral Laser Applic* 2003;3:93-6.
19. Lin CP, Lee BS, Lin FH, Kok SH, Lan WH. Phase, compositional, and morphological changes of human dentin after Nd:YAG laser treatment. *J Endod* 2001;27:389-93.
20. Lee BS, Lin CP, Lin FH, Lan WH. Ultrastructural changes of human dentin after irradiation by Nd : YAG laser. *Lasers Surg Med.* 2002;30(3):246-52.
21. Pashley DH, Ciucchi B, Sano H, Horner JA. Permeability of dentin to adhesives agents. *Quintessence Int.* 1993;24(9):618-31.
22. Pashley DH, Michelich V, Kehl T. Dentin permeability: effects of smear layer removal. *J Prosthet Dent.* 1981 Nov;46(5):531-7.
23. Pashley DH, Galloway SE. The effects of oxalate treatment on the smear layer of ground surfaces of human dentine. *Arch Oral Biol.* 1985;30(10):731-7.
24. Kolker JL, Vargas MA, Armstrong SR, Dawson DV. Effect of desensitizing agents on dentin permeability and dentin tubule occlusion. *J Adhes Dent.* 2002 Fall;4(3):211-21.

25. Santiago SL, Pereira JC, Martineli AC. Effect of commercially available and experimental potassium oxalate-based dentin desensitizing agents in dentin permeability: influence of time and filtration system. *Braz Dent J*. 2006;17(4):300-5.
26. Greenhill JD, Pashley DH. The effects of desensitizing agents on the hydraulic conductance of human dentin in vitro. *J Dent Res*. 1981 Mar;60(3):686-98.
27. Goncalves SE, de Araujo MA, Damiao AJ. Dentin bond strength: influence of laser irradiation, acid etching, and hypermineralization. *J Clin Laser Med Surg*. 1999 Apr;17(2):77-85.
28. Matos AB, Oliveira DC, Kuramoto M, Jr., Eduardo CP, Matson E. Nd:YAG laser influence on sound dentin bond strength. *J Clin Laser Med Surg*. 1999;17(4):165-9. 10.1089/clm.1999.17.165
29. Almeida-Lopes MR. *Laserterapia, conceitos e aplicações*. São Carlos; 2002.
30. Ribeiro CF, Goncalves SE, Yui KC, Borges AB, Barcellos DC, Brayner R. Dentin bond strength: influence of Er:YAG and Nd:YAG lasers. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2013 May-Jun;33(3):373-7. 10.11607/prd.1096
31. Gale MS, Darvell BW. Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations. *J Dent*. 1999 Feb;27(2):89-99.
32. Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater*. 2011 Jan;27(1):17-28. 10.1016/j.dental.2010.10.023 Pubmed PMID: 21109301
33. Ghiggi PC, Dall Agnol RJ, Burnett LH, Jr., Borges GA, Spohr AM. Effect of the Nd:YAG and the Er:YAG laser on the adhesive-dentin interface: a scanning electron microscopy study. *Photomed Laser Surg*. 2010 Apr;28(2):195-200.
34. Schmalz G, Hiller KA, Nunez LJ, Stoll J, Weis K. Permeability characteristics of bovine and human dentin under different pretreatment conditions. *J Endod*. 2001 Jan;27(1):23-30. 10.1097/00004770-200101000-00007
35. de Andrade e Silva SM, Marquezini L, Jr., Manso AP, Garcia FP, Carrilho MR, Pashley DH, et al. Effects of a combined application of potassium oxalate gel/adhesive agent on dentin permeability in vitro. *J Adhes Dent*. 2007 Dec;9(6):505-12.
36. de Andrade e Silva SM, Carrilho MR, Marquezini Junior L, Garcia FC, Manso AP, Alves MC, et al. Effect of an additional hydrophilic versus hydrophobic coat on the quality of dentinal sealing provided by two-step etch-and-rinse adhesives. *J Appl Oral Sci*. 2009 May-Jun;17(3):184-9.

37. Rusin RP, Agee K, Suchko M, Pashley DH. Effect of a new desensitizing material on human dentin permeability. *Dent Mater.* 2010 Jun;26(6):600-7. 10.1016/j.dental.2010.02.010
38. Pashley DH. Dentin permeability, dentin sensitivity, and treatment through tubule occlusion. *J Endod.* 1986 Oct;12(10):465-74. 10.1016/S0099-2399(86)80201-1
39. Wegehaupt F, Gries D, Wiegand A, Attin T. Is bovine dentine an appropriate substitute for human dentine in erosion/abrasion tests? *J Oral Rehabil.* 2008 May;35(5):390-4.
40. Tagami J, Tao L, Pashley DH, Horner JA. The permeability of dentine from bovine incisors in vitro. *Arch Oral Biol.* 1989;34(10):773-7.
41. Sauro S, Pashley DH, Montanari M, Chersoni S, Carvalho RM, Toledano M, et al. Effect of simulated pulpal pressure on dentin permeability and adhesion of self-etch adhesives. *Dent Mater.* 2007 Jun;23(6):705-13. 10.1016/j.dental.2006.06.010
42. Thanatvarakorn O, Nakashima S, Sadr A, Prasansuttiorn T, Ikeda M, Tagami J. In vitro evaluation of dentinal hydraulic conductance and tubule sealing by a novel calcium-phosphate desensitizer. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2013 Feb;101(2):303-9. 10.1002/jbm.b.32840 PubMed PMID: 23166091
43. Pereira JC, Segala AD, Gillam DG. Effect of desensitizing agents on the hydraulic conductance of human dentin subjected to different surface pre-treatments--an in vitro study. *Dent Mater.* 2005 Feb;21(2):129-38. 10.1016/j.dental.2004.02.007
44. Lee BS, Lin CP, Lin FH, Lan WH. Ultrastructural changes of human dentin after irradiation by Nd:YAG laser. *Lasers Surg Med.* 2002;30(3):246-52.
45. Rolla JN, Mota EG, Oshima HM, Junior LH, Spohr AM. Nd:YAG laser influence on microtensile bond strength of different adhesive systems for human dentin. *Photomed Laser Surg.* 2006 Dec;24(6):730-4. 10.1089/pho.2006.24.730
46. Lan WH, Lee BS, Liu HC, Lin CP. Morphologic study of Nd:YAG laser usage in treatment of dentinal hypersensitivity. *J Endod.* 2004 Mar;30(3):131-4. 10.1097/00004770-200403000-00001
47. Silva TM, Goncalves LL, Fonseca BM, Esteves SR, Barcellos DC, Damiao AJ, et al. Influence of Nd:YAG laser on intrapulpal temperature and bond strength of human dentin under simulated pulpal pressure. *Lasers Med Sci.* 2016 Jan;31(1):49-56. 10.1007/s10103-015-1827-1

48. Bakry AS, Takahashi H, Otsuki M, Sadr A, Yamashita K, Tagami J. CO2 laser improves 45S5 bioglass interaction with dentin. *J Dent Res*. 2011 Feb;90(2):246-50. 10.1177/0022034510387793 Pubmed PMID: 21084716
49. Bakry AS, Al-Hadeethi Y, Razvi MA. The durability of a hydroxyapatite paste used in decreasing the permeability of hypersensitive dentin. *J Dent*. 2016 Aug;51:1-7. 10.1016/j.jdent.2016.05.004
50. Kara C, Orbak R. Comparative evaluation of Nd:YAG laser and fluoride varnish for the treatment of dentinal hypersensitivity. *J Endod*. 2009 Jul;35(7):971-4. 10.1016/j.joen.2009.04.004
51. Chiga S, Toro CV, Lepri TP, Turssi CP, Colucci V, Corona SA. Combined effect of fluoride varnish to Er:YAG or Nd:YAG laser on permeability of eroded root dentine. *Arch Oral Biol*. 2016 Apr;64:24-7. 10.1016/j.archoralbio.2015.12.006
52. Zhou J, Chiba A, Scheffel DL, Hebling J, Agee K, Niu LN, et al. Effects of a Dicalcium and Tetracalcium Phosphate-Based Desensitizer on In Vitro Dentin Permeability. *PLoS One*. 2016;11(6):e0158400. 10.1371/journal.pone.0158400
53. Nakabayashi N, Nakamura M, Yasuda N. Hybrid layer as a dentin-bonding mechanism. *J Esthet Dent*. 1991 Jul-Aug;3(4):133-8.
54. Nakabayashi N, Ashizawa M, Nakamura M. Identification of a resin-dentin hybrid layer in vital human dentin created in vivo: durable bonding to vital dentin. *Quintessence Int*. 1992 Feb;23(2):135-41.
55. Gregoire G, Guignes P, Millas A. Effect of self-etching adhesives on dentin permeability in a fluid flow model. *J Prosthet Dent*. 2005 Jan;93(1):56-63. 10.1016/j.prosdent.2004.10.008
56. Gale MS, Darvell BW. Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations. *J Dent*. 1999 Feb;27(2):89-99.
57. Blatz MB, Oppes S, Chiche G, Holst S, Sadan A. Influence of cementation technique on fracture strength and leakage of alumina all-ceramic crowns after cyclic loading. *Quintessence Int*. 2008 Jan;39(1):23-32.
58. Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R, et al. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength--evaluation of a micro-tensile bond test. *Dent Mater*. 1994 Jul;10(4):236-40.
59. Armstrong S, Breschi L, Ozcan M, Pfefferkorn F, Ferrari M, Van Meerbeek B. Academy of Dental Materials guidance on in vitro testing of dental composite bonding effectiveness to dentin/enamel using micro-tensile bond strength (muTBS) approach. *Dent Mater*. 2017 Feb;33(2):133-43.

10.1016/j.dental.2016.11.015

60. Pashley DH, Livingston MJ, Reeder OW, Horner J. Effects of the degree of tubule occlusion on the permeability of human dentine in vitro. *Arch Oral Biol.* 1978;23(12):1127-33.
61. Liu HC, Lin CP, Lan WH. Sealing depth of Nd:YAG laser on human dentinal tubules. *J Endod.* 1997 Nov;23(11):691-3. 10.1016/S0099-2399(97)80403-7.
62. de Magalhaes MF, Matson E, de Rossi W, Alves JB. A morphological in vitro study of the effects of Nd:YAG laser on irradiated cervical dentin. *Photomed Laser Surg.* 2004 Dec;22(6):527-32. 10.1089/pho.2004.22.527
63. Naylor F, Aranha AC, Eduardo Cde P, Arana-Chavez VE, Sobral MA. Micromorphological analysis of dentinal structure after irradiation with Nd:YAG laser and immersion in acidic beverages. *Photomed Laser Surg.* 2006 Dec;24(6):745-52. 10.1089/pho.2006.24.745
64. Zapletalova Z, Perina J, Jr., Novotny R, Chmelickova H. Suitable conditions for sealing of open dentinal tubules using a pulsed Nd:YAG laser. *Photomed Laser Surg.* 2007 Dec;25(6):495-9. 10.1089/pho.2007.2085
65. Al-Saud LM, Al-Nahedh HN. Occluding effect of Nd:YAG laser and different dentin desensitizing agents on human dentinal tubules in vitro: a scanning electron microscopy investigation. *Oper Dent.* 2012 Jul-Aug;37(4):340-55. 10.2341/10-188-L
66. Thanatvarakorn O, Nakashima S, Sadr A, Prasansuttioporn T, Ikeda M, Tagami J. In vitro evaluation of dentinal hydraulic conductance and tubule sealing by a novel calcium-phosphate desensitizer. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2013 Feb;101(2):303-9. 10.1002/jbm.b.32840
67. Lee BS, Lin CP, Lin FH, Lan WH. Ultrastructural changes of human dentin after irradiation by Nd:YAG laser. *Lasers Surg Med.* 2002;30(3):246-52.
68. Tosun S, Culha E, Aydin U, Ozsevik AS. The combined occluding effect of sodium fluoride varnish and Nd:YAG laser irradiation on dentinal tubules-A CLSM and SEM study. *Scanning.* 2016 Nov;38(6):619-24. 10.1002/sca.21309

ANEXO A – Comitê de Ética

UNESP - INSTITUTO DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA -
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFEITO DA BIOMINERALIZAÇÃO COM FOSFATO DE CÁLCIO E APLICAÇÃO DE LASER NA PERMEABILIDADE DA DENTINA HUMANA E NA RESISTÊNCIA DE

Pesquisador: Pablo Lenin Benitez Sellan

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 66097117.3.0000.0077

Instituição Proponente: Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.022.356

Apresentação do Projeto:

O objetivo deste estudo será avaliar in vitro o efeito da utilização do fosfato de cálcio e aplicação de laser na permeabilidade da dentina humana e na resistência de união, modificando as técnicas de aplicações do sistema adesivo universal com a finalidade de formar uma dentina com permeabilidade reduzida. Serão utilizados discos de dentina com aproximadamente 6mm de diâmetro e 1,5mm de altura, obtidos de molares humanos hígidos. A permeabilidade dentinária será mensurada em quatro momentos: Inicial, máxima e depois do tratamento. Os espécimes (n=60) serão divididos em dois grupos com(CFC) e sem(SFC) a aplicação do fosfato de cálcio e depois foram novamente subdivididos em três subgrupos, resultando em 6 subgrupos (n=10): A- Adesivo, FA- Fosfato de Cálcio + Adesivo, AL- Adesivo + Laser, FAL- Fosfato de Cálcio + Adesivo + Laser,

LAL- Laser + Adesivo + Laser, FLAL- Fosfato de Cálcio + Laser + Adesivo + Laser. A aplicação do Laser Nd: YAG com energia a 60 mJ será sem contato. será utilizado o sistema adesivo Single Bond Universal (3M-ESPE) com os diferentes tratamentos e após a fotopolimerização será aplicado uma camada de 3mm com a resina composta Filtek Z350 XT (3M-ESPE). Os espécimes serão submetidos a 5000 ciclos térmicos e 120.000 ciclos mecânicos, e posteriormente será utilizado o teste de microtensão. Os dados obtidos em ambas avaliações foram submetidos à ANOVA e ao

Endereço: Av. Engº Francisco José Longo 777

Bairro: Jardim São Dimas

CEP: 12.245-000

UF: SP

Município: SÃO JOSÉ DOS CAMPOS

Telefone: (12)3947-9078

Fax: (12)3947-9010

E-mail: ceph@focj.unesp.br

UNESP - INSTITUTO DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA -
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS



Continuação do Parecer: 2.022.356

Teste de Tukey ($\alpha = 5\%$). Adicionalmente serão observados em microscopia eletrônica de varredura (MEV) e transmissão (MET).

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar *in vitro* a permeabilidade dentinária humana em três momentos diferentes: Inicial, máxima e após o tratamento, variando o momento da aplicação do Laser de Nd:YAG no sistema adesivo universal, com e sem a utilização de fosfato de cálcio.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Não há riscos diretos para o paciente, pois serão utilizados dentes já extraídos, porém por de haver perda ou quebra dos dentes.

Benefícios: Tendo em vista que todos os anos, milhões de pessoas com dentes cariados procuram o serviço odontológico para ter suas cavidades restauradas com resina composta, os esforços no sentido de reduzir a substituição dessas restaurações podem trazer grande economia para sociedade, não apenas no que diz respeito a parte financeira, mais também relativo ao tempo e stressa dedicado a realização dos procedimentos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é muito interessante por possibilitar novas perspectivas na execução de restaurações dentárias.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentados corretamente.

Recomendações:

60% dos trabalhos citados tem mais de 10 anos e apenas 13 % foi publicados nos últimos 5 anos. Talvez seja interessante fazer um novo levantamento para melhor embasar a pesquisa.

Fazer uma revisão da língua portuguesa. Em alguns momentos o trabalho será realizado em outros já foi.

O pesquisador deverá se atentar ao seu cronograma para envio de relatório parcial e final, sob pena de não ter protocolos analisados pelo CEPH-ICT-CSJC-UNESP. No site do ICT-CSJC-UNESP - Comitê de Ética Envolvendo Seres Humanos, encontra-se formulários e instruções de envio dos relatórios

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

ND

Endereço: Av. Eng.º Francisco José Lengo 777

Bairro: Jardim São Dimas

CEP: 12.245-000

UF: SP

Município: SAO JOSE DOS CAMPOS

Telefone: (12)3947-9078

Fax: (12)3947-9010

E-mail: ceph@foajc.unesp.br

UNESP - INSTITUTO DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA -
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS



Continuação do Parecer: 2.022.356

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado acata o parecer da relatora.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_876166.pdf	17/03/2017 14:52:20		Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto.pdf	17/03/2017 14:51:04	Pablo Lenin Benitez Sellan	Aceito
Outros	MetologiaPabloBenitezcomitedeetica.pdf	17/03/2017 14:49:04	Pablo Lenin Benitez Sellan	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoPabloBenitezComitedeEtica.pdf	17/03/2017 14:48:44	Pablo Lenin Benitez Sellan	Aceito
Outros	TermoDeDoacao.pdf	17/03/2017 14:33:57	Pablo Lenin Benitez Sellan	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO JOSE DOS CAMPOS, 19 de Abril de 2017

Assinado por:
Denise Nicodemo
(Coordenador)

Endereço: Av. Engº Francisco José Longo 777
Bairro: Jardim São Dimas CEP: 12.245-000
UF: SP Município: SAO JOSE DOS CAMPOS
Telefone: (12)3947-9078 Fax: (12)3947-9010 E-mail: cep@foajc.unesp.br

UNESP - INSTITUTO DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA -
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFEITO DA BIOMINERALIZAÇÃO COM FOSFATO DE CÁLCIO E APLICAÇÃO DE LASER NA PERMEABILIDADE DA DENTINA HUMANA E NA RESISTÊNCIA DE

Pesquisador: Pablo Lenin Benitez Sellan

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 66097117.3.0000.0077

Instituição Proponente: Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DA NOTIFICAÇÃO

Tipo de Notificação: Outros

Detalhe: Inserção de Membro na Equipe de Pesquisa

Justificativa: Inserção da aluna de Graduação Camila Reis Pampuri, na equipe do projeto.

Data do Envio: 16/11/2017

Situação da Notificação: Parecer Consubstanciado Emitido

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.398.385

Apresentação da Notificação:

A notificação foi apresentada de acordo com as normas do CONEP.

Objetivo da Notificação:

Inclusão da aluna de graduação CAMILA REIS PAMPURI, na equipe de pesquisa

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Nd

Comentários e Considerações sobre a Notificação:

Nd

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foi apresentado ofício com a solicitação de inserção da aluna na equipe de pesquisa

Endereço: Av. Engº Francisco José Longo 777

Bairro: Jardim São Dimas

CEP: 12.245-000

UF: SP

Município: SAO JOSE DOS CAMPOS

Telefone: (12)3947-9078

Fax: (12)3947-9010

E-mail: cep@foajc.unesp.br

UNESP - INSTITUTO DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA -
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS



Continuação do Parecer: 2.398.385

Recomendações:

Nd

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Nd

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado acata o parecer do relator.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	Oficio.pdf	16/11/2017 14:24:25	Pablo Lenin Benitez Sellan	Postado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO JOSE DOS CAMPOS, 24 de Novembro de 2017

Assinado por:
Denise Nicodemo
(Coordenador)

Endereço: Av Engº Francisco José Longo 777
Bairro: Jardim São Dimas CEP: 12.245-000
UF: SP Município: SAO JOSE DOS CAMPOS
Telefone: (12)3947-9078 Fax: (12)3947-9010 E-mail: ceph@foajc.unesp.br