



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

PABLO LENIN BENITEZ SELLAN

**EFEITO DA ASSOCIAÇÃO DE FOSFATO DE CÁLCIO, LASER
ND:YAG E ADESIVO NA PERMEABILIDADE DENTINÁRIA E
NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO**

2017

PABLO LENIN BENITEZ SELLAN

**EFEITO DA ASSOCIAÇÃO DE FOSFATO DE CÁLCIO, LASER ND:YAG E
ADESIVO NA PERMEABILIDADE DENTINÁRIA E NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA RESTAURADORA, Área de Dentística.

Orientador: Prof. Adj. César 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 2017]. 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).

Benitez Sellan, Pablo Lenin

Efeito da associação de fosfato de cálcio, laser Nd:YAG e adesivo na permeabilidade dentinária e na resistência de união / Pablo Lenin Benitez Sellan. – São José dos Campos : [s.n.], 2017.
94 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Odontologia Restauradora) – Pós-Graduação em Odontologia Restauradora – Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2017.

Orientador: Cesar Rogério Pucci

Coorientador: Carlos Rocha Gomes Torres

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

BANCA EXAMINADORA

Prof. Adj. Cesar Rogerio Pucci (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Adj. Carlos Rocha Gomes Torres (Coorientador)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Profa. Dra. Taciana Marco Ferraz Caneppele

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Profa. Dra. Andrea Anido Anido

Universidade Anhanguera de São Paulo

Faculdade de Odontologia

Campus Santana

São José dos Campos, 11 de Dezembro de 2017.

DEDICATÓRIA

A toda minha família, por me apoiar em todo momento, pela motivação e dedicação de seguir superando-me cada dia.

Ao meu pai, Antonio, que é a pessoa que me incentivou a seguir a odontologia, minha inspiração de superação e que me ensinou que tudo pode ser possível com dedicação e vontade.

A minha mãe, Catalina, por ser esse apoio incondicional desde que decidi seguir esta profissão.

A minha esposa, Tamara, por esse amor infinito e sua paciência, por me demonstrar que apesar da distância podemos construir uma família juntos, que me apoio desde o dia que decidi estar longe dela.

A Deus que guia meu caminho!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, por me permitir chegar a esta parte do mundo, pela sabedoria para fazer este projeto e a força para lutar cada dia.

Ao Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, por abrir as portas e me permitir formar como mestre. Por ser uma instituição que não só forma mestres ou cientistas, forma pessoas para dar o melhor de si para a sociedade.

A meus pais e minha esposa, que sempre estão torcendo para conseguir meus objetivos.

A meu orientador, Cesar Rogerio Pucci, por sua dedicação, competência e transmitir todos seus conhecimentos para a conclusão deste trabalho. A meu co-orientador, Carlos Torres, pela ajuda e apoio no trabalho.

A todos os professores do Departamento da Dentística, que de alguma forma participaram e contribuíram para minha formação desta etapa da minha profissão.

Aos amigos que fiz durante o mestrado, que me apoiaram durante os trabalhos. A Lorena, minha parceira durante as clínicas e laboratório, foi um grande apoio. A Marcos, meu companheiro e irmão, que me ajudou desde que cheguei no Brasil. A Camila, que me permitiu orientar e fez parte do trabalho.

A todos os funcionários, que formam parte desta instituição, e contribuíram para que eu pudesse finalizar o trabalho.

A CAPES, pela concessão da bolsa de estudo. A todas as pessoas, que de alguma forma contribuíram na minha formação como mestre.

"Faça o teu melhor, na condição que você tem, enquanto você não tem condições melhores, para fazer melhor ainda". Mario Sergio Cortella

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	11
RESUMO	12
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 Permeabilidade Dentinária	18
2.2 Laser Nd:YAG	25
2.3 Fosfato de Cálcio.....	33
3 PROPOSIÇÃO	40
4 MATERIAL E MÉTODOS	41
4.1 Delineamento Experimental	41
4.1.1 Unidades experimentais	41
4.1.2 Fatores de estudo.....	41
4.1.2 Variável de resposta.....	41
4.2 Adequação e preparo dos espécimes	42
4.3 Mensurações da Permeabilidade dentinária.....	46
4.3.1 Mensurações da Permeabilidade dentinária inicial	46
4.3.2 Mensurações da Permeabilidade dentinária máxima	50
4.3.3 Mensurações da Permeabilidade dentinária após cada tratamento	51
4.4 Divisão dos grupos experimentais	51
4.4.1 Aplicação do Fosfato de Cálcio	53
4.4.2 Características do laser e da técnica de irradiação	53
4.4.3 Cálculo da densidade de energia.....	54
4.4.3 Aplicação do Sistema Adesivo	55
4.5 Técnica Restauradora	56
4.6 Ciclagem Termomecânica	57
4.7 Teste de resistência a microtração.....	57
4.8 Análises ilustrativas por microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	59

4.9 Análise por microscópio confocal de varredura a laser, zimografia <i>in situ</i>	59
4.10 Forma de análise dos resultados	60
5 RESULTADO	62
5.1 Análise estatística	62
5.1.1 Estatística para permeabilidade dentinária	62
5.1.2 Estatística para resistência de união	63
5.1.3 Correlação para teste de permeabilidade e resistência de união	67
5.2 Microscopia Eletrônica de Varredura	67
5.3 Microscopia Confocal de Varredura a Laser	69
6 DISCUSSÃO	73
6.1 Da Metodologia	73
6.2 Dos Resultados	77
7 CONCLUSÃO	82
REFERÊNCIAS	83
ANEXO	90

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Preparo dos dentes para obtenção dos espécimes	41
Figura 2 - Preparo dos espécimes	43
Figura 3 - Padronização da espessura da amostra	44
Figura 4 - Remoção do smear layer do lado pulpar	45
Figura 5 - Descrição do aparelho THD-02b	46
Figura 6 - Montagem da amostra na câmara de perfusão	47
Figura 7 - Remoção de smear layer para permeabilidade máxima	49
Figura 8 - Delineamento dos grupos da pesquisa	51
Figura 9 - Tipos de tratamento em dentina	54
Figura 10 - Características do laser	55
Figura 11 – Técnica Restauradora.....	55
Figura 12 – Ciclagem Termomecânica.....	56
Figura 13 – Teste de Resistência de União.....	58
Figura 14 - Gráfico que mostra a permeabilidade inicial e final de cada grupo	62
Figura 15 - Gráfico que mostra a resistência de união de todos os grupos	65
Figura 16 - Gráfico que mostra os tipo de fratura	65
Figura 17 - Gráfico que mostra a correlação entre a permeabilidade e a resistência de união	66
Figura 18 - Fotomicrografias que mostra as imagens obtidas pelo MEV.....	67
Figura 19 – Imagens obtidas pelo MCVL do Grupo A (Adesivo).....	68
Figura 20 – Imagens obtidas pelo MCVL do Grupo AL(Adesivo + Laser)	69
Figura 21 – Imagens obtidas pelo MCVL do Grupo LAL(Laser + Adesivo + Laser).....	69
Figura 22 – Imagens obtidas pelo MCVL do Grupo FA(Fosfato + Adesivo).....	70
Figura 23 – Imagens obtidas pelo MCVL do Grupo FAL(Fosfato + Adesivo + Laser)	70

Figura 24 – Imagens obtidas pelo MCVL do Grupo FLAL(Fosfato + Laser + Adesivo + Laser).....	71
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados do teste ANOVA a um fator e teste t pareado para permeabilidade.....	62
Tabela 2 - Resultados do teste ANOVA a dois fatores para a resistência de união	63
Tabela 3 - Resultados do teste Tukey (5%) para o fator Tratamento.....	63
Tabela 4 - Resultados do teste Tukey (5%) para o fator Fosfato.....	64
Tabela 5 - Resultados do teste Tukey (5%) para interação entre os fatores Tratamento e Fosfato	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
CO	comprimento
CP	constante de proporcionalidade
CP	constate de proporcionalidade
CPP-ACP	fosfato de caseína-fosfato de cálcio amorfo
DC	diâmetro do calibre interno
DE	densidade de energia
DL	deslocamento linear
EDTA	ácido etileno diamino tetracético
Er:YAG	Érbio: ítrio-alumínio-granada
FKR	tampão fosfato Krebs Ringer
FTIR / ATR	Técnica de Reflexão Total Transformada de Fourier Atenuada
Lp	condutância hidráulica
Lpmax	condutância hidráulica máxima
MCVL	microscopia confocal de varredura a laser
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MPa	Megapascal
Nd: YAG	Neodímio: ítrio-alumínio-granada
Nd: YLF	Neodímio: ítrio-lítio-fluoruro
P	pressão hidrostática
PMin	Permeabilidade mínima
PVC	poli cloreto de vinil
Q	taxa de filtração
RMGI	Ionômero de vidro modificado por resina
VI	volume interno de todo capilar

Benitez Sellan PL. Efeito da associação de fosfato de cálcio, laser Nd:YAG e adesivo na permeabilidade dentinária e na resistência de união [dissertação]. 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 do tratamento com a associação de fosfato de cálcio, laser de Nd:YAG e sistema adesivo na permeabilidade dentinária e na resistência de união. Foram utilizados 60 discos de dentina com aproximadamente 6 mm de diâmetro e 1,5 mm de altura, obtidos de molares humanos hígidos. Os espécimes foram divididos em dois grupos de acordo com a prévia aplicação ou não do fosfato de cálcio (TeethMate Desensitizer - Kuraray Notitake Dental Inc.). Cada grupo foi dividido em três subgrupos conforme o tratamento realizado (n=10): A- Adesivo (Single Bond Universal - 3M-ESPE), AL- Adesivo + Laser (Nd: YAG 60 mJ) , LAL- Laser + Adesivo + Laser. A permeabilidade foi mensurada em três momentos: com smear layer presente (inicial), após a abertura dos túbulos (máxima) e depois do tratamento (final). O percentual da permeabilidade inicial e final foi calculada em relação a permeabilidade máxima. Após a fotopolimerização do adesivo foi aplicado uma camada de 3 mm com a resina composta Filtek Z350 XT (3M-ESPE) com técnica incremental. Os espécimes foram submetidos a 5000 ciclos térmicos e 120.000 ciclos mecânicos, e posteriormente foi utilizado o teste de microtração. Adicionalmente foram observados em microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia confocal de varredura a laser (MCVL). Os grupos foram analisados pelo teste da análise de variância (ANOVA), teste t pareado e teste Tukey, adotando o nível de significância de 5%. 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 (A: 42,11; AL: 39,09; LAL: 35,78; FA: 40,38; FAL: 34,23; FLAL: 30,25). O teste t pareado mostrou que o tratamento LAL promoveu uma redução significativa da permeabilidade em relação à inicial, tendo o fosfato de cálcio sido (p=30,25) ou não aplicado (p=35,78). Os tratamentos tiveram diferenças significativas na resistência de união, foi observado que os grupos FAL(31,53MPa), FLAL(31,37MPa) e AL(29,72MPa) apresentaram as maiores médias, que diferiram estatisticamente dos grupos restaurados só com Adesivo. Os demais grupos não apresentaram diferenças significantes (A: 24,34MPa; FA: 26,40MPa; LAL: 29,68MPa). Podemos concluir que o laser Nd:YAG aplicado antes e depois do sistema adesivo (Com e sem Fosfato de Cálcio), influenciou na redução da permeabilidade dentinária e os diferentes tratamentos na dentina influenciam significativamente a resistência de união entre a dentina e a resina, os grupos FAL, FLAL e AL apresentaram os melhores resultados. A correlação entre os parâmetros não teve influencia.

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

Benitez Sellan PL. Effect of the association of calcium phosphate, Nd:YAG laser and adhesive on dentin permeability and bond strength [dissertation]. 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 effect the association of calcium phosphate, Nd:YAG laser and adhesive system on dentin permeability and bond strength. Sixty dentin discs, approximately 6 mm in diameter and 1,5 mm high, were obtained from healthy human molars. The specimens were divided into two groups according to the prior application of calcium phosphate (TeethMate Desensitizer - Kuraray Noritake Dental Inc.). Each group was divided into three subgroups according to the treatment performed: A-Adhesive (Single Bond Universal - 3M-ESPE), AL- Adhesive + Laser (Nd: YAG 60 mJ) and LAL- Laser + Adhesive + Laser. The dentin permeability was measured in three moments: with smear layer present (initial), after opened tubules (maximum) and after treatment (final). The percentage of the initial and final permeability was calculated in relation to the maximum permeability. After adhesive photopolymerization, was applied the composite resin Filtek Z350 XT (3M-ESPE) with incremental technique. The specimens were cycled to 5000 thermal cycles and 120,000 mechanical cycles, and microtensile bond strength test was applied. Additionally they were observed in scanning electron microscopy (SEM) and confocal laser scanning microscopy (CLSM). The groups were analyzed by ANOVA, paired t test and Tukey test (5%). No significant differences were observed between the groups on initial permeability ($p=0.48$) and after treatment ($p=0.70$). Permeability percentage after treatment was (A: 42.11, AL: 39.09, LAL: 35.78, FA: 40.38, FAL: 34.23, FLAL: 30.25). The paired t-test showed that LAL treatment promoted a significant reduction of the permeability in relation to the initial one, with calcium phosphate ($p=30.25$) or not applied ($p=35.78$). The treatments had significant differences in bond strength; FAL (31,53 MPa), FLAL (31,37 MPa) and AL (29,72 MPa) groups presented the highest averages, which differed statistically from the groups restored with only Adhesive. The other groups did not present statistically significant differences (A: 24.34 MPa, AF: 26.40 MPa, LAL: 29.68 MPa). It can be concluded that when the Nd:YAG laser was applied before and after the adhesive system (with and without Calcium Phosphate), it influenced the reduction of dentin permeability and the different treatments in dentin significantly influenced the bond strength between dentin and resin, the groups AL, LAL with application of Phosphate and AL without the use of Phosphate showed the best results. The correlation between the parameters had no influence.

Keywords: *Dentin permeability. Calcium phosphate. Nd:YAG Laser. Bond Strength.*

1 INTRODUÇÃO

A adesão às estruturas dentárias está em constante evolução com o intuito de melhorar a interface adesiva entre o dente e o material restaurador, sendo Buonocore (1955) o primeiro a introduzir a técnica de condicionamento ácido em esmalte, utilizando ácido fosfórico para que sistemas adesivos pudessem penetrar nos prismas de esmalte condicionado, envolvendo cristais de hidroxiapatita e aumentando a resistência de união dente-restauração.

Posteriormente, Nakabayashi et al. (1982) demonstraram que resinas poderiam se infiltrar em dentina condicionada por ácido fosfórico, formando uma adesão reforçada pelo contato das fibras colágenas com o composto resinoso, gerando assim o conceito da camada híbrida.

No entanto, um dos fatores que podem colaborar na degradação da interface adesiva é a água, exercendo um papel antagônico no processo de adesão na superfície dentinária. Na dentina desmineralizada, a presença de água mantém a matriz de colágeno plenamente expandida, uma vez que devido ao seu elevado parâmetro de solubilidade, esse elemento forma ligações de hidrogênio com os peptídeos das fibrilas colágenas impedindo sua aproximação (Carvalho et al., 1996). Para os sistemas autocondicionantes, a água pode influenciar na diluição dos monômeros ácidos e em sua atuação na smear layer e na dentina subjacente (Van Landuyt et al., 2010; Van Meerbeek et al., 2011).

Dessa forma, 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 (Gwinnett, 1992). Em excesso, pode afetar negativamente a integridade da união resina-dentina, resultando na formação de uma camada híbrida com um maior número de imperfeições (Tay et al., 1996), por favorecer a separação de fases dos componentes presentes no agente de união (Spencer, Wang, 2002).

Adicionalmente, o excesso de umidade influencia negativamente a evaporação dos solventes (Yiu et al., 2005), e o processo de polimerização da resina (Jacobsen, Soderholm, 1995). Ainda, a presença da água torna-se um fator indispensável para ativação das metaloproteinases, que promovem a degradação do

colágeno (Pashley et al., 2004). 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), os autores utilizaram 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, mas também apresentam uma tendência de ultrapassar em direção à interface adesivo-resina composta. No mesmo ano, Tay et al. (2005) utilizaram dentina cariada translúcida para realizar nanoinfiltração e observaram que a formação de “Water Trees” reduziu com a presença de túbulos dentinários ocluídos presentes 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 que superem esta dificuldade.

Alternativas têm sido estudadas para diminuir a presença de água na interface adesiva. A irradiação de laser sobre a superfície dentinária pode causar a desnaturação e reduzir o conteúdo de material orgânico (Ishizaka et al., 2002). A redução na permeabilidade como consequência à fusão e a posterior recristalização da superfície do tecido foi relatada por Lee et al. (2002) utilizando o laser de Neodímio: ítrio-alumínio-granada. O Nd: YAG tem sido investigado para irradiar dentina antes ou depois da aplicação do adesivo (Tanji, 1998).

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 (Rolla et al., 2006). Assim, 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 (Liu et al., 1997). Na superfície da dentina, a irradiação com este 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 (Lin et al., 2001).

Matos et al. 2000, sugerem que o melhor momento para a aplicação do laser Nd: YAG é após a aplicação do adesivo devido a que resistência à tração foi maior, porém anteriormente à sua polimerização. Gonçalves et al. (1999), descreveram que

esta 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 (Ghiggi et al., 2010). Dessa forma, nota-se o potencial do laser de Nd: YAG na obtenção de uma superfície dentinária com permeabilidade reduzida, diminuindo a degradação causada pela presença da água, independente do momento em que ocorre a irradiação.

No que se relaciona à utilização de materiais antes da irradiação com laser foi encontrado na literatura a utilização de Biovidro (Bakry et al., 2011), pasta de hidroxiapatita misturada com ácido fosfórico (Bakry et al., 2016) e vernizes fluoretados (Kara, Orbak, 2009; Chiga et al., 2016), também utilizados com a finalidade de reduzir a permeabilidade dentinária e demais fatores. A utilização do Di e Tetra-cálcio fosfato ocorreu baseada na evidência da eficácia em reduzir a permeabilidade dentinária e ocluir os túbulos dentinários demonstrado no trabalho de Zhou et al. (2016), que relataram um desempenho superior comparado com demais produtos indicados para essa finalidade. Considerando que a dentina irradiada pelo laser Nd: YAG é fundida e resolidificada, obtendo-se uma obliteração dos túbulos dentinários (Liu et al., 1997; de Magalhaes et al., 2004; Naylor et al., 2006; Zapletalova et al., 2007; Al-Saud, Al-Nahedh, 2012), e que a irradiação do Nd:YAG tem sido associada à menor permeabilidade dentinária (Aranha et al., 2005), especula-se que o Di e Tetracálcio fosfato podem ser incorporados no processo e colaborar com a obliteração dos túbulos dentinários favorecendo a redução da permeabilidade dentinária.

Embora a irradiação direta do laser na dentina seja vantajosa, por diminuir a permeabilidade dentinária (Lee et al., 2002), e conseqüentemente promover a prevenção da degradação do colágeno no processo adesivo, há poucos relatos combinando o laser 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.

Portanto, torna-se relevante investigar o efeito na permeabilidade dentinária e o desempenho da resistência de união na associação de fosfato de cálcio, laser Nd:YAG e sistema adesivo na dentina humana, pois a permeabilidade pode influenciar com maior ou menor intensidade no processo de adesão.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Para melhor entendimento e uma adequada organização, a revisão de literatura foi dividida em três tópicos: 2.1 Permeabilidade Dentinária 2.2 Laser Nd:YAG 2.3 Fosfato de cálcio.

2.1 Permeabilidade Dentinária

Com a finalidade de testar a permeabilidade dentinária, Pashley et al. (1981) examinaram a aparência da dentina antes e depois de remover a smear layer sequencialmente com tratamentos de ácido cítrico diluído. Para este estudo *in vitro* utilizaram vinte discos de dentina obtidos de terceiros molares humanos extraídos, os lados pulpaes dos discos foram condicionados por 1 minuto com ácido cítrico a 50% para abrir a extremidade pulpar dos túbulos, simulando assim as condições *in vivo*. Cada disco de dentina foi colocado em uma câmara de perfusão com FKR (tampão fosfato Krebs Ringer) em cada lado. Depois os discos foram condicionados no lado do esmalte no interior da câmara para por 5, 15, 30, 45, e 60 segundos com um ácido cítrico a 6%, o que foi, imediatamente enxaguado com FKR. A taxa de filtração foi então recalculada, e nos discos foi feito o ataque ácido por mais um período de tempo definido. Vários discos de dentina que representam cada um dos intervalos de tempo de erosão foram processados para MEV. Após a desidratação foram revestidas em vácuo com uma fina película de ouro e examinadas. Uma vez que as micropipetas usadas para medir a condutância hidráulica (L_p) têm diâmetros constante, dividindo o volume da pipeta por seu comprimento dá uma constante de proporcionalidade que converte o deslocamento linear. Os resultados deste estudo mostraram que a permeabilidade dentinária aumentou rapidamente durante o condicionamento ácido com ácido cítrico a 6%, atingindo um valor máximo depois de apenas 15 segundos de condicionamento.

Pashley et al. (1987) procuraram determinar se a permeabilidade de segmentos de coroa e de discos de dentina preparados a partir desses segmentos,

é heterogênea ou homogênea. Isto foi medido qualitativamente usando corantes e quantitativamente por condutância hidráulica em discos de dentina e segmentos de coroa *in vitro*. A permeabilidade qualitativa da dentina nos segmentos da coroa foi heterogênea ou não uniforme. A maior permeabilidade foi sobre os cornos da polpa e mais baixa no centro. Quando as mesmas medidas foram feitas em discos de dentina, a permeabilidade permaneceu heterogênea, embora os discos tivessem uma espessura uniforme e não tivessem evidências de cornos pulpares na superfície da polpa. Ambos os tipos de preparo demonstraram grandes diferenças regionais na permeabilidade, com os valores mais altos na periferia e os mais baixos no centro do disco ou coroa. As indicações qualitativas de permeabilidade dentinária regional foram confirmadas quando os discos foram colocados na câmara dividida para a medição quantitativa da condutância hidráulica (L_p). Os autores concluíram, como a permeabilidade da dentina pode variar 3-10 vezes em alguns milímetros, os pesquisadores devem usar uma área de superfície tão grande quanto possível para compensar essas diferenças regionais e obter uma média da superfície toda.

Goodis et al. (1993) estudaram os efeitos da duração do armazenamento e a solução de armazenamento sobre a permeabilidade da dentina e a resistência adesiva. Foram estudados ao longo de um período de 8 dias a 6 meses. Os dentes foram armazenados imediatamente após a extração em uma das cinco soluções comumente usadas: etanol a 70% (E); 10% de formalina (F); Água destilada (A); Água destilada com timol (AT); ou solução salina tamponada com fosfato com timol (ST). As medidas de permeabilidade e de resistência à união por cisalhamento foram avaliadas em um projeto de medidas repetidas ($n=20$) após 8 dias, 15 dias e 6 meses. A permeabilidade dentinária variou com o tipo de solução e a duração do armazenamento, conforme demonstrado pela ANOVA, aumentou para F, E e as soluções à base de água, respectivamente. O armazenamento salino resultou em grandes e significativas reduções na permeabilidade após armazenamento prolongado, sugerindo mudanças sobre a dentina. O tempo de armazenagem ou o tipo de solução não afetaram a resistência de união, exceto para solução salina. Deste modo, os valores de permeabilidade e resistência de união podem ser afetados pelas condições de armazenamento. Os autores concluíram que a solução salina, a solução mais comumente utilizada na pesquisa de materiais dentários, pode ser inadequada para uso como resultado de seu efeito sobre a permeabilidade

da dentina e a força de adesão.

Pashley e Carvalho (1997) realizaram uma revisão da literatura com o objetivo de rever a estrutura da dentina ao que se refere à substância adesiva e descrever a importância da penetração de resina nos túbulos dentinários e em espaços criados entre fibrilas de colágeno pelo condicionamento ácido durante a união da resina. As vantagens e desvantagens de condicionamento ácido separada, primer e aplicações adesivas são discutidas. Apesar de não ser uma revisão exaustiva, os conceitos incluídos na revisão foram obtidos a partir da literatura sobre adesão em dentina. Foram feitas tentativas para avaliar criticamente o que se sabe sobre a permeabilidade dentinária e adesão e o que resta para ser descoberto. Especulações foram feitas sobre uma série de questões controversas que ainda não foram resolvidas. Os autores concluíram que o condicionamento ácido da dentina produz mudanças profundas na composição química e nas propriedades físicas da matriz, que podem influenciar negativamente a qualidade de adesão de resina-dentina, a sua força e, talvez, sua durabilidade.

Para investigar a infiltração de solução salina fisiológica através da dentina após a aplicação de sistemas adesivos dentinários auto-condicionante, Gregoire et al. (2003) utilizaram no seu estudo trinta e seis terceiros molares humanos hígidos de pacientes de 18 a 25 anos de idade. Discos de dentina foram cortados a partir de segmentos de coroa paralela à superfície oclusal, na porção oclusal da cavidade pulpar. Os 36 discos, com 1 mm de espessura, foram divididos em 6 grupos, cada um dos quais recebeu um dos seguintes sistemas adesivos: Optibond Solo Plus e Excite, que têm etanol como solvente; Prime & Bond NT, que tem acetona como o solvente; Single Bond, que tem uma mistura de solventes; e Clearfil SE Bond ou Prompt L-Pop, ambos sistemas autocondicionantes. A condutância hidráulica, o volume de fluido transportado através de uma área conhecida da superfície ($0,28 \text{ cm}^2$) por unidade de tempo sob um gradiente de pressão da unidade ($200 \text{ cm H}_2\text{O}$), foi analisada para a sistemas autoadesivos e sistemas adesivos de dentina 1-bottle com o aparelho de Flodec. Ambos os lados de cada amostra foram condicionados com ácido fosfórico a 36% durante 30 segundos. As medições foram feitas a cada 30 segundos durante 15 minutos. A medição inicial serviu como valor de referência para cada espécime. As medições foram repetidas quando uma camada de smear layer tinha sido formada e, finalmente, depois um dos 6 sistemas de adesivos

tivesse sido aplicado. Os dados foram analisados pelo uso de análise de variância e testes a posteriori (PLSD de Fischer, nova gama múltipla de Duncan) com 0,05. Em conclusão, os 4 sistemas adesivos testados com condicionamento total, proporcionou uma maior diminuição da permeabilidade dentinária do que os 2 sistemas auto-condicionantes. A diferença, na diminuição da permeabilidade foi significativa para PromptL-pop, mas não para Clearfil SE Bond.

Para constatar a hipótese de que o sistema adesivo de condicionamento total de dois passos é eficaz na redução da permeabilidade dentinária em condições in vivo, Tay et al. (2004) testaram em preparações para coroa em dentes humanos vitais realizados sob analgesia local como parte do plano de tratamento para reabilitação protética, foram aplicados quatro adesivos de dois passos (Single Bond, 3M ESPE; Excite DSC, Ivoclar Vivadent; Prime and Bond NT Dual-Cure, Dentsply DeTrey e One-Step, Bisco Inc.) na dentina seccionada após condicionamento ácido. Foram realizadas moldagens de Polivinil siloxano, usando um material de moldagem de ultra-baixa viscosidade, para copiar a superfície da dentina recoberta por smear layer e após procedimento adesivo. Moldagens adicionais foram realizadas, sete ou dez dias após o procedimento adesivo e a remoção de coroas provisórias. Réplicas de resina epóxica das preparações de coroa foram examinados com microscopia eletrônica de varredura para avaliar a extensão da transudação de fluido dentinário durante a pre-adesão, imediatamente após a adesão e depois de um período da realização da adesão. Os autores observaram em todas as réplicas, transudação de fluido dentinário em áreas que estavam localizadas perto da polpa dentária, independentemente do adesivo utilizado. Os autores concluíram que os adesivos de condicionamento total a dois passos, devido à sua falta de uma camada de resina-adesivo comparativamente mais hidrofóbica, se comportam como membranas permeáveis após polimerização. Eles permitem a transudação contínua de fluido de dentina e não proporcionam uma vedação hermética em dentina profunda vital. Embora a taxa de difusão relativamente lento a do fluido de dentina é pouco provável que resulte na sensibilidade pós-operatória, isto pode interferir com a correta polimerização em compósitos ou cimentos resinosos em ambas as restaurações diretas e indiretas de ativação dual e autopolimerizáveis.

Santiago et al. (2006) avaliaram a influência do tempo após a aplicação de soluções de oxalato na redução da condutância hidráulica da dentina. Cinquenta

discos de dentina foram obtidos de terceiros molares humanos extraídos e atribuídos a 5 grupos (n=10), de acordo com o agente dessensibilizante utilizado: Grupo I: OxaGel; Grupo II: agente experimental DD-1 (Dessensibilizante dentinário-1); Grupo III: agente experimental DD-2. Nos Grupos IV e V, utilizou-se como controle um gel placebo e água deionizada. Os agentes foram aplicados durante 3 min, lavados e a condutância hidráulica foi medida imediatamente e a intervalos de 5, 15 e 30 minutos e após ataque ácido. Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA dois fatores e teste de Duncan a nível de significância de 5%. Os grupos I, II e III não diferiram significativamente entre si em nenhum dos intervalos de tempo ($p>0,05$). Da mesma forma, os grupos IV e V foram estatisticamente semelhantes entre si ($p>0,05$). Os agentes ativos reduziram significativamente a permeabilidade da dentina em comparação com os grupos de controle ($p<0,05$). A permeabilidade da dentina medida *in vitro* diminuiu significativamente com o tempo independentemente do agente aplicado (agentes ativos ou de controle). Os autores concluíram que o sistema interfere nos resultados de filtração em função do tempo porque houve uma tendência para a redução dos valores de filtração quando o sistema flui livremente através dos intervalos de tempo testados. Em teoria os agentes dessensibilizantes devem ser interpretados como a diferença entre sua redução efetiva e a redução natural proporcionada pelo sistema. Tendo em conta que o sistema produziu uma redução imediata de 25% na filtração, pode-se inferir que todo agente suposto para ocluir os túbulos dentinários terá um efeito positivo apenas se ultrapassar o próprio efeito obstrutivo do sistema.

Com o objetivo de medir a capacidade de um novo ionômero de vidro modificado por resina (RMGI) de pasta-líquido (Vanish XT; 3M Espe) para reduzir o fluxo de fluido através da dentina humana, em comparação com um adesivo de condicionamento total de dois passos indicado (Adper Single Bond Plus; 3M Espe) para dessensibilização radicular, Rusin et al. (2010) testaram a permeabilidade dentinária medindo cortes de coroa humana em dentina condicionada, apresentando um modelo para os túbulos expostos típicos da sensibilidade radicular e permitindo a medição da permeabilidade máxima. Nos dois primeiros grupos, a dentina condicionada foi coberta com RMGI ou adesivo, e a permeabilidade foi medida na dentina tratada. Em um terceiro grupo, uma camada de smear layer foi criada na dentina com lixa, e em seguida, os espécimes foram cobertos com o RMGI; A

permeabilidade foi medida na dentina tratada e com smear layer. Os espécimes de cada grupo foram seccionados e examinados por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Tanto o adesivo quanto o material protetor RMGI de pasta líquida reduziram significativamente o fluxo de fluido através da dentina e exibiram excelente vedação na dentina com túbulos abertos ou túbulos obstruídos com smear layer. O RMGI infiltrou a smear layer com resina durante a colocação, penetrou nos túbulos da dentina e formou tags de resina. Os autores concluíram que o RMGI foi equivalente ao adesivo na sua capacidade de reduzir o fluxo de fluido e selar a dentina. Portanto, o novo RMGI e o adesivo mostram o potencial para oferecer excelente alívio de sensibilidade na dentina radicular exposta e capacidade de reduzir o fluxo de fluidos e permeabilidade dentinária.

Carvalho et al. (2012) avaliaram o efeito dos sistemas adesivos e aplicação de estratégias sobre a condutância hidráulica da dentina. O esmalte vestibular foi removido de incisivos bovinos para simular preparos cavitários para laminados. Depois de remover as raízes e a polpa coronária, a dentina foi tratada com uma solução de EDTA (0,5 M) durante 5 minutos, enxaguada, colocada em ultrassom durante 12 minutos, e conectada a um dispositivo de permeabilidade. A condutância Hidráulica das amostras foi medida a 10 psi (n=5). A permeabilidade foi medida antes e após os procedimentos de adesão usando sistemas adesivos G-Bond (GB), Clearfill Tri-S Bond (CTS), Hybrid Coat (HY), Bond Force (BF), Adper Easy Bond (AEB) Silorane (SI), Clearfill SE Bond (CSE) e Adper Scotchbond Multi-Purpose (SMP). Os quais foram aplicados: 1) de acordo com as instruções do fabricante; 2) duas camadas de adesivos autocondicionantes all-in-one (GB, CTS, HY, BF, AEB) ou passo de priming mais duas camadas de adesivo para os outros sistemas (SI, CSE e SMP); e 3) uma camada fina de um compósito fluido aplicado sobre uma camada de adesivo autocondicionante all-in-one ou de superfície preparada para adesivos SI, CSE e SMP. Não houve diferença significativa entre os modos de aplicação relativos à sua capacidade de reduzir a condutância hidráulica. Nenhum dos adesivos mostrou vedação completa (100%) da dentina do dente de bovino. SI apresentou valores menores que Lp e SMP, no entanto, eles não foram significativamente diferente dos outros sistemas. Os resultados sugerem que todos os sistemas testados, em resultado de uma redução de condutância hidráulica de mais do que 90%. A técnica de adesão úmida parece ser mais sensível para o

selamento da dentina.

Calabria et al. (2014) testaram o efeito do tetrafluoreto de titânio (TiF) em comparação com o fluoreto de sódio (NaF) e o gel de oxalato de potássio na redução da condutância hidráulica (Lp) na perspectiva da diminuição da permeabilidade dentinária. A Lp dos discos de dentina (1.0 ± 0.2 mm) foi avaliada utilizando Flodec. Os valores máximos de Lp de cada disco foram tomados após ataque com ácido fosfórico (15 s) e distribuídos aleatoriamente em sete grupos (n=8) de acordo com os tratamentos. Foram registados os valores mínimos de Lp (smear layer) e os valores máximos (depois de ácido). Os tratamentos foram realizados durante 4 minutos como se segue: 1) verniz NaF 2) e solução (2.45% F, pH 5.0), 3) verniz TiF e 4) solução (2.45% F, pH 1.0), 5), 6) verniz fluorado livre (placebo, pH 5,0), 7) e sem tratamento (controle). A Lp após cada tratamento foi avaliada. As amostras foram expostas a um desafio erosivo (ácido cítrico a 6%, pH 2,1, 1 minuto), e a Lp final foi registada. Os dados foram analisados estatisticamente utilizando ANOVA dos factores ($p > 0,05$). Todos os tratamentos foram eficazes na redução da Lp da dentina em comparação com o controle imediatamente após a aplicação. Contudo, apenas o oxalato de potássio e o verniz NaF diferiram significativamente do verniz placebo ($p < 0,0001$). Os mesmos resultados foram encontrados após o desafio erosivo. Portanto os autores concluíram que o tetrafluoreto de titânio foi menos eficaz do que o verniz fluoreto de sódio e o gel de oxalato de potássio na redução da permeabilidade dentinária utilizando este modelo experimental. Tanto o verniz NaF como o gel de oxalato de potássio reduziram a Lp de modo semelhante à presença de smear layer.

Para constatar as hipóteses que a camada de fosfato de cálcio formada irá diminuir a permeabilidade da dentina e que a aplicação do laser Nd: YAG tornará a camada formada mais resistente à erosão ácida, Bakry et al. (2016) testaram a eficácia de uma pasta de hidroxiapatita para diminuir a permeabilidade da dentina e resistir a um desafio de erosão. O pó de hidroxiapatita foi misturado com ácido fosfórico a 25% para formar uma pasta que foi aplicada na dentina com orifícios de túbulos dentinários padronizados (tratados com EDTA, 2 min) e a camada resultante formada em cima da dentina foi irradiada por laser Nd: YAG. As superfícies de dentina tratadas foram expostas ao desafio de erosão (ácido cítrico a 6%, 1 min). A permeabilidade da dentina foi medida antes e após a aplicação da pasta de

hidroxiapatita, antes e após o desafio de erosão, antes e após a aplicação do laser Nd: YAG utilizando um dispositivo de câmara dividida. As superfícies superiores e fraturadas de dentina foram examinadas com microscópio eletrônico de varredura (MEV). Além disso, a natureza química dos compostos formados no topo da superfície da dentina foi examinada usando o MEV equipado com espectroscópio de raios X dispersivo de energia (EDS) e FTIR / ATR (Técnica de Reflexão Total Transformada de Fourier Atenuada). O teste de Mann-Whitney ($p < 0,05$) foi utilizado para comparar os efeitos do uso da pasta de hidroxiapatita na permeabilidade dentinária e na relação cálcio / fosfato das superfícies dentinárias tratadas. A aplicação da pasta de hidroxiapatita na dentina diminuiu significativamente a permeabilidade dentinária ($p < 0,05$). A pasta de hidroxiapatita foi capaz de ocluir os orifícios dos túbulos dentinários padronizados com uma camada de compostos de fosfato de cálcio e a aplicação do laser Nd: YAG sobre a camada acima mencionada melhorou a sua resistência à erosão. Os autores concluíram que a aplicação da pasta de hidroxiapatita à dentina foi capaz de ocluir os orifícios dos túbulos dentinários padronizados com uma camada de cristal de fosfato de cálcio semelhante a estruturas e que era capaz de diminuir a permeabilidade da dentina. No entanto, o custo e conhecimento para o uso de laser Nd: YAG são fatores importantes devem ser levados em consideração antes de usar a técnica acima mencionada.

2.2 Laser Nd:YAG

A permeabilidade e hipersensibilidade da dentina são reduzidas quando os túbulos dentinários são ocluídos. Previamente a microscopia eletrônica de varredura estudos mostraram que Nd: YAG poderiam causar derretimento da dentina e fechamento parcial dos túbulos dentinários expostos, sem fraturar a superfície de dentina. Portanto, Liu et al. (1997) avaliaram a profundidade de selamento do laser Nd:YAG nos túbulos dentinários humanos. Foram testados trinta e seis amostras de dentina com orifícios de túbulos dentinários expostos. As amostras foram divididas aleatoriamente em três grupos. Os grupos A e B foram irradiadas pelo laser Nd:

YAG na energia de 30 mJ com 10 pulsos/s para um ataque ao longo da superfície da dentina. Grupo C não foi irradiado e serviu como um controle. Posteriormente, o grupo B foi congelado em nitrogênio líquido e dividido por um cinzel afiado. Sob observação em microscopia eletrônica de varredura, espécimes não irradiados mostraram os numerosos orifícios expostos dos túbulos dentinários, e espécimes irradiados mostraram derretimento da dentina e fechamento de orifícios túbulos dentinários expostos. A profundidade de selamento de laser Nd: YAG em túbulos dentinários humanos foi de $\sim 4\mu\text{m}$.

Schaller et al. (1997) investigaram os efeitos do tratamento com laser Nd: YAG sobre a permeabilidade da dentina. Quarenta discos de dentina foram preparados por corte horizontal através do terço médio coronal dos terceiros molares não cariados recém extraídos. Foram divididos em três grupos de teste e um grupo de controle (n=10). Para os grupos de teste foram escolhidas três configurações de potência de laser diferentes: grupo de teste A: 3x60 s, 60 mJ; Grupo de teste B: 3x60 s, 90 mJ; teste grupo C: 3x60 s, 120 mJ. Não foi realizado tratamento com laser no grupo de controle. Num sistema de duas câmaras, mediu-se a taxa de filtração dos túbulos dentinários a partir de uma área exatamente definida dos espécimes utilizando uma solução de Ringer radioativa sob uma pressão de 30 cm H₂O. As medidas de permeabilidade foram realizadas três vezes antes da irradiação, três vezes imediatamente após o tratamento com laser e seis vezes após a aplicação do ácido fosfórico. A análise de variância mostrou uma influência significativa do tratamento com laser Nd:YAG na permeabilidade da dentina ($p<0001$). O condicionamento das superfícies irradiadas teve uma influência estatisticamente significativa na permeabilidade apenas no grupo 60 mJ ($p<0001$). Os dados mostram que o tratamento com laser Nd:YAG aumenta frequentemente a permeabilidade da dentina coberta com a camada de esfregaço, mas modera o aumento da permeabilidade após o condicionamento da superfície com ácido fosfórico.

Com objetivo de investigar os efeitos da irradiação com laser ND: YLF (1,31 J / cm², 250 mJ por pulso), ataque ácido e hipermineralização sobre a resistência ao cisalhamento do sistema adesivo Scotchbond Multi-Purpose Plus (3M Dental Products), Gonçalves et al. (1999) testaram sessenta incisivos bovinos que foram selecionados e armazenados a -18°C. A superfície bucal dentária foi exposta e

radiografias foram feitas para controlar a espessura da dentina. Os espécimes foram separados em 2 grupos: (1) controle, que foi mantido em água destilada a 4°C; (2) o hipermineralizado, que foi mantido em solução hipermineralizante a 4°C por 14 dias. Cada grupo foi dividido em 3 subgrupos de acordo com o tipo de pré-tratamento de dentina utilizado: M (ataque ácido + primer + adesivo); AL (ataque ácido + primer + adesivo + laser); e LA (laser + ataque ácido + primer + adesivo). Após a inserção da resina composta (Z100-3M), foi realizado o SBS numa máquina Instron (célula de carga de 500 Kg a 0,5 mm / min), seguido de microscopia electrónica de varredura (MEV) e análise de difracção de raios X. Os dados foram submetidos ao teste estatístico ANOVA e Duncan os quais obtiveram resultados que demonstraram que o tratamento da dentina com laser após a aplicação do sistema adesivo é eficiente na obtenção de maior resistência adesiva e é promissor como um possível novo substrato adesivo.

Matos et al. (2000) avaliaram a resistência à tração da resina composta sobre esmalte e dentina, tratada com laser Nd: YAG antes e após os procedimentos adesivos. Quarenta e oito dentes humanos foram utilizados e separados em seis grupos: Grupo 1 (controle do esmalte), Clearfil Liner Bond 2V (CLB 2V); Grupo 2 (esmalte), Nd: YAG + CLB 2V; Grupo 3 (esmalte), CLB 2V + Nd: YAG; Grupo 4 (controle da dentina), CLB 2V; Grupo 5 (dentina), Nd: YAG + CLB 2V; Grupo 6 (dentina), CLB 2V + Nd: YAG. Realizou-se a resistência à tracção, mostrando que as médias do esmalte (15,54) foram menores que as médias da dentina (20,38). A resistência à tração do laser antes (15,73) foi menor do que o laser após (20,65) do sistema adesivo. Resultados de interação entre os grupos foram estatisticamente significativos. Assim os autores concluíram que a resistência à tração dos compósitos obtidos com os sistemas adesivos autocondicionantes foi maior na dentina do que no esmalte e melhor momento para a aplicação do laser Nd: YAG é após o uso do sistema adesivo. Os sistemas adesivos autocondicionantes testados neste estudo podem ser utilizados em conjunto com o laser Nd: YAG sem comprometer a adesão à dentina.

O uso do laser Nd: YAG foi proposto para tratamento endodôntico. No entanto, a sua capacidade para reduzir a permeabilidade da dentina, que é importante para o sucesso dos tratamentos em superfície dentinaria, permanece controverso. Lee et al. (2002) realizou um estudo com laser Nd: YAG em modo

pulsado sobre a dentina humana. Os parâmetros foram: energia de pulso 100 mJ, a taxa de 10 pps e tempo de irradiação total de 4 segundos. As fases de linha de cristal, padrões de difração de elétrons, morfologia e microestrutura dos espécimes após a irradiação com laser foram observadas por microscópio de transmissão de emissão de elétron darkfield. Os autores observaram três fusos ultraestruturais podem ser delineados na dentina: 1) uma zona externa com uma estrutura colunar ordenada composto por fosfato de hidroxiapatita e de bi-tricálcio, 2) uma zona intermédia composta de uma substância amorfa de cerca de 40 ± 70 nm de diâmetro, e 3) uma zona interna de grãos de hidroxiapatita bem cristalizados. Estas três zonas estavam livres de poros ou vazias, e concluíram que o estudo demonstrou que a ação do laser de irradiação pode ser usada para reduzir a permeabilidade dentinária.

Rolla et al. (2006), investigaram a influência de Nd: YAG sobre a resistência da união de diferentes sistemas adesivos em dentina humana. As superfícies oclusais dos terceiros molares foram removidas para obter superfícies dentinárias planas. Os dentes foram divididos aleatoriamente em seis grupos. Cada sistema adesivo foi aplicado, de acordo com as instruções do fabricante, à dentina de superfície com e sem irradiação com laser Nd: YAG (0,9 W, 15 Hz, 60 mJ por pulso). Um bloco de resina composta foi construído sobre a camada adesiva. Os espécimes foram seccionados para obter palitos de 0,70 x 0,70 mm de seção transversal. Foram selecionados 20 espécimes de teste para cada grupo e foram então submetidos a microtração numa máquina de ensaio universal. De acordo com o teste t de Student, para Single Bond, não houve diferença estatisticamente significativa sem (49,32 MPa) e com aplicação de laser (47,34 MPa) ($p=0,60$). Para o Tyrian SPE / One Step Plus, o valor de microtração com laser (27,09 MPa) foi estatisticamente maior do que sem laser (19,13 MPa), bem como para Adper Prompt L-Pop (22,85 e 13,78 Mpa; $p < \text{ou} = 0,01$). Os autores concluíram que a aplicação de laser Nd:YAG à dentina proporcionou um aumento nos valores de resistência de união para os sistemas adesivo Tyrian SPE / One Step Plus e Adper Prompt L-Pop, mas não influenciou os valores de resistência de união do sistema adesivo Single Bond.

Estudos anteriores demonstraram os efeitos de Nd: YAG na superfície da dentina nas margens da restauração, mas há poucos relatos sobre o alcance da

irradiação sobre a camada híbrida. Para avaliar *in vitro* a resistência de união e morfologia da camada híbrida de diferentes sistemas adesivos, seja seguido por tratamento com Nd: YAG ou não. Ferreira et al. (2009) fizeram um estudo com amostras de dentina coronal e radiculares achatados de 24 dentes bovinos e foram divididos aleatoriamente em 8 grupos, de acordo com o sistema adesivo usado Scotchbond Multi Purpose (SBMP) ou Clearfil SE Bond (CSEB) e eram irradiados com Nd: YAG ou não, com diferentes parâmetros: 0,8 W / 10 Hz, 0,8 W / 20 Hz, 1,2 W / 10 Hz, 1,2 W / 20 Hz. Os lados esquerdos de espécimes foram os grupos de controle, e os lados direito foram irradiados. Uma coroa de compósito foi construída ao longo de superfícies adesivas e armazenado em água (24 h a 37°C). Os espécimes foram seccionados verticalmente em lajes que foram submetidos a teste de resistência adesiva e observados por MEV. Os autores mostraram que os grupos controle ($27,81 \pm 1,38$) apresentaram valores estatisticamente superiores aos grupos irradiados ($21,37 \pm 0,99$), e os valores do grupo controle CSEB ($31,26 \pm 15,71$) foram estatisticamente superiores aos dos SBMP ($24,3 \pm 10,66$). Não houve diferenças significativas entre CSEB ($20,34 \pm 10,01$) e SBMP ($22,43 \pm 9,82$) grupos irradiados. Entre os parâmetros testados, 0,8 W / 10 Hz, o maior valor ($25,54 \pm 11,74$). Irradiação do Laser Nd:YAG induziu uma dentina derretida sob a camada adesiva de ambos os sistemas adesivos testados. Os autores concluíram que com os parâmetros utilizados neste estudo, a irradiação de Nd: YAG na camada híbrida promoveu mudanças morfológicas na dentina e influenciou negativamente na resistência de união de dois sistemas adesivos.

Castro et al. realizaram um estudo em (2012), para avaliar se a irradiação de laser Nd: YAG da dentina condicionada e não condicionada através de um adesivo não fotopolimerizado afetou a resistência de união. Testaram superfícies planas de dentina que foram criados em 19 terceiros molares humanos extraídos. Adper Single Bond adesivo (SB) foi aplicado sobre dentina condicionada (grupos 1 a 3) ou não condicionada (grupos de 4 a 6). A dentina foi então irradiada com um laser Nd: YAG através do adesivo não fotopolimerizado, usando 0,75 ou 1W configurações de energia, exceto para os grupos de controle (grupos 1 e 4). O adesivo foi fotopolimerizado e coroas compostas foram construídas. Após 24 h, os dentes foram seccionados em feixes, com áreas de secção transversal de 0,49 mm², e foram sublinhados sob tensão. Os dados foram analisados estatisticamente usando

ANOVA de duas vias e teste de Tukey ($\alpha=5\%$). Superfícies de dentina de espécimes fraturados e as interfaces de vigas não testados foram observadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV). Os autores mostraram que ataque ácido, irradiação com laser, e a sua interação afetou significativamente adesão ($p<0,05$). Irradiação com laser não melhorou a adesão da dentina-resina previamente condicionada ($p>0,05$). No entanto, maiores valores de resistência de união foram encontrados na dentina irradiada não condicionada (grupos 5 e 6), mas apenas em relação ao grupo 4, onde nem irradiação nem condicionamento foi realizado. Grupos de 4 a 6 apresentaram os menores valores de resistência de união entre todos os grupos testados ($p<0,05$). Irradiação de laser não alterou as características das camadas híbridas criadas, enquanto os glóbulos de solidificação foram observadas nas superfícies de dentina irradiadas em MEV. Os autores concluíram que a irradiação do laser da dentina através do adesivo não fotocurado não melhorou significativamente a resistência de união em comparação com a técnica que sugeriu o fabricante.

Para investigar a influência do laser Nd: YAG na resistência de cisalhamento ao esmalte e à dentina dos adesivos de condicionamento total e auto-condicionante quando o laser foi aplicado sobre os adesivos antes de serem fotopolimerizados com a tentativa de criar uma nova camada de união por fusão dentina-adesivo, Marimoto et al. (2013) testaram cento e vinte incisivos bovinos que foram divididos em dois grupos de substrato ($n=60$): substrato E (esmalte) e substrato D (dentina). Cada grupo de substrato foi subdividido em quatro grupos ($n=15$), de acordo com o tratamento de superfície realizado: X (Xeno III auto-adesivo, controle), XL (Xeno III + laser Nd: YAG irradiação em 140 mJ / 10 Hz durante 60 s + fotopolimerização, experimental), S (ataque ácido + adesivo convencional Single Bond, Controle) e SL (ataque ácido + Single Bond + laser Nd: YAG a 140 mJ / 10 Hz durante 60 s + fotopolimerização, experimental). O Nd:YAG Laser apresentava o comprimento de onda de 1,064 μm , fibra ótica de 320 μm posicionada perpendicular e a distância de 1 mm da superfície, varredura por 60 s. Cilindros de compósito foram fabricados na área de união usando uma matriz de Teflon. Os dentes foram armazenados em água a 37°C / 48 h e submetidos a ensaio de cisalhamento. Para a dentina, o auto-adesivo Xeno III mostrou uma força de união significativamente maior em comparação com o adesivo de condicionamento total Single Bond. A irradiação com

laser Nd: YAG mostrou uma força de união ao cisalhamento significativamente maior em comparação com o controle (não irradiado). Os autores concluíram que o laser Nd: YAG aumentou significativamente a resistência da união na dentina, embora a diferença no esmalte não tenha sido estatisticamente significativa.

Esteves et al. (2016) avaliaram a permeabilidade da dentina após os tratamentos para hipersensibilidade dentinária: flúor, sistema adesivo, e desproteinização do colágeno com e sem exposição de laser Nd: YAG, e depois de desafios erosivos e abrasivos. A permeabilidade da dentina foi avaliada por medição do fluxo de fluido dentinário através de um dispositivo de permeabilidade. Oitenta espécimes de dentina bovina (6 mm de diâmetro / espessura de 1 mm) tinham permeabilidade medida na presença a smear layer e após a remoção a smear layer por ácido etileno diamino tetracético (EDTA). Eles foram, em seguida, divididos em oito grupos de acordo com o tratamento (n=10): Grupo C, controle; Grupo L, laser Nd: YAG; Grupo F, flúor; Grupo FL, fluoreto mais Nd: YAG; Grupo A, adesivo; Grupo AL, adesivo, mais Nd: YAG; Grupo D, 10% de NaOCl, mais adesivo; e DL grupo, NaOCl mais adesivo além de Nd: YAG. Nd: YAG foi irradiada a 60mJ / pulso / 10Hz / 47.7 J / cm² / 1 W e aplicada sem contato por 60 s. A permeabilidade foi medida 24 h após os tratamentos. As amostras foram expostas a desafios erosivos e abrasivos durante 5 dias. O desafio erosivo foi feito por imersão em Coca-Cola, quatro vezes por dia / 90 segundos cada. Após o primeiro e o último desafio erosiva do dia, o desafio abrasivo foi realizado por escovação dos espécimes (24.000 ciclos / 3,8 centímetros gama / 200 g de peso), e a permeabilidade foi medida novamente. Os resultados foram analisados estatisticamente usando dois fatores ANOVA e teste de Tukey ($\alpha=0,05$). Os autores mostraram que com a exceção dos grupos FL e A, todos os tratamentos reduziram a permeabilidade. Uma redução significativa na permeabilidade foi observada quando os tratamentos foram combinados com a exposição ao laser. A associação de adesivo e laser Nd: YAG levou à menor taxa de permeabilidade após 24 h. Desproteinização induzida de NaOCl associado com Nd: YAG mostrou a menor taxa de permeabilidade após desafios erosivos / abrasivos. Os autores concluíram que os tratamentos da hipersensibilidade dentinária reduziram a permeabilidade dentinária quando associado com laser Nd: YAG, mesmo depois desafios erosivos / abrasivos.

Tosun et al. (2016) avaliaram o potencial de oclusão dos túbulos dentinários

e a penetração de Clinpro1 White Verniz (5% de fluoreto de sódio + tri-cálcio fosfato) na presença ou ausência de laser Nd: YAG. Setenta e cinco amostras de dentina coletadas de 38 molares humanos recém extraídos foram divididas aleatoriamente em cinco grupos (n=15). Os grupos A, B, D e E foram envernizados com Clinpro, enquanto que o grupo C (sem tratamento) serviu como grupo controle. Os Grupos B e E foram ainda irradiados com laser Nd: YAG (1,5W, 10Hz, 1min). Todos os grupos de estudo foram sujeitos a ciclos de pH (mantidos em ácido cítrico a 0,3% 5 min / dia durante 5 dias). Os grupos A, B e C foram avaliados quanto à oclusão dos túbulos por microscopia eletrônica de varredura. Os grupos D e E foram avaliados quanto à penetração com microscopia confocal de varredura a laser (MCVL). Os testes estatísticos não-paramétricos de Kruskal-Wallis e Dunn foram utilizados para análise dos resultados de MEV. As profundidades de penetração foram analisadas com ANOVA unidirecional seguida pelos testes de Diferença Menos Significante de Fisher. A oclusão tubular dos grupos A e B foi significativamente maior que o grupo C ($p<0,05$). A oclusão tubular do grupo B foi significativamente maior que o grupo A ($p<0,05$). A profundidade de penetração para o grupo D foi significativamente maior que a do grupo E ($p<0,05$). Os autores concluíram que a aplicação de laser melhorou a capacidade de obliteração tubular de Clinpro. Ao contrário, o laser reduziu a profundidade de penetração do Clinpro.

Várias terapias têm sido sugeridas para a redução da permeabilidade dentinária entre elas agentes dessensibilizantes e lasers. Oncu et al. (2017) avaliaram os efeitos *in vitro* de diferentes agentes dessensibilizantes em laboratório e de diferentes tipos de lasers, isoladamente ou em combinação, nos túbulos dentinários humanos. Utilizaram oitenta e quatro espécimes dentinários obtidos de terceiros molares impactados recentemente extraídos e subsequentemente divididos em sete grupos: Grupo 1 (Controle), Grupo 2 (Gluma dessensibilizante), Grupo 3 (Teethmate dessensibilizante), Grupo 4 (Nd: YAG laser), Grupo 5 (laser Er: YAG), Grupo 6 (Gluma dessensibilizador + Er:YAG laser) e Grupo 7 (Teethmate dessensibilizante + Er:YAG laser). Os espécimes dentinários de todos os grupos foram avaliados utilizando SEM. Um total de 12 imagens por amostra foram tomadas, e foram contados os números de túbulos dentinários abertos, parcialmente ocluídos e totalmente visíveis (aberto + parcialmente ocluído). Microscopia de força atômica (MFA) foi usado para substanciar ainda mais o mecanismo de bloqueio. A

comparação do número de túbulos dentinários ocluídos por 100 mm² revelou que os grupos tratados com laser e laser combinado apresentaram os túbulos dentinários mais ocluídos. Gluma dessensibilizador + Er:YAG laser demonstrou significativamente mais obliteração tubular do que todos os outros grupos ($p < 0,05$). Os autores mostraram que os métodos de tratamento combinado foram eficazes na obliteração de túbulos dentinários.

2.3 Fosfato de Cálcio

Tung et al. (1993) utilizaram soluções de fosfato de cálcio em várias concentrações e níveis de pH para obstruir os túbulos. Os efeitos foram avaliados por medições de permeabilidade através de discos de dentina e por microscopia eletrônica de varredura. Analisaram a precipitação de Kinetics do fosfato de cálcio e seus produtos durante a aplicação na dentina e foram seguidas por alterações de pH, as soluções e os produtos foram determinadas por difração de pó por raios-X. As soluções foram aplicadas em duas formas: (a) soluções de cálcio e fosfato foram misturados antes da aplicação e (b) uma solução de (cálcio ou fosfato) foi aplicado primeiro seguido pela outra solução. Foram utilizados três tipos de discos de dentina humanos; um com smear layer e os outros dois com túbulos expostos por ultra-sons ou condicionadas pelo ácido. A solução de fosfato de cálcio de alta concentração no pH = 9,5 precipitaram rapidamente fosfatos de cálcio amorfos que obstruíram os túbulos dentinários e diminuíram a permeabilidade dentinária em 85% ou mais. A um pH = 5,6, as soluções de fosfato de cálcio precipitaram grandes cristais de di-hidrato de fosfato dicálcico. Neste caso, a eficácia na obstrução de túbulos dentinários foi encontrada para ser um procedimento sensível.

Com objetivo de avaliar: 1) o efeito de cinco agentes dessensibilizantes de dentina (ADDs) sobre a permeabilidade usando condutividade hidráulica, e 2) alterações morfológicas tubulares com microscopia eletrônica de varredura (MEV). Kolker et al. (2002) testaram agentes como Seal & Protect, Gluma Desensitizer, HurriSeal, D / Sense 2 e Super Seal. Trinta molares humanos extraídos foram seccionados em discos de dentina de 1 mm a metade coronal. A permeabilidade da

dentina foi medida inicialmente e após o tratamento usando soro bovino e solução salina tampão com fosfato a 10 psi. Os tratamentos foram aplicados às superfícies oclusais de dentina de acordo com as instruções do fabricante. Foram selecionados representantes de cada grupo para a observação MEV. Kruskal-Wallis ANOVA e Tukey's post-hoc foram utilizados para avaliar as diferenças entre os grupos. Os autores mostraram que a média de redução percentual na permeabilidade dentinária para cada grupo: Superseal = 97.5 ± 4.0 , HurriSeal = 54.2 ± 35.3 , D / Sense 2 = 46.6 ± 20.4 , Gluma Desensitizer = 39.6 ± 26.7 , e Seal & Protect = 33.8 ± 19.4 . Os dados fornecidos evidenciam fortes diferenças na redução da permeabilidade entre os agentes ($p < 0.01$). Comparações de pares das médias demonstrou que os efeitos da Superseal diferiram significativamente as reduções conseguidas usando Seal & Protect, Gluma Desensitizer, e D / Sense 2. Diferenças no grau e o conteúdo da obliteração dos túbulos dentinários foram vistos entre todos os ADDs sob SEM. Os autores concluíram que os materiais incluídos neste estudo *in vitro*, Superseal pode ser o mais benéfico quando o tratamento de sensibilidade da dentina. A ampla gama de resultados pode refletir as diversas abordagens e produtos químicos utilizados para obliterar os túbulos.

Tratamentos que obliteram túbulos de dentina foram utilizados para a redução da hipersensibilidade dentinária. Cherng et al. (2004) com objetivo de determinar os efeitos de vários tratamentos com uma solução de fosfato de cálcio ligeiramente supersaturada na condutividade hidráulica (L_p) de discos de dentina parcialmente obstruídos *in vitro*. A solução de tratamento continha $6,5 \text{ mmol l}^{-1}$ cada de cálcio e fosfato, $0,25 \text{ mmol l}^{-1}$ fluoreto, 30 mmol l^{-1} KCl, e 50 mmol l^{-1} solução tampão de HEPES (pH ajustado a 7,0). A L_p média inicial (em $\text{ml cm}^{-2} \text{ min}^{-1} \text{ H}_2\text{O cm}^{-1}$) foi 0.108 ± 0.041 (mean $\pm$ S.D.; $n = 9$, $\text{ul cm}^{-2} \text{ min}^{-1} \text{ H}_2\text{O cm}^{-1} = 10.20 \text{ ul cm}^{-2} \text{ min}^{-1} \text{ KPa}^{-1}$) e após cinco tratamentos consecutivos, o L_p média relativa, apresentava como percentagem inicial, que foi de 71 ± 11 , 58 ± 10 , 46 ± 18 , 40 ± 14 , e 25 ± 10 , respectivamente. Os valores de L_p dos grupos de tratamento inicial eram significativamente ($p < 0.05$) diferentes. Tratamentos consecutivos se mostraram eficaz em reduzir ainda mais L_p de discos de dentina.

A aplicação tópica sequencial de soluções de cálcio e fluoreto de fosfatos foi relatada para obliterar túbulos da dentina abertos, principalmente com precipitados fluoroapatita por uma reação iônica rápida, e para ser eficaz no tratamento da

hipersensibilidade dentinária. No entanto, a sua capacidade para reduzir a permeabilidade da dentina (L_p) é desconhecida. Komabayashi et al. (2010) avaliaram *in vitro* o efeito deste tratamento sobre L_p . Utilizaram nove terceiros molares humanos extraídos, foram seccionados transversalmente para se obter discos de 0,5 milímetros de espessura, que foram condicionados e lavados. As soluções aquosas de 5% (w / w) de fosfato de disódio contendo 0,3% (w / w) de fluoreto de sódio (A) e 10% (w / w) de cloreto de cálcio (B) foram preparados. A aplicação sequencial das soluções A e B foi repetida três vezes em cada disco, o qual foi, em seguida, enxaguado com água destilada. O L_p dos discos foi medido antes e depois da aplicação usando um sistema de medição de fluxo de fluido de Pashley modificado. As diferenças nos valores de L_p entre as condições antes e depois da solução de aplicações foram analisadas utilizando um método de estimativa equação generalizada e teste t pareado. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi usada para observar as superfícies de dentina. Os autores mostraram que todos os nove discos indicaram consistentemente redução de L_p na sequência da aplicação das soluções de A & B. Houve uma diminuição significativa na média de L_p [$\mu\text{l} / (\text{cm}^2 \text{ s cm H}_2\text{O})$] a partir do inicial (-0.27 ± 0.25 ; $p = 0.011$). Em geral, uma diminuição média de 34% de L_p ocorreu após a aplicação das soluções A e B. Observação em MEV indicaram que os produtos de reação cobriam a superfície do disco da dentina inteira e concluíram que a aplicação das soluções A e B foram eficazes na redução da L_p dos discos de dentina.

Pei et al. (2013) investigaram o desempenho de união de dois adesivos autocondicionantes contendo monômeros funcionais à dentina pré-tratada com três dessensibilizantes contendo cálcio. Não foi aplicado nenhum dessensibilizante no grupo de controle. Os grupos 1, 2 e 3 foram tratados com uma pasta de polimento contendo arginina-carbonato de cálcio, uma pasta contendo fosfato de caseína-fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) e uma pasta experimental de hidroxiapatita, respectivamente. G-Bond e Clearfil S3 Bond foram utilizados para adesão após tratamentos dessensibilizantes. A resistência de união a microtração foi testada ($n = 20$ palitos por grupo) e a distribuição do modo de falha foi analisada. A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para observar a oclusão dos túbulos dentinários. A maioria das falhas foi registrada como falha adesiva (69,375%), em vez de falha coesiva ou falha mista. Os túbulos dentinários raramente foram obstruídos no grupo

2, mas foram principalmente ocluídos nos grupos 1 e 3. A ANOVA de dois fatores indicou que a aplicação de dessensibilizante em associação com um sistema adesivo compatível deve ser usada quando se tenta controlar a hipersensibilidade sem interferência adversa na adesão.

Thanatvarakorn et al. (2013) avaliaram a capacidade de um dessensibilizante com fosfato de cálcio recém desenvolvida na redução da permeabilidade dentinária e sua integração com a superfície da dentina antes e depois da imersão em saliva artificial sob duas características da superfície dentinária diferentes; com ou sem exposição a colágeno. Discos de dentina humana tratadas por EDTA para expor fibrilas de colágeno ou EDTA / NaOCl para expor a superfície da dentina e foram submetidas a um dessensibilizante com fosfato de cálcio (Teethmate Desensitizer; DTM), enquanto que o tratamento não dessensibilizante serviu como controle. Aplicação de DTM mostrou a oclusão em túbulos dentinários e redução da permeabilidade dentinária até 92%, independentemente de características da superfície dentinária. Após imersão em AS, por cento de redução de permeabilidade (RP%) influenciou de forma significativa aumentou em EDTA / NaOCl pré-tratamento ($p < 0,05$). Cristais recém-formados foram observadas em dentina tratada com desensitizer e grupo controle pré-tratamento EDTA / NaOCl, enquanto que os cristais não existiram no grupo de controle pré-tratamento EDTA. Ultra-som revelaram a integração de uma rica camada de fosfato de cálcio-dessensibilizante na superfície de dentina após imersão de Saliva artificial.

Lodha et al. (2014) avaliaram o efeito de dois dessensibilizantes na inibição da desmineralização da dentina, após imersão em saliva artificial utilizaram a tomografia micro-computada (μ TC). Os blocos de dentina dos incisivos bovinos foram tratados com água deionizada (DW, um controle negativo) ou um de três dessensibilizadores: um verniz fluoretado (Duraphat, um controle positivo), um dessensibilizante de fosfato de cálcio (Teethmate Desensibilizador) e um dessensibilizante fluoro-alumínio-cálcio a base de silicato (Nanoseal). Após cada tratamento, os espécimes dos grupos Duraphat, Nanoseal e Teethmate foram pré-imersos em saliva artificial (pH 6.5) durante 1 dia ou 1 semana. A perda mineral dos espécimes após a desmineralização (pH 5.0, 3 h) foi avaliada pelo μ CT. A superfície tratada foi investigada por microscopia eletrônica de varredura. A perda mínima em

todos os grupos de tratamento foi significativamente menor do que em DW. Duraphat foi o tratamento mais eficaz contra a desmineralização, seguido por Nanoseal. Nanoseal mostrou significativamente melhor redução na perda mineral após imersão por 1 semana na saliva artificial do que por 1 dia. No entanto, Teethmate Desensitizer e Duraphat não exibiram inibição aumentada da desmineralização durante um período mais longo de imersão na saliva artificial. As imagens de microscopia eletrônica de varredura mostraram a deposição de partículas na dentina em ambos dessensibilizantes Teethmate. A aplicação de Teethmate Desensitizer e Nanoseal à superfície da dentina exposta resultou na inibição da desmineralização, com Nanoseal resultando em maior inibição após imersão prolongada na saliva artificial.

Cortiano et al. (2016) avaliaram o efeito de agentes dessensibilizantes sobre a resistência de união de sistemas adesivos de duas etapas de condicionamento total à dentina. Foram utilizados quarenta e dois molares humanos para obter discos de dentina de 3 mm de espessura. Os discos foram divididos em três grupos (n=14 em cada) - grupo de controle sem tratamento (CT) e dessensibilizadores de ácido oxálico [BisBlock (BB)] e fosfato de cálcio [Desensibilize Nano-P (NP)] dessensibilizante - antes da aplicação de dois sistemas adesivos [Adper Single Bond Plus (SB) e One-Step Plus (OSP)]. Utilizou-se uma resina composta de nanopartículas para criar um incremento de 3 mm de espessura. Os espécimes foram armazenados em água destilada durante 24 h antes de se realizar um ensaio de resistência à microtração. Os modos de falha foram determinados usando um estereomicroscópio a 100x. Os espécimes foram seccionados perpendicularmente à interface para análises de microscopia eletrônica de varredura. O grupo CT-SB exibiu a maior resistência adesiva, diferindo significativamente dos grupos BB-SB e BB-OSP. As falhas mistas foram prevalentes para todos os grupos. Microscopia eletrônica de varredura revelou uma camada híbrida contínua e tags de resina em todos os grupos. A resistência à adesão da dentina dos sistemas adesivos de condicionamento total foi reduzida por um dessensibilizante de ácido oxálico mas não foi afetada por um dessensibilizante contendo fosfato de cálcio.

Zhou et al. (2016) avaliou a eficácia *in vitro* de um dessensibilizante à base de fosfatos dicálcio e tetracálcio na redução da permeabilidade dentinária. O fluxo de fluido de dentina foi medido antes e após o tratamento da dentina com a Patente dos

túbulos dentinários utilizando 1 ou 3 aplicações de fosfato de dicálcio e de tetracálcio contendo agente Teethmate™ (TM) e comparando-os resultados com duas de fluoreto de sódio vernizes Vella™ (VLA) e Vanish™ (VAN), após o armazenamento em saliva artificial por 24 h, 48 h e 7 dias. Foram observadas diferenças significativas entre os 4 métodos empregados para reduzir a permeabilidade dentinária ($p < 0,001$) e os 3 tempos pós tratamento ($p < 0,001$). VLA e VAN nunca alcançou reduções de 50% de permeabilidade de forma consistente em qualquer dos 3 períodos de tempo. Apenas o dessensibilizante à base de fosfato de cálcio-aplicado por 3 vezes consistentemente reduziu a permeabilidade da dentina por 50% após 24 h. Quando aplicado uma vez, a redução da permeabilidade da TM aumentou progressivamente ao longo dos 3 períodos de tempo. Após 7 dias, apenas um e três aplicações do dessensibilizante a base de fosfato de cálcio reduziu consistentemente a permeabilidade da dentina por mais do que 50%. Reduções de permeabilidade corresponderam bem com exame de microscopia eletrônica de varredura da obliteração de orifícios de túbulos dentinários em amostras de dentina tratados com os agentes. No geral, o dessensibilizante à base de fosfato de dicálcio e tetracálcio é eficaz em reduzir a permeabilidade da dentina por meio de um mecanismo de oclusão do túbulo. A capacidade do agente para reduzir a permeabilidade da dentina torna-se potencialmente útil como um agente dessensibilizante da dentina clínica, que tem de ser confirmada em estudos clínicos futuros. Em contraste, os dois vernizes de fluoreto de sódio não são eficazes na redução da permeabilidade da dentina e devem ser considerados como agentes de fluoreto tópicos ao invés de agentes bloqueadores de orifícios tubulares.

Ishihata et al. (2017) investigaram o efeito de dois agentes dessensibilizantes e da água (Controle) sobre a condutância hidráulica na dentina humana. GLUMA Desensibilizador PowerGel (GLU) contém glutaraldeído e 2-hidroxietil metacrilato, e Teethmate Desensitizer (TD) é um pó contendo tetracálcio e dicálcio de fosfato anidrido que é misturado com água. A água deionizada foi usada como controle. Trinta discos com espessura de 1.2mm foram cortados da dentina coronal dos terceiros molares e limpa com EDTA 0,5 M (pH 7,4). Depois de montado num dispositivo de câmara dividida, os discos foram pressurizados com água a 1kpa e 3kpa de modo a medir as taxas de fluxo com um sensor de micro-caudal altamente sensível e calcular a condutância hidráulica como um valor inicial (BL). Após a

aplicação de GLU, TD e Controle (n=10), a condutância hidráulica foi novamente medida com armazenamento intermitente em água após 15 min, 1 dia, 1 semana e 1 mes. A redução da permeabilidade (PR%) foi calculada a partir da condutância hidráulica. Os discos representativos foram inspeccionados por MEV. A redução da permeabilidade para GLU e TD foram 30-50% após 15 min e 1 mês da sua aplicação. Testes post hoc indicaram que PR% do Controle foi significativamente maior do que os de GLU e TD em todos os pontos de tempo testados. As PR% de GLU e TD não foram significativamente diferentes. Os exames MEV mostraram malhas de colágeno não-colapsadas nas entradas tubulares enquanto que os espécimes do controle apresentaram padrões típicos de dentina condicionada. Os autores demonstraram que ambos produtos podem ser caracterizados como eficazes.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* o efeito da associação de fosfato de cálcio, laser e sistema adesivo na permeabilidade dentinária. Adicionalmente foi comparado, por meio do teste de microtração, a correlação da permeabilidade dentinária na resistência de união entre a dentina com os diversos tratamentos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento Experimental

4.1.1 Unidades experimentais

“Discos” de dentina humana.

4.1.2 Fatores de estudo

Tratamento em 6 níveis:

- a) FA - Fosfato de Cálcio + Adesivo;
- b) FAL - Fosfato de Cálcio + Adesivo + Laser;
- c) FLAL - Fosfato de Cálcio + Laser + Adesivo + Laser;
- d) A – Adesivo;
- e) AL - Adesivo + Laser;
- f) LAL - Laser + Adesivo + Laser.

4.1.3 Variável de resposta

Percentual de permeabilidade.

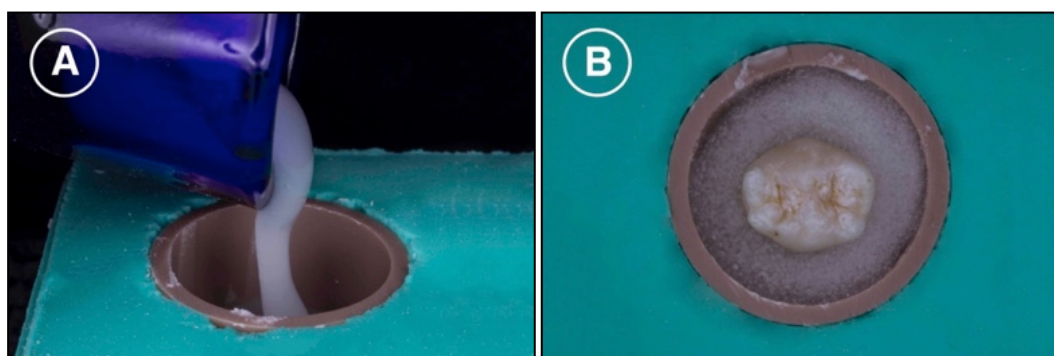
Resistência de união (MPa).

4.2 Adequação e preparo dos espécimes

Sessenta terceiros molares humanos recém extraídos e livres de cáries foram coletados após consentimento livre e esclarecido dos pacientes. O trabalho foi submetido a aprovação do comitê de ética e pesquisa com seres humanos Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP (Anexo A). 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 vinil) 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



Legenda: a) Inclusão da resina acrílica; b) Vista frontal do dente incluído.
Fonte: Elaborado pelo autor.

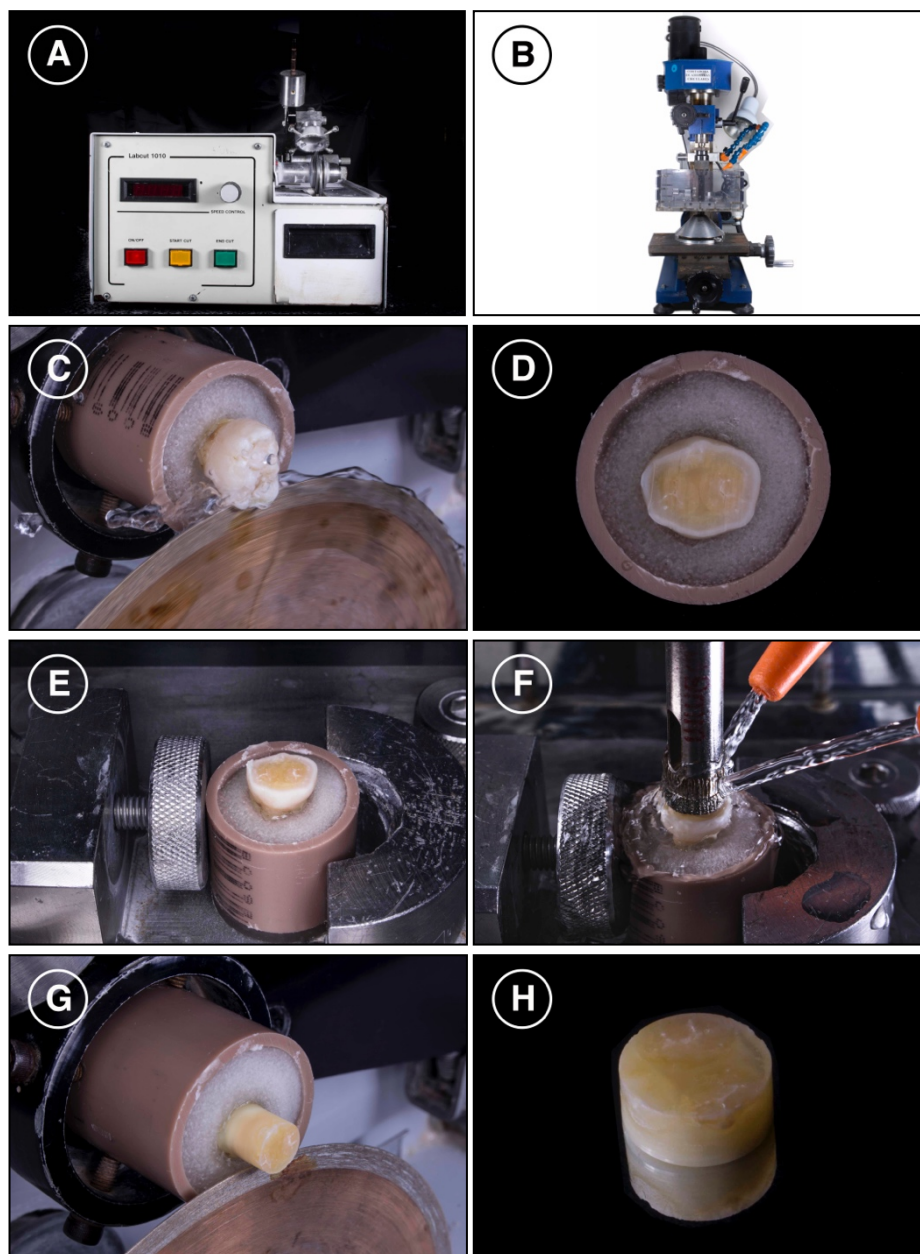
Realizaram-se duas secções, a primeira na superfície oclusal de esmalte que foi removida com disco diamantado de dupla face montado em uma cortadora de precisão (Labcut 1010, Extec Technologies Inc., Enfield, CT, EUA) (Figura 2A e 2C), sob refrigeração à água, expondo uma superfície plana de dentina oclusal

(Figura 2D).

Em seguida, foi utilizada a Máquina para Corte de Amostras Circulares (Desenvolvida pelo Prof. Adj. Carlos Rocha Gomes Torres)(Figura 2B). As coroas dentais embutidas em tubo de PVC foram fixadas em uma base posicionadora para permitir o corte sob irrigação constante das amostras cilíndricas de dentina (Figura 2E), com exatamente 6 mm de diâmetro utilizando uma broca trefina revestida por diamante e após o término do corte foram levados novamente a uma cortadora de precisão (Figura 2F) (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 3A) (Fepa-P, Extec, Enfield, CT, USA), com auxílio de um dispositivo metálico para remover todo o excedente de esmalte (Figura 3B e 3C). Obteve-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 de 1,5 mm e lisura superficial padronizada. 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 ótico com aumento de 40x (Zeiss, steREO Discovery V20, Göttingen, Germany) (Figura 3D e 3E).

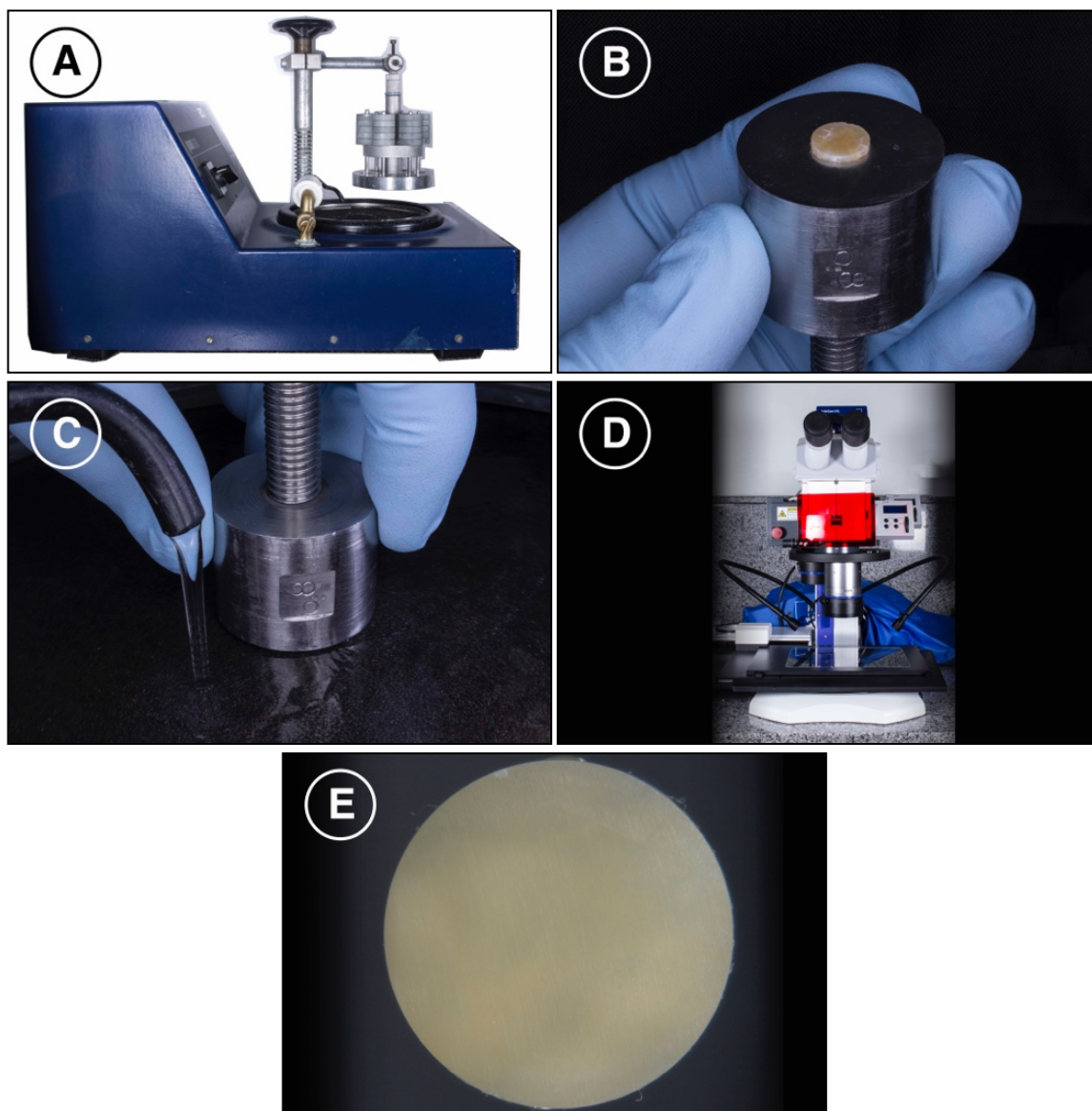
Figura 2 - Preparo dos espécimes



Legenda: 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.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3 - Padronização da espessura da amostra



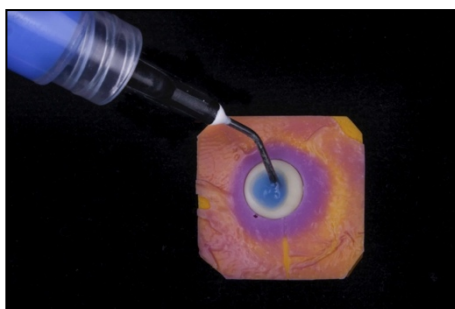
Legenda: a) Politriz circular; b) Posicionamento da amostra no orifício do dispositivo metálico; c) Desgaste na politriz; d) Estereomicroscópio eletrônico (steReo Discovery V20); e) Imagem da amostra do lado da dentina observada em estereomicroscópio eletrônico.
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3 Mensurações da Permeabilidade dentinária

4.3.1 Mensurações da Permeabilidade dentinária inicial

Para a análise quantitativa da condutividade hidráulica, utilizou-se o sistema proposto por Pashley et al. (1981), 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 s (Pashley, Galloway, 1985) (Figura 4).

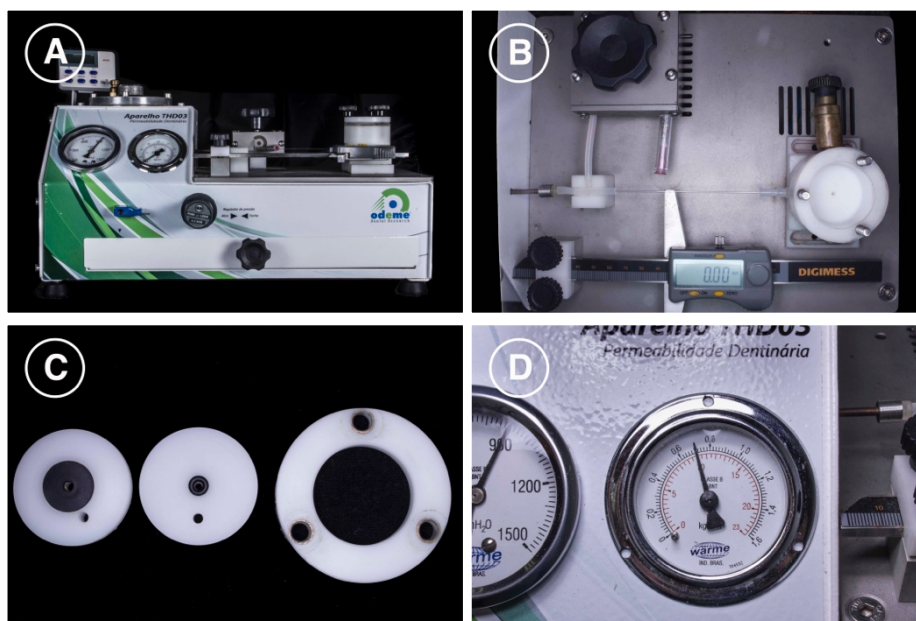
Figura 4 - Remoção do smear layer do lado pulpar



Fonte: Elaborado pelo autor.

A mensuração da permeabilidade foi realizada utilizando o modelo de câmara dividida (split chamber) através do aparelho THD-02b (Figura 5A e 5B) (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 5C), 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 5D).

Figura 5 - Descrição do aparelho THD-02b



Legenda: 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.

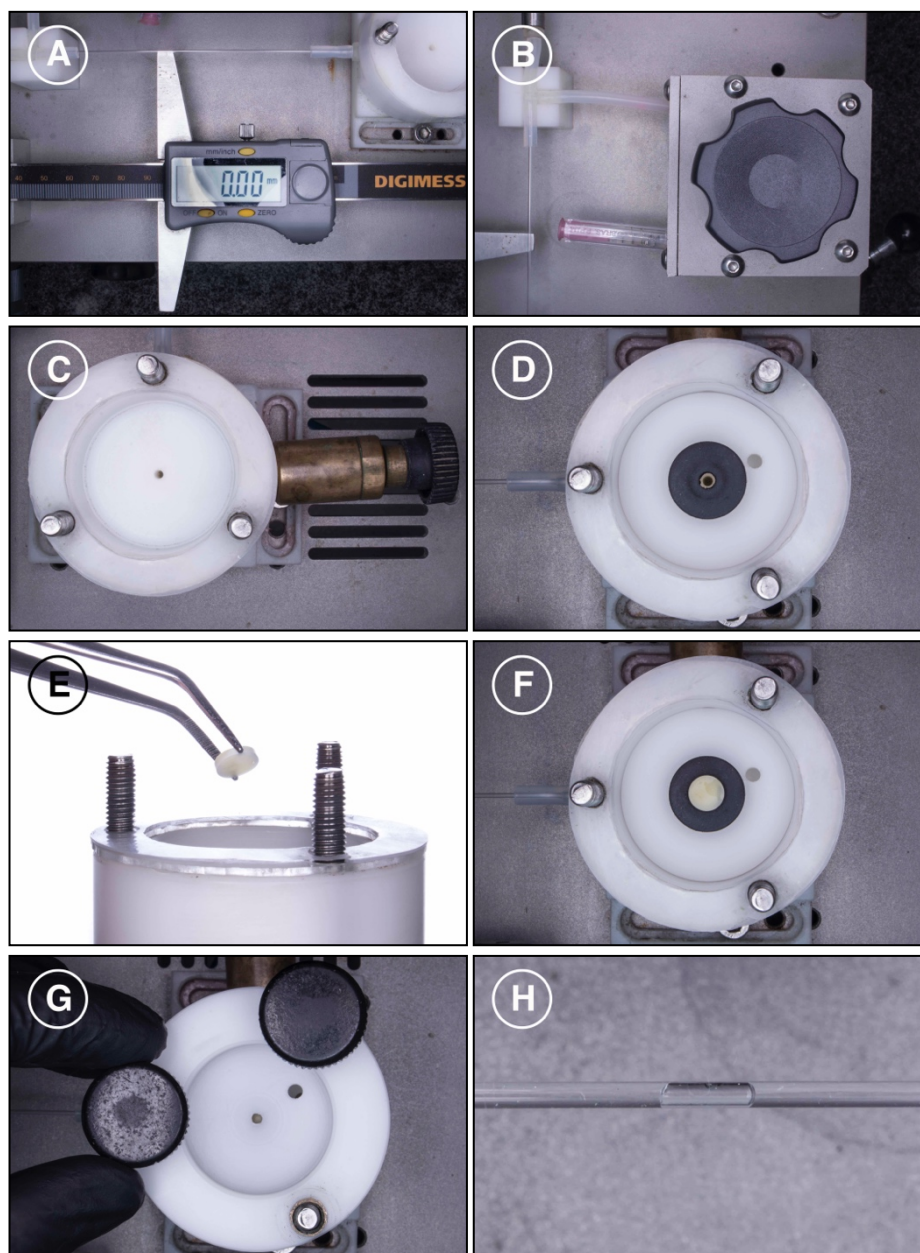
Fonte: Elaborado pelo autor.

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'ring superior na amostra na parte superior que representa a face oclusal do dente, o lado pulpar foi colocado em contato com a água ultrapura sob pressão, enquanto que do lado oclusal ficou em contato com o ambiente em pressão atmosférica (1 atm) (Figura 6C, 6D, 6E, 6F e 6G). A água sai do reservatório e passa através de um tubo capilar, seguindo até a câmara de perfusão. Após o preenchimento de todo o sistema com a água ultrapura (Thanatvarakorn et al., 2013), uma pequena bolha de ar foi inserida através de uma seringa micrométrica penetrando no interior do capilar (Figura 6B).

A taxa de movimento de fluído 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 6A). Realizam-se três medidas consecutivas do movimento da bolha através do capilar, a fim de computar os valores médios de Permeabilidade mínima (PMin) para cada

disco de dentina. Essas medidas eram representadas pela distância percorrida da bolha em mm/min (Kolker et al., 2002; Santiago et al., 2006) (Figura 6H).

Figura 6 - Montagem da amostra na câmara de perfusão



Legenda: 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.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Para que os cálculos da passagem dos fluídos 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). Como o capilar tem um volume interno de 50 μL e 101 mm de comprimento total, o valor da constante de proporcionalidade é 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 (Greenhill, Pashley, 1981). 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 foi obtida uma média que foi utilizada para o cálculo da taxa de filtração (Q) (Greenhill, Pashley, 1981; Santiago et al., 2006).

A permeabilidade dentinária foi expressa em valores de condutância hidráulica (L_p) (Greenhill, Pashley, 1981; Kolker et al., 2002; Santiago et al., 2006; Carvalho et al., 2012; Thanatvarakorn et al., 2013). 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 expressa 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 cm H₂O e mantida constante em 703,1 cm H₂O durante todo o experimento. A área de superfície (AS) foi determinada pelo diâmetro dos espaçadores da câmara de filtração em 0,075 cm².

4.3.2 Mensurações da Permeabilidade dentinária máxima

Para simular a dentina com túbulos abertos presentes em áreas hipersensíveis, as superfícies dentinárias externas, do lado do esmalte e do lado pulpar, foram imerso em ácido cítrico a 0,3% por 30 s em ultrassom, para remover a smear layer (Figura 7) (Ultrasonic Cleaner 1440D, Odontobrás Indústria e Comércio, São Paulo, SP, Brasil) (Pashley et al., 1981).

Figura 7 - Remoção de smear layer para permeabilidade máxima



Fonte: Elaborado pelo autor.

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. Foi 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 min (Ultrasonic Cleaner 1440D, Odontobrás Indústria e Comércio, São Paulo, SP, Brasil).

4.3.3 Mensurações da Permeabilidade dentinária após cada tratamento

A permeabilidade de cada amostra, foi calculada em cada momento da leitura após os respectivos tratamentos, e proporcionalmente como um percentual em relação à condutância hidráulica máxima, obtida após a abertura dos túbulos, a qual foi considerada uma permeabilidade de 100% (Kolker et al., 2002; Pereira et al., 2005; Santiago et al., 2006). A seguinte fórmula foi aplicada:

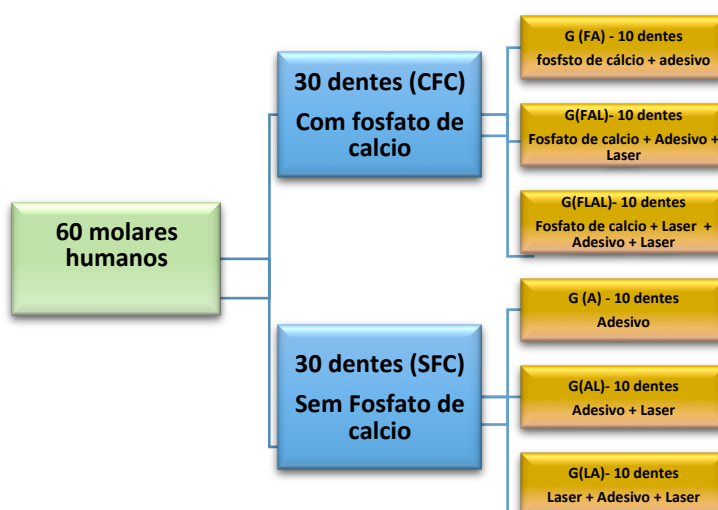
$$P\% = (L_p \times 100) / L_{p\max}$$

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

4.4 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, foi subdividido novamente em três subgrupos. Os materiais foram utilizados de acordo com a indicação dos fabricantes. Dessa forma foram obtidos 6 subgrupos ($n=10$). A figura 8 mostra a divisão experimental dos grupos. Todos os materiais, fabricantes e composições estão listados no Quadro 1.

Figura 8 - Delineamento dos grupos da pesquisa



Fonte: Elaborado pelo autor.

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 polialcenóico, 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 1,064µm e fibra óptica de 320 m.
Fosfato de Cálcio	TeethMate Desensitizer	Kuraray Noritake Dental Inc.	Pó: Tetra-cálcio fosfato, di-cálcio fosfato anídrico Líquido: Água, conservante

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4.1 Aplicação do Fosfato de Cálcio

Para aplicação do TeethMate Desensitizer (Kuraray Notitake Dental Inc.), os espécimes foram posicionados em um suporte de silicone, cobrindo o disco e deixando somente a superfície externa do lado oclusal descoberta. Os grupos FA, FAL e FLAL receberam como primeiro tratamento. Com ajuda de um microbrush, foi aplicado ativamente durante 30 s, posteriormente a dentina foi lavada com spray de ar e água, e seca com papel absorvente (Figura 9A).

4.4.2 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 aproximadamente a 1 mm e perpendicular à superfície dentária, sem contato a 60 mJ (Matos et al., 1999; 2000; Marimoto et al., 2013; Ribeiro et al., 2013), varrendo-se uma área média de 6 mm de diâmetro por 60 s. 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, com densidade de energia de 74,64 J/cm² (Figura 9B). A etapa de irradiação do Nd:YAG *Laser* foi realizada por um único operador para manter padronizada a distância de 1 mm à superfície dentária. O Laser de Nd: YAG foi aplicado nos grupos FAL e AL depois da aplicação do sistema adesivo e previamente a sua polimerização, para os grupos FLAL e LAL foi aplicado antes e depois do sistema adesivo.

4.4.3 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 segundos, sendo expressa em J (Almeida-Lopes 2002). 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 (Ribeiro et al., 2013).

A densidade de energia (DE) é taxa de energia por unidade de área aplicada no tecido irradiado, expressa em J/cm² (Almeida-Lopes 2002). 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 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 cm².

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

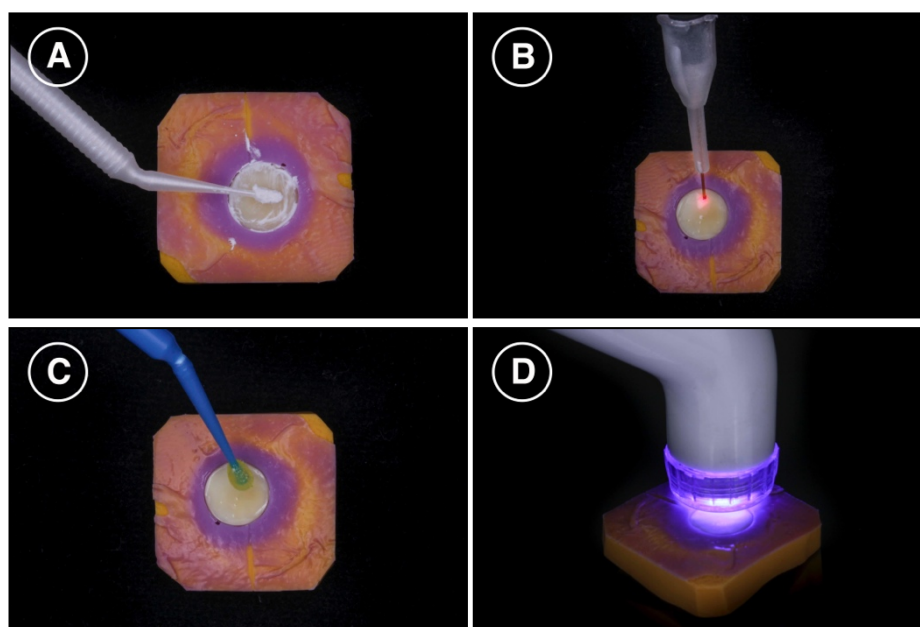
$$DE = E / A$$

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 cm²). A DE a ser utilizada para a dentina foi de 74,64 J/cm².

4.4.4 Aplicação do Sistema Adesivo

O adesivo Single Bond Universal (3M-ESPE) foi aplicado ativamente em duas camadas durante 20 s com ajuda de um microbrush e posteriormente foi aplicado um jato de ar por 5 s a uma distância aproximada de 10 cm para evaporar o solvente (Figura 9C), em seguida foi feita a polimerização por 10 s (Figura 9D). Para os Grupos A, AL, FA e FAL o sistema adesivo foi aplicado depois do Fosfato de cálcio e antes da aplicação do laser. Para os Grupos LAL e FLAL o sistema adesivo foi aplicado depois do Fosfato de cálcio, e entre as aplicações do laser.

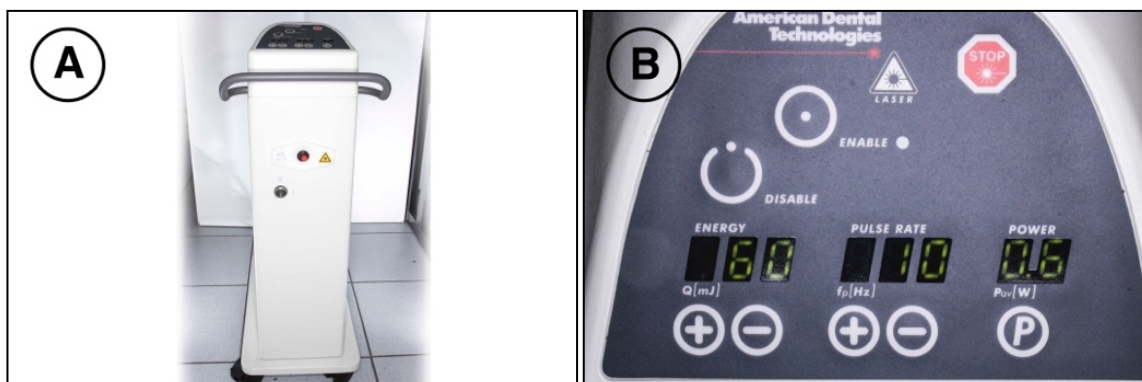
Figura 9 - Tipos de tratamento em dentina



Legenda: 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.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 10 - Características do laser

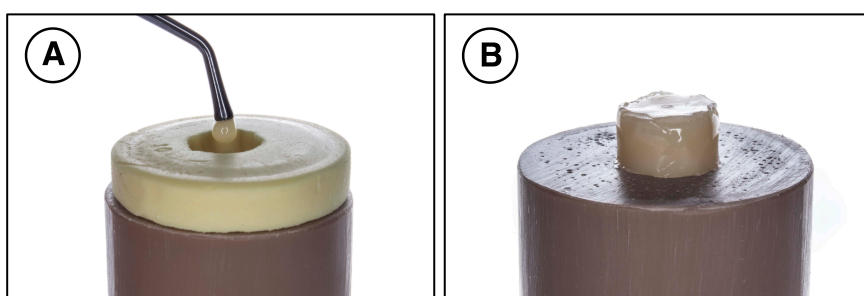


Legenda: a) Laser de Nd:YAG; b) Energia aplicada.
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.5 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 440nm a 480 nm com uma densidade de potência de 1200 mW/cm^2 (Radii-cal, SDI, Victoria, Austrália).

Figura 11 – Técnica Restauradora



Legenda: a) Inserção da Resina Composta; b) Vista do dente restaurado.
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.6 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 (ERIOS Equipamentos 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 s para cada temperatura ($5 \pm 2^\circ\text{C}$, $37 \pm 2^\circ\text{C}$ e $55 \pm 2^\circ\text{C}$) (Gale, Darvell, 1999).

Figura 12 – Ciclagem Termomecânica



Legenda: a) Máquina Termomecânica ER 37000; b) Ciclagem.
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.7 Teste de resistência a microtração

Após a termociclagem, os espécimes 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.

Ao final do ensaio as partes fraturadas foram analisadas quanto ao padrão de fratura em estereomicroscópio ótico com aumento de 40x (Zeis, steREO Discovery V20, Göttingen, 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.

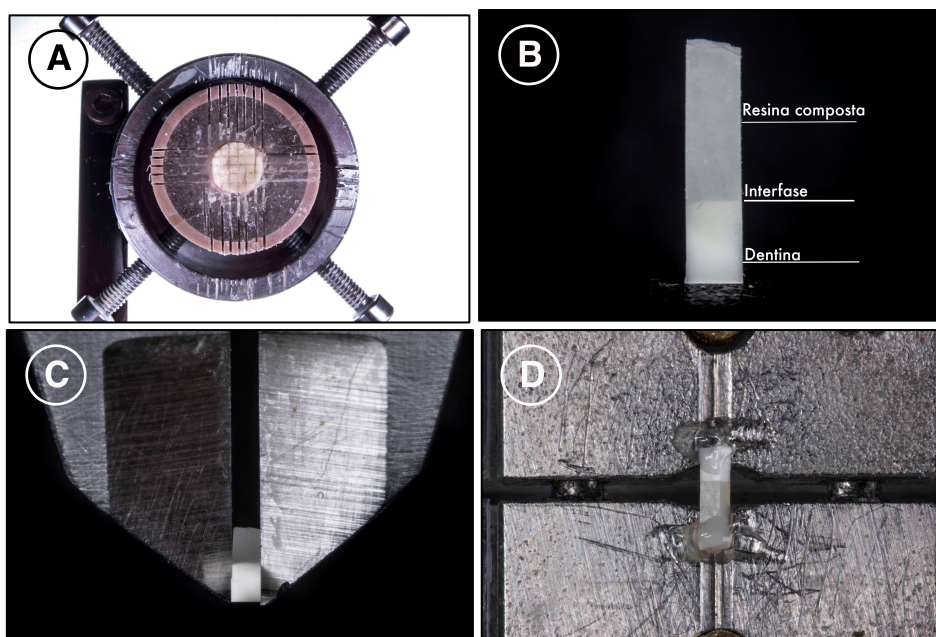
Adesiva - Para fraturas em que a falha ocorreu na interface adesivo-estrutura dental ou na interface entre o adesivo e a resina composta, em mais de 75% da área analisada.

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 – Teste de Resistencia de União



Legenda: a) Vista frontal das secções; b) Palito; c) Medição da interface adesiva; d) Ensaio mecânico de microtração.

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.8 Análises ilustrativas por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os espécimes em dentina de cada subgrupo com falha adesiva ou mista e resistência de união próximo à média do respectivo grupo foram selecionados para análise detalhada da fratura na dentina em MEV. Os espécimes foram posicionados em 'stubs' de alumínio, cobertos com ouro/paládio (Desk II – Denton Vacuum) e examinados em microscópio eletrônico de varredura (JMS 5310 – Jeol) operando com aumento de 2000 e 5000 vezes.

4.9 Análise por microscópio confocal de varredura a laser, zimografia *in situ*

Os espécimes foram preparados para a observação em Microscopia Confocal de Varredura Laser (MCVL) utilizando a técnica da zimografia "in situ" de

acordo com Mazzoni et al., (2012). Os espécimes foram preparados da mesma maneira utilizado para o teste de microtração entretanto algumas fatias foram coladas em uma lâmina de vidro e desgastadas com lixas 1200 ate 4000 (Fepa-P, Extex, Enfield, CT, USA), na politriz circular (Ecomet 3 - Buehler USA) ate obter uma espessura de 0,5 mm. A zimografia “in situ” foi realizada com utilização da gelatina conjugada com fluoresceína (EnzCheck kit) como substrato para MMP seguindo as instruções do fabricante (E-12055, Molecular Probes, Eugene, OR, EUA). A solução de gelatina foi diluída 1:8 com a solução tampão de diluição (NaCl 150 mM, CaCl₂ 5 mM, Tris-HCl 50 mM, pH 8,0), e adicionou-se um agente anti-desvanecedor (Meio de Montagem com Dapi H-1200, Vectashield, Vector Laboratories LTD, Cambridgeshire, Reino Unido). Foi colocada uma quantidade de 50 µl da mistura fluorescente de gelatina sobre cada espécimen e coberta com uma lamínula. As lâminas foram protegidas contra a luz e incubadas em câmaras humidificadas a 37°C por 3 h, 24 h e 48 h. Resumidamente, a hidrólise do substrato de gelatina conjugada com fluoresceína, indicativa de atividade enzimática gelatinolítica endógena, foi avaliada por exame sob um microscópio confocal multi-fóton, ex: 488 nm e em: 530 nm (Zeiss, LSM 780, Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha). Secções ópticas de 10 µm de espessura foram adquiridas a partir de diferentes planos focais, e as imagens empilhadas foram analisadas, quantificadas e processadas com o software ZEN 2010 (Carl Zeiss).

4.10 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 foi utilizado 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 apresentem distribuição normal, ambos os dados foram analisados pelo teste da análise de variância (ANOVA) paramétrica,

teste t pareado e teste Tukey, adotando o nível de significância de 5% para tomada de decisões.

As seguintes hipóteses de nulidade 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 tem correlação com resistência de união.

5 RESULTADO

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

5.1 Análise estatística

5.1.1 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 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 de cálcio + Laser + Adesivo + Laser) que promoveu uma redução significativa da permeabilidade em relação à inicial. As meias de redução da permeabilidade para todos os grupos, inicial e final pode ser visto na Figura 14.

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

Grupos	Inicial	Final	Teste t
A	49,72 ($\pm 22,49$)	42,11 ($\pm 19,86$)	$p=0,46$ ($t=0,76$)***
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 ($\pm 11,009$)	$p=0,005$ ($t=3,67$)
FA	47,38 ($\pm 12,17$)	40,38 ($\pm 22,85$)	$p=0,11$ ($t=1,75$)
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	$p=0,48$ ($f=0,91$)*	$p=0,70$ ($f=0,59$)**	

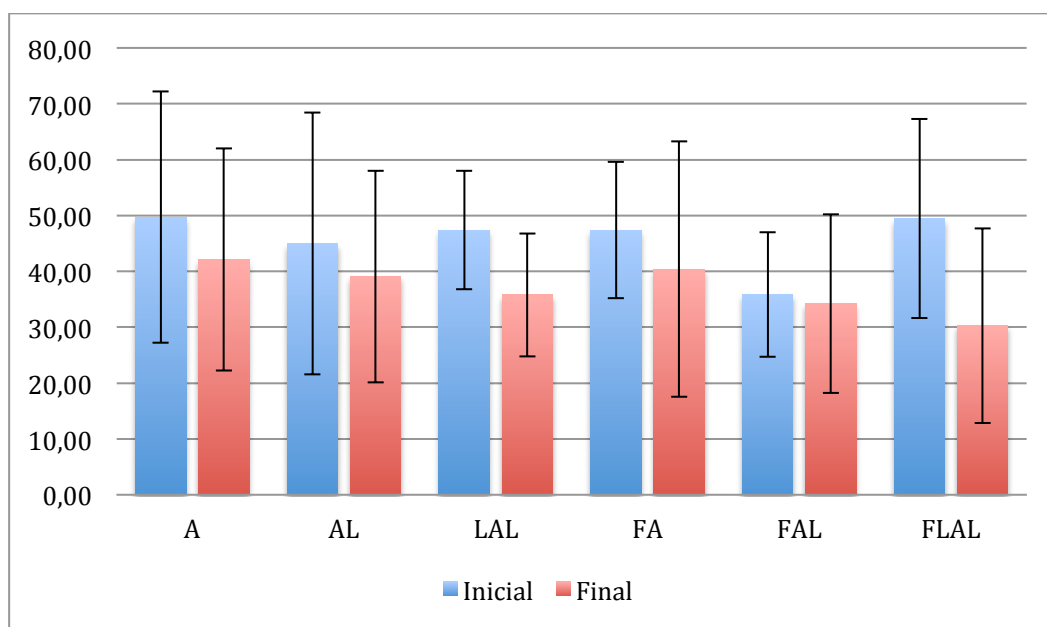
*Resultado da ANOVA um fator para a comparação entre os grupos na avaliação inicial

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

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

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 14 - Gráfico que mostra a permeabilidade inicial e final de cada grupo



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.1.2 Estatística para resistência de união

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a dois

fatores. Os resultados do teste ANOVA dois fatores (Tabela 2), mostrou que houve uma diferença significativa em um fator (Tratamento) 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
Tratamento	361,1	2	180,55	28,992	*0,00
Fosfato	3,44	1	3,44	0,553	0,460459
Tratamento x Fosfato	48,31	2	24,15	3,879	*0,026674

Legenda: 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 ocorreu diferença significativa entre o fator Tratamento, observou-se um aumento na resistência de união quando o adesivo é associado com aplicação do laser (Grupo LAL e AL).

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

Tratamento	Média (MPa)	±DP	Grupos Homogêneos
A	25,37	2,73	A
LAL	30,52	2,86	B
AL	30,63	2,18	B

Fonte: Elaborado pelo autor.

Na avaliação do fator Fosfato (Tabela 4), observou-se que não houve uma diferença significativa para a aplicação ou não o Fosfato de Cálcio previamente aos deferentes tratamentos.

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

Fosfato	Média (MPa)	DP	Grupos Homogêneos
SF	28,60	3,25	A
CF	29,08	3,89	A

Fonte: Elaborado pelo autor.

Quando o Teste Tukey (5%) foi realizado para a interação dos fatores (Tabela 5), foi observado que os grupos FAL, FLAL e AL apresentaram as maiores médias, que diferiram estatisticamente dos grupos restaurados só com Adesivo (Grupo A e Grupo FA). O grupo LAL apresentou resultados estatisticamente superiores ao grupo FA. Os demais grupos não apresentaram diferenças estatisticamente significantes.

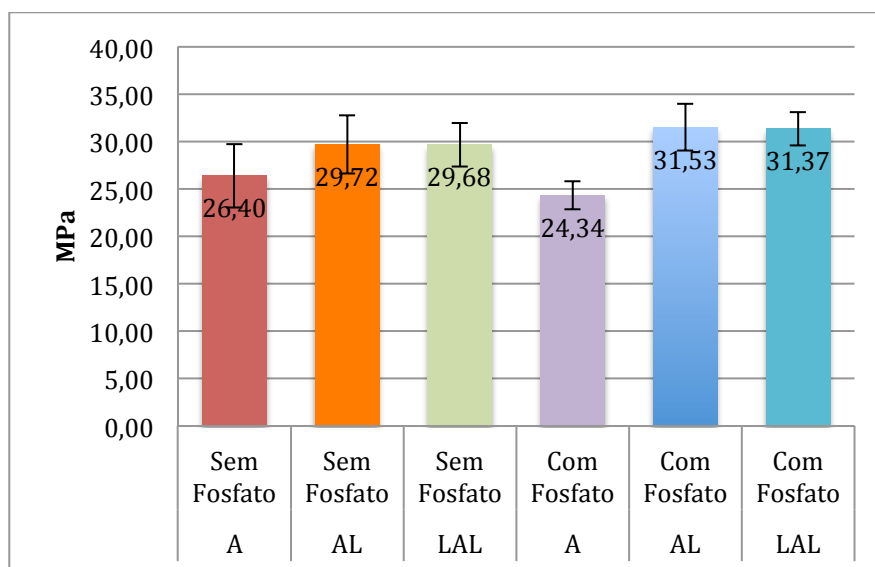
Tabela 5 - Resultados do teste Tukey (5%) para interação entre os fatores Tratamento e Fosfato

Tratamento	Fosfato	Média (MPa)	DP	Grupos Homogêneos
A	CF	24,34	3,35	A
A	SF	26,40	3,07	AB
LAL	SF	29,68	2,31	BC
AL	SF	29,72	1,47	C
LAL	CF	31,37	2,46	C
AL	CF	31,53	1,77	C

Fonte: Elaborado pelo autor.

As médias de resistência de união de todos os grupos, pode ser visto na Figura 15.

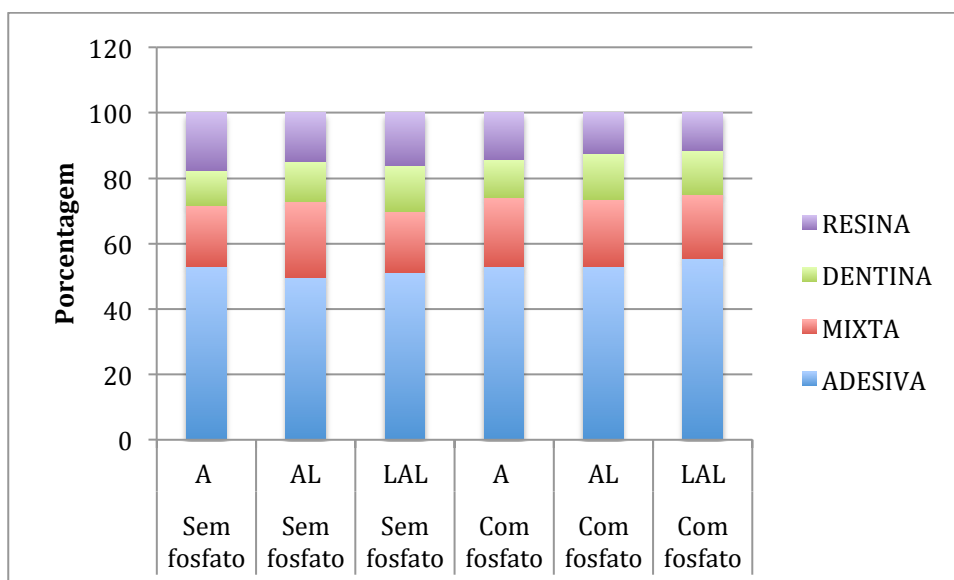
Figura 15 - Gráfico que mostra a resistência de união de todos os grupos



Fonte: Elaborado pelo autor.

A figura 16 mostra a porcentagem do tipo de fratura obtido por cada grupo após a realização do teste de microtração.

Figura 16 - Gráfico que mostra os tipos de fratura

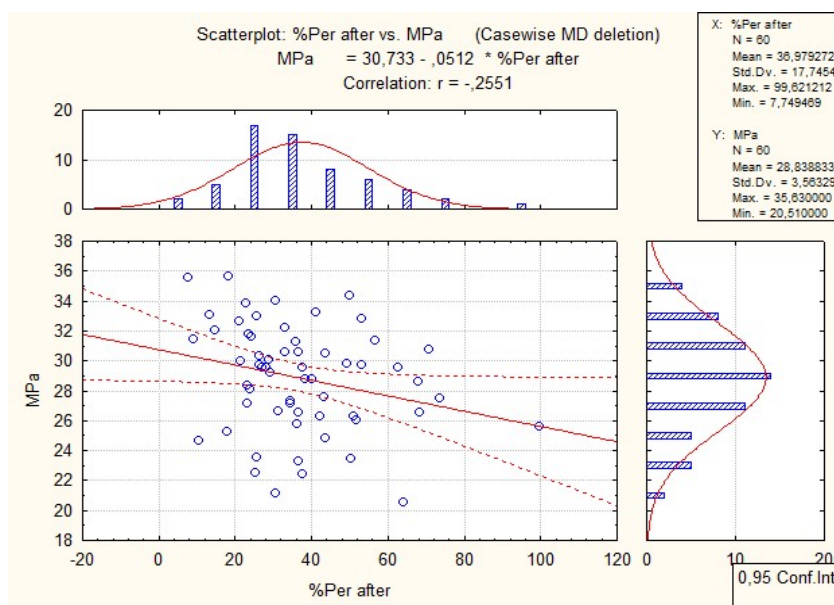


Fonte: Elaborado pelo autor.

5.1.3 Correlação para teste de permeabilidade e resistência de união

Para verificar a interação entre a permeabilidade e a resistência de união foi aplicado o Teste de Correlação. A permeabilidade não influenciou na resistência de união, mostrando uma correlação negativa desprezível, mostrou que não houve correlação entre os resultados (Figura 17).

Figura 17 - Gráfico que mostra a correlação entre a permeabilidade e a resistência de união



Fonte: Elaborado pelo autor.

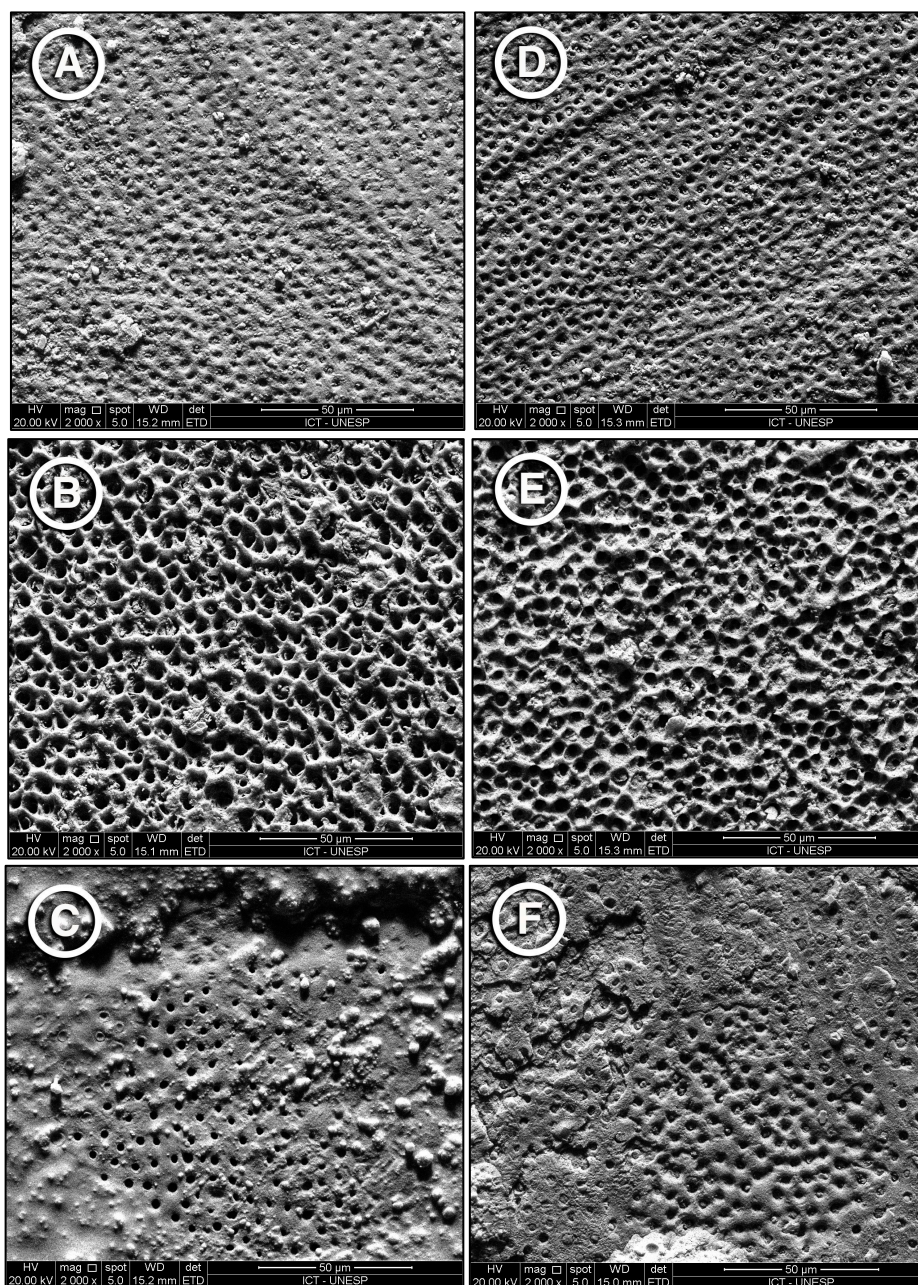
5.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

As imagens obtidas pelo MEV da porção de dentina do palito fraturado seguem abaixo na figura 18, com aumentos de 2000 x e 15, 20 ou 25 KV de potência.

A figura 18 apresenta as fotomicrografias de MEV da porção de dentina dos palitos fraturados de todos os grupos com e sem previa aplicação do Fosfato de

Cálcio, mostrando a entrada dos túbulos dentinários obliterados ou parcialmente obliterados.

Figura 18 - Fotomicrografias que mostra as imagens obtidas pelo MEV

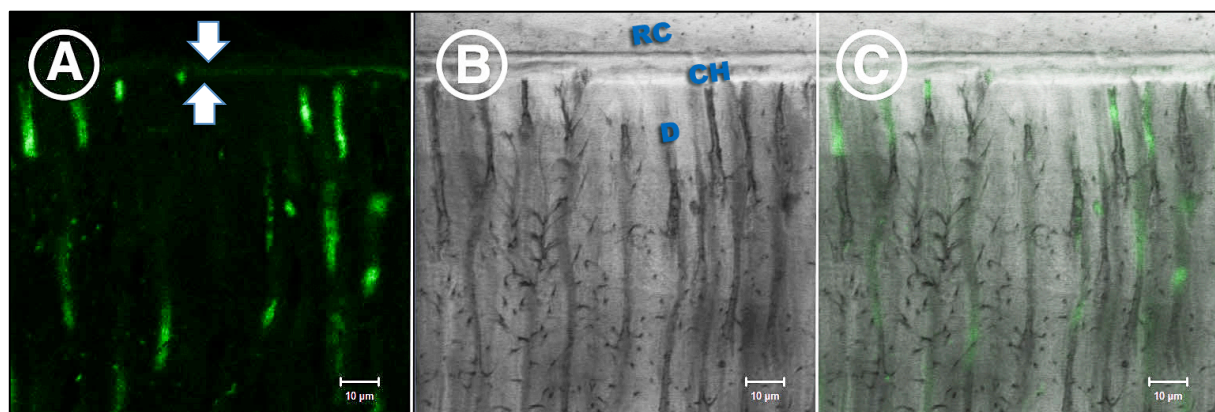


Legenda: a) Grupo A; b) Grupo FA; c) Grupo AL; d) Grupo FAL; e) Grupo LAL; f) Grupo FLAL.
Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3 Microscopia Confocal de Varredura a Laser

Alguns espécimes quando observados na MCVL utilizando a técnica da zymografia “in situ”. Observou-se uma intensa fluorescência na base da camada híbrida (CH) após 24 h de incubação, indicando que a gelatina conjugada com fluoresceína foi hidrolisada nesses locais pelas metaloproteinases (MMPs). As MMPs que estão presentes digerem a gelatina com fluoresceína e se tornam verde, sendo possível assim identificar das áreas com maior e menor atividade, como mostrado nas Figuras 19-24.

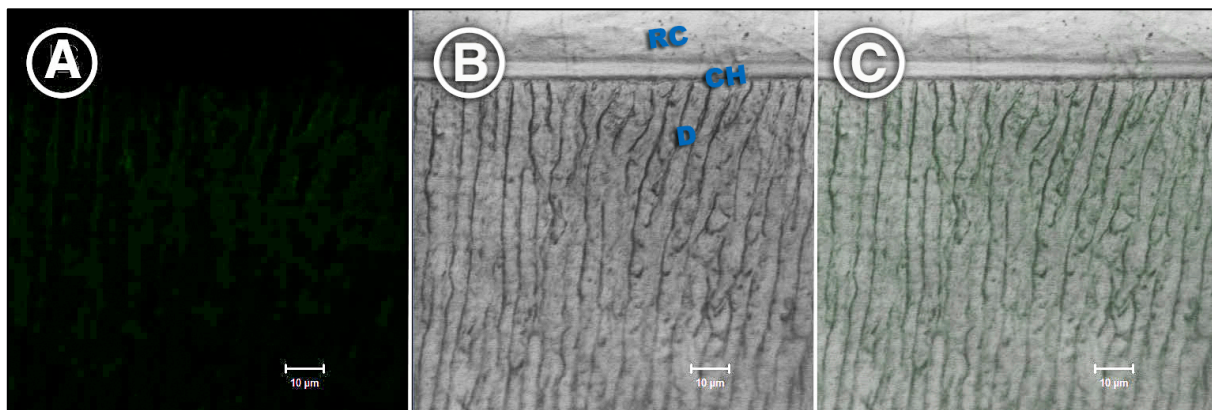
Figura 19 – Imagens obtidas pelo MCVL do Grupo A (Adesivo)



Legenda: a) Imagem apenas com a presença da fluoresceína (verde); b) Imagem microscopia confocal laser; c) Combinação das imagens anteriores. Nota-se presença da fluoresceína na base da camada híbrida indicando atividade das metaloproteinases (MMPs) na figura A entre as setas. A presença de fluoresceína (verde) ao longo dos túbulos dentinários pode ocorrer com maior ou menor intensidade, entretanto a presença na base da CH apresenta-se mais preocupante, pois compromete a degradação do colágeno presente na formação da CH, podendo comprometer a longevidade.

Fonte: Elaborado pelo autor.

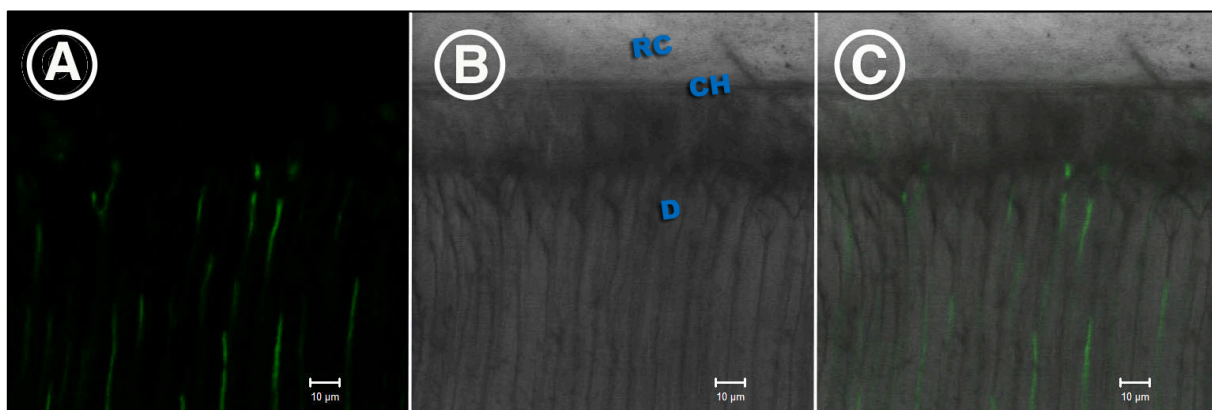
Figura 20 – Imagens obtidas pelo MCVL do Grupo AL(Adesivo + Laser)



Legenda: a) Imagem apenas com a presença da fluoresceína (verde); b) Imagem microscopia confocal laser; c) Combinação das imagens anteriores. Nota-se a presença da fluoresceína apenas ao longo dos túbulos dentinários. A aplicação do Laser após o adesivo pode apresentar influencia na presença de fluoresceína (verde) na base da CH.

Fonte: Elaborado pelo autor.

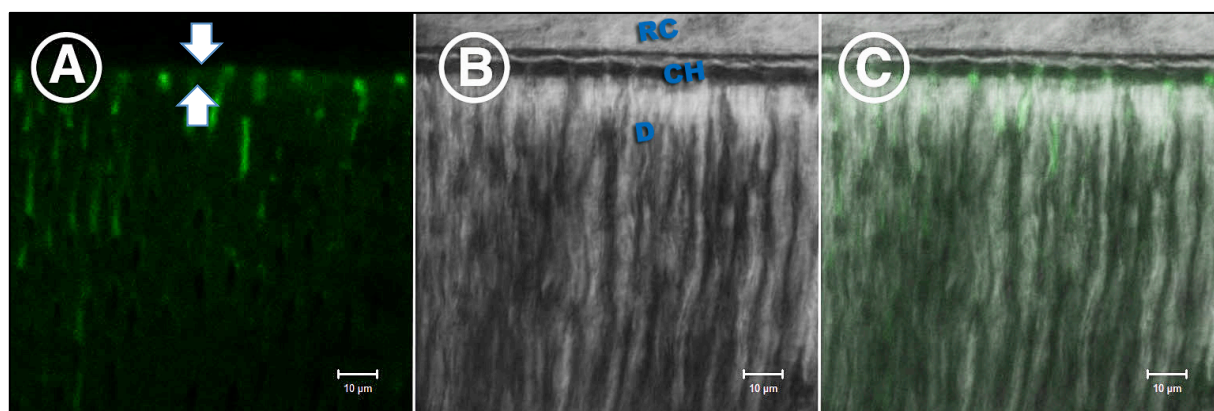
Figura 21 – Imagens obtidas pelo MCVL do Grupo LAL(Laser + Adesivo + Laser)



Legenda: a) Imagem apenas com a presença da fluoresceína (verde); b) Imagem microscopia confocal laser; c) Combinação das imagens anteriores. Nota-se a ausência da camada de adesivo e a formação de uma superfície dentinária modificada que apresenta entre 10 e 20 micrometros. Verifica-se também a presença da fluoresceína apenas ao longo dos túbulos dentinarios. A aplicação do Laser antes e depois do adesivo pode apresentar influencia na redução da presença de fluoresceína (verde) na base da CH, principalmente pela modificação da estrutura dentinaria.

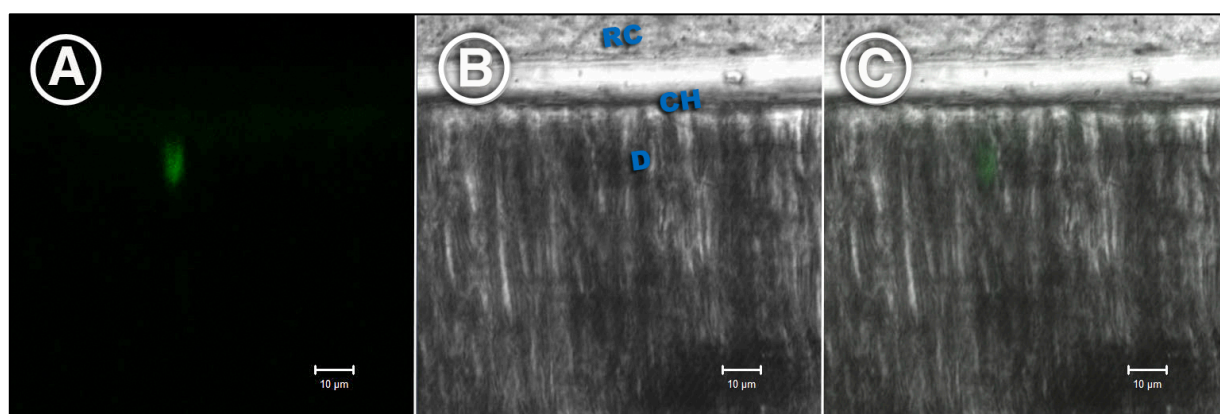
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 22 – Imagens obtidas pelo MCVL do Grupo FA(Fosfato + Adesivo)



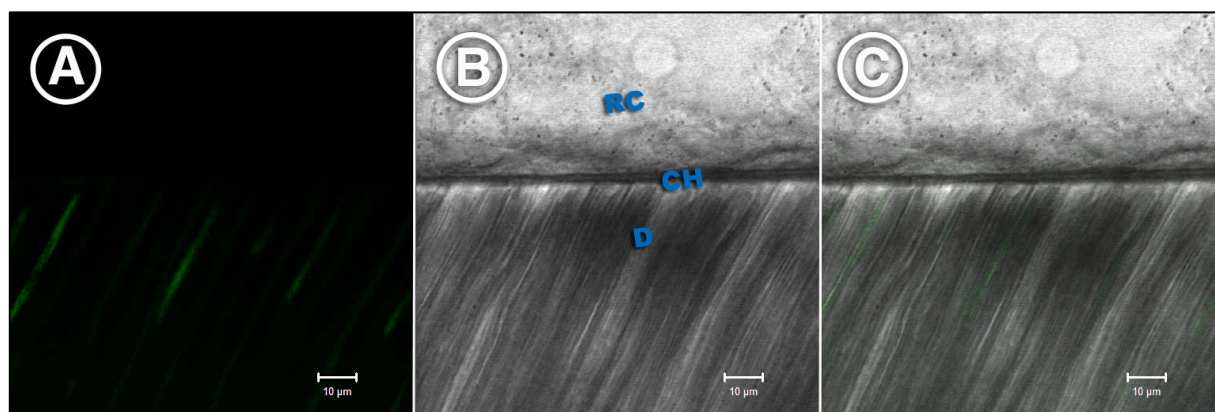
Legenda: a) Imagem apenas com a presença da fluoresceína (verde); b) Imagem microscopia confocal laser; c) Combinação das imagens anteriores. Nota-se presença da fluoresceína na base da camada híbrida indicando atividade das metaloproteinases (MMPs) na figura A entre as setas. A presença de fluoresceína (verde) ao longo dos túbulos dentinários pode ocorrer com maior ou menor intensidade, entretanto a presença na base da CH apresenta-se mais preocupante, pois compromete a degradação do colágeno presente na formação da CH, podendo comprometer a longevidade.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 23 – Imagens obtidas pelo MCVL do Grupo FAL(Fosfato + Adesivo + Laser)



Legenda: a) Imagem apenas com a presença da fluoresceína (verde); b) Imagem microscopia confocal laser; c) Combinação das imagens anteriores. Nota-se a presença da fluoresceína apenas ao longo dos túbulos dentinários. A aplicação do Laser após o adesivo pode apresentar influencia na presença de fluoresceína (verde) na base da CH.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 24 – Imagens obtidas pelo MCVL do Grupo FLAL(Fosfato + Laser + Adesivo + Laser)



Legenda: a) Imagem apenas com a presença da fluoresceína (verde); b) Imagem microscopia confocal laser; c) Combinação das imagens anteriores. Nota-se a ausência da camada de adesivo e a formação de uma superfície dentinária modificada. A presença do Fosfato pode ter influenciado na atuação do Laser na modificação da superfície dentinária. Verifica-se também a presença da fluoresceína apenas ao longo dos túbulos dentinários. A aplicação do Laser antes e depois do adesivo pode apresentar influência na redução da presença de fluoresceína (verde) na base da CH, principalmente pela modificação da estrutura dentinária.

Fonte: Elaborado pelo autor.

6 DISCUSSÃO

A Odontologia evoluiu 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 (Pashley et al., 2011; Van Meerbeek et al., 2011).

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 (Pashley et al., 1987; Pashley, Carvalho, 1997; Mjor, 2009). Varias técnicas foram propostas para melhorar as condições encontradas no substrato dentinário, dentre das quais está a utilização de varias formas de energia laser como o Nd:YAG e aplicação de vários tratamentos de superfície (Ghiggi et al., 2010; Al-Saud, Al-Nahedh, 2012; Oncu et al., 2017).

De acordo com o sistema sugerido por Pashley e Galloway (1985), discutiremos como diversos tratamentos têm 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.

6.1 Da Metodologia

Para este estudo foram utilizados terceiros molares hígidos, com o fim de simular as condições *in vivo* (Schmalz et al., 2001), 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 (Matos et al., 1999; Pereira et al., 2005).

A coleta dos dentes foi 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 utilizando um termo de consentimento e submetidos ao 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 optou-se pela estocagem em freezer com a finalidade de evitar variações na permeabilidade (Goodis et al., 1991) 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 et al., 1996; Titley et al., 1998).

Para o teste de permeabilidade encontramos dois tipos de espécimes na literatura. Os mais utilizados em forma de disco (Kolker et al., 2002; Pereira et al., 2005; Santiago et al., 2006; Komabayashi et al., 2010) e o outro utiliza segmentos de coroas (de Andrade e Silva et al., 2007; 2009; Rusin et al., 2010). Os discos de dentina são mais utilizados por possuir varias 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 (Pashley, 1986).

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 6mm de diâmetro. Vários autores para avaliar a permeabilidade usaram discos com uma espessura de 1 mm (Kolker et al., 2002; Pereira et al., 2005; Santiago et al., 2006). 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 (Reeder et al., 1978; Pashley, Galloway, 1985; Wegehaupt et al., 2008).

Neste estudo para mensuração da permeabilidade dentinária foi aplicado o método de Pashley (1981). Para permitir o registro da permeabilidade inicial, foi removido a *smear layer* do lado pulpar dos discos de dentina, aplicando ácido fosfórico a 37% por 15 s (Pashley, Galloway, 1985; Camps et al., 1998; Kolker et al., 2002). A condutância hidráulica foi mensurada aplicando uma pressão de 10 psi (Tagami et al., 1989; Goodis et al., 1991; Simpson et al., 1992; Koutsi et al., 1994; Kolker et al., 2002; Santiago et al., 2006), 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 (Schmalz et al., 2001; Ozok et al., 2004; Sauro et al., 2007), 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 da *smear layer* das superfícies externas, os discos de dentina foram submergidos em solução de ácido cítrico a 0,3% por 30 s usando ultrassom (Pashley et al., 1981). 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 (Thanatvarakorn et al., 2013).

A última medição de permeabilidade foi realizada depois da aplicação de cada tratamento, com o fim de estabelecer que tratamento foi o mais eficaz. Assim, quando o tratamento tem uma maior redução da taxa de filtração, teoricamente, mais durável é o efeito oclusivo (Pereira et al., 2005). 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 (Ishizaka et al., 2002). Assim, a dentina pode obter uma permeabilidade reduzida como consequência da recristalização do substrato (Lee et

al., 2002). Na literatura encontramos que a relatos que as primeiras aplicações do laser foi previamente a qualquer tratamento restaurador, na qual Rolla (2006) demonstrou que ha um aumento na resistência adesiva, porém outros pesquisadores mostram que há uma redução na resistência adesiva (Gonçalves et al., 1999; Matos et al., 1999; Ghiggi et al., 2010). Razão pela qual, neste estudo, a aplicação do Laser foi aplicado previamente e após do sistema adesivo.

Para a aplicação de Laser, estudos têm mostrado a dificuldade de padronização dos parâmetros utilizados. Considerando isto, os efeitos produzidos pelos lasers dependem da intensidade de energia e da dose aplicada (de Magalhaes et al., 2004; Lan et al., 2004; Hsu et al., 2006; Magalhaes et al., 2008; Kara, Orbak, 2009; Yazici et al., 2010). Os parâmetros deste estudo foram escolhidos pelo resultado encontrados por Silva (2016), que avaliou a influência da aplicação do Nd:YAG na variação da temperatura pulpar e demonstrou que o parâmetro de 60mj/pulso, resultou em maior segurança para a vitalidade pulpar.

Um produto utilizado neste estudo é o Fosfato de cálcio, utilizado na clínica como dessensibilizante. Na literatura encontramos vários produtos para o tratamento da sensibilidade, utilizados com eficácia na redução da permeabilidade dentinária (Kara, Orbak, 2009; Bakry et al., 2011; Chiga et al., 2016). No trabalho de Zhou (2016), 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 (Nakabayashi et al., 1991; 1992; Van Meerbeek et al., 2011). O uso de adesivos tem efetividade para redução de permeabilidade mas diminui com o tempo (Gregoire et al., 2005). 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 procedimento 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), 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), 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) o primeiro em empregar este método. Para realizar o teste utilizamos espécimes 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 (Sano et al., 1994; Pashley et al., 1999; Armstrong et al., 2017).

6.2 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 (Pashley et al., 1978). 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* (Greenhill, Pashley, 1981; Pashley et al., 1984).

Para mostrar a eficácia após os diferentes tratamentos comparando com a permeabilidade inicial, foi aplicado o teste-t 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 (Liu et al., 1997; de Magalhaes et al., 2004; Naylor et al., 2006; Zapletalova et al., 2007; Al-Saud, Al-Nahedh, 2012). 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 (Gonçalves et al., 1999; Matos et al., 2000; Ghiggi et al., 2010).

Vários produtos indicados para sensibilidade dentinária são aplicados para a redução da permeabilidade (Kara, Orbak, 2009; Bakry et al., 2011; Bakry et al., 2016; Chiga et al., 2016). Thanatvarakorn et al. (2013) 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 de cálcio.

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 (Lee et al., 2002) e interagir com outros produtos, pode aumentar a durabilidade dos tratamentos. Tosun et al. (2016) afirmaram que quando o laser era combinado com Clinpro(3M-Espe) melhorou a capacidade de obliteração tubular, mas o laser reduziu a penetração do Clinpro(3M-Espe). Os produtos a 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 (Pei et al., 2013; Cortiano et al., 2016; Zhou et al., 2016).

Para os resultados da microtração foi aplicado o teste ANOVA a 2 fatores, considerando o fator Tratamento (associação de adesivo e laser Nd:YAG) e o fator Fosfato (tratamentos com e sem aplicação do Fosfato de cálcio), mostrando uma diferença significativa no fator Tratamento e na interação entre eles. Para verificar que tratamento teve mais eficácia, foi aplicado o teste de tukey (5%). Os resultados mostraram que a irradiação da superfície dentinária com laser Nd:YAG aumento os valores de resistência de união nos dentes tratados com o sistema adesivo SigleBond Universal. Estes resultados concordam com o estudo de Matos et al. (2000), onde o tratamento da dentina com laser Nd:YAG, antes da aplicação de sistemas adesivos autocondicionantes, não comprometeu a adesão. A irradiação com laser Nd:YAG causa alterações químicas e morfológicas na superfície dentinária. As alterações químicas incluem aumento do conteúdo de cálcio e fósforo e diminuição do conteúdo de oxigênio (Rohanizadeh et al., 1999; Kobayashi et al., 2003), como comprovado em nosso estudo; dentre as alterações morfológicas estão a fusão e a recristalização da superfície dentinária (Moriyama et al., 2004), que provoca oclusão dos túbulos dentinários (Lan et al., 2004), diminuição da permeabilidade dentinária, reduzindo a sensibilidade pós- operatória e tornando esta dentina menos susceptível e mais resistente à dissolução ácida ou ao processo carioso (Rohanizadeh et al., 1999; Hossain et al., 2001; Lee et al., 2002; Magalhaes et al., 2008).

Considerando o fator Fosfato, observou-se que não teve uma diferença significativa quando foi aplicado ou não o Fosfato de Cálcio previamente aos diferentes tratamentos, mostrando que a aplicação deste produto não influencia na resistência de união, porém na média dos valores houve um leve aumento quando os tratamentos foram aplicados previamente o fosfato de cálcio. No estudo de Cortiano et al. (2016) mostraram a comparação de um dessensibilizante a base de oxalato que afetou a resistência de união e o dessensibilizante a base de fosfato de cálcio não interferiu, mostrando que a escolha do dessensibilizante deve ser criteriosa, já que pode afetar a adesão. Pei et al. (2013) recomendam no seu estudo com base nos resultados de resistência de união, dessensibilizantes contendo

fosfato de cálcio podem ser aplicados para adesivos com um pH adequado e contendo monómeros funcionais compatíveis.

Para a interação dos fatores, foi observado que os grupos AL, LAL com aplicação de Fosfato de cálcio e AL sem utilização de Fosfato de cálcio apresentaram as maiores médias, que diferiram estatisticamente dos grupos restaurados apenas com Adesivo (com e sem aplicação do fosfato de cálcio). O grupo LAL sem aplicação de Fosfato de cálcio apresentou resultados estatisticamente superiores ao grupo A com aplicação de Fosfato de cálcio. Os demais grupos não apresentaram diferenças estatisticamente significantes. Sendo assim, a aplicação do Fosfato de cálcio prévia ao sistema adesivo não comprometeu a resistência de união mostrando uma característica similar aos trabalhos de Cortiano et al. (2016) e Pei et al. (2013).

Quando observa-se o momento da irradiação com Laser verifica-se que os os grupos AL (Adesivo+Laser) , LAL (Laser+Adesivo+Laser) com aplicação de Fosfato de cálcio e AL (Adesivo+Laser) sem utilização de Fosfato de cálcio apresentaram os melhores resultados, superiores estatisticamente dos grupos restaurados apenas com Adesivo (com e sem aplicação do fosfato de cálcio), dessa forma tanto a irradiação do Laser previamente e depois da aplicação do adesivo (com aplicação do Fosfato de cálcio) e também a aplicação do Laser após o adesivo (com e sem aplicação do Fosfato de cálcio) demonstraram resultados superiores ao grupo onde foi utilizado somente o adesivo. Portanto, de acordo com os resultados a utilização do laser pode ser considerado um procedimento que pode alterar a superfície dentinária com a finalidade de melhorar a resistência de união.

Considerando a resistência de união e a permeabilidade dentinária o grupo LAL (Laser+Adesivo+Laser) com aplicação de Fosfato de cálcio apresentou resultados superiores em ambas avaliações, provavelmente por proporcionar a fusão do fosfato de cálcio com a dentina durante a primeira aplicação do laser e a interação do adesivo com a superfície com maior disponibilidade de cálcio durante a segunda aplicação do Laser.

Quando compara-se a influência da permeabilidade dentinária na resistência de união, observou-se uma correlação desprezível, ou seja a permeabilidade dentinária não influencia na resistência de união, assim pode-se obter uma elevada resistência de união com dentina altamente permeável ou com baixa

permeabilidade.

As imagens obtidas pelo MEV, mostraram uma obliteração parcial e total dos túbulos dentinários na maioria dos grupos, observou-se uma modificação na superfície dentinária nos grupos em que foi aplicado o Laser, as figuras 17b, 17c, 17e, 17f ilustram uma dentina com aspecto diferenciado que é demonstrado por vários autores na literatura (Liu et al., 1997; Lee et al., 2002; Ferreira et al., 2009), especulasse também que o efeito fototérmico poderia gerar uma melhora nas propriedades da interface pela aumento da evaporação do solvente comparado a la técnica convencional de adesão. Na aplicação da técnica zymografia *in situ* é possível observar nos grupos A e FA a presença da fluoresceína na base da camada híbrida indicando maior atividade das MMPs (Mazzoni et al., 2012), o que pode comprometer a longevidade da camada híbrida, tornando-a mais susceptível à degradação. Nos grupos em que foi aplicado o Laser a presença de fluoresceína teve uma redução na base da CH obtida pela modificação da superfície dentinária. Adicionalmente nos grupos com a presença do fosfato de cálcio observou-se uma menor atuação do Laser na dentina, de alguma forma a presença do fosfato de cálcio não permitiu uma modificação na dentina semelhante, onde não havia a presença do fosfato de cálcio.

Embora seja difícil encontrar um consenso na literatura de um protocolo que permita diminuir a degradação da interfase adesiva, atribuída à permeabilidade dentinária. Os resultados encontrados neste trabalho, leva-se a considerar que a associação com laser de Nd:YAG ao adesivo pode melhorar a resistência de união e permeabilidade dentinária avaliadas em um período de seis meses. No entanto estudos futuros podem desvendar a influencia na obtenção de uma maior longevidade da interface adesiva.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos neste trabalho, pode se concluir que:

- Apenas os tratamentos nos grupos LAL(Laser+Adesivo+Laser) e FLAL(Fosfato+Laser+Adesivo+Laser), influenciaram na redução da permeabilidade dentinária;
- Os diferentes tratamentos na dentina influenciam significativamente a resistência de união entre a dentina e a resina, os grupos AL, LAL com aplicação de Fosfato de cálcio e AL sem utilização de Fosfato de cálcio apresentaram os melhores resultados, superiores estatisticamente dos grupos restaurados apenas com Adesivo (com e sem aplicação do fosfato de cálcio);
- A permeabilidade não teve correlação com a resistência de união.

REFERÊNCIAS*

- 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. doi:10.2341/10-188-L Pubmed PMID: 22313266
- Almeida-Lopes L, Massini RJ. Laserterapia, conceitos e aplicações. NUPEM/DMC, São Carlos, 2002. [acesso 09 nov 2012]. Disponível em: http://www.nupen.com.br/Revista_port/index.htm
- Aranha AC, Domingues FB, Franco VO, Gutknecht N, Eduardo Cde P. Effects of Er:YAG and Nd:YAG lasers on dentin permeability in root surfaces: a preliminary in vitro study. *Photomed Laser Surg*. 2005 Oct;23(5):504-8. doi: 10.1089/pho.2005.23.504 Pubmed PMID: 16262582
- 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. doi: 10.1016/j.dental.2016.11.015 Pubmed PMID: 28007396
- 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. doi:10.1016/j.jdent.2016.05.004 Pubmed PMID: 27208874
- 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. doi:10.1177/0022034510387793 Pubmed PMID: 21084716
- 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. Pubmed PMID: 18551213
- 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. doi:10.1177/00220345550340060801 Pubmed PMID: 13271655
- Calabria M, Porfirio R, Fernandes S, Wang L, Buzalaf M, Pereira J, et al. Comparative in vitro effect of TiF4 to NaF and potassium oxalate on reduction of dentin hydraulic conductance. *Oper Dent*. 2014 Jul-Aug;39(4):427-32. doi:10.2341/13-156-L Pubmed PMID: 24111808
- Camps J, Pizant S, Dejou J, Franquin JC. Effects of desensitizing agents on human dentin permeability. *Am J Dent*. 1998 Dec;11(6):286-90. Pubmed PMID: 10477980

* Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [atualizado 04 nov 2015; acesso em 25 jun 2017]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Carvalho AO, Oliveira MT, Nikaido T, Tagami J, Giannini M. Effect of adhesive system and application strategy on reduction of dentin permeability. *Braz Oral Res.* 2012 Sep-Oct;26(5):397-403. Pubmed PMID: 22892877

Carvalho RM, Yoshiyama M, Pashley EL, Pashley DH. In vitro study on the dimensional changes of human dentine after demineralization. *Arch Oral Biol.* 1996 Apr;41(4):369-77. Pubmed PMID: 8771328

Castro FL, Andrade MF, Hebling J, Lizarelli RF. Nd:YAG laser irradiation of etched/unetched dentin through an uncured two-step etch-and-rinse adhesive and its effect on microtensile bond strength. *J Adhes Dent.* 2012 Apr;14(2):137-45. doi:10.3290/j.jad.a21854 Pubmed PMID: 21734971

Cherng AM, Chow LC, Takagi S. Reduction in dentin permeability using mildly supersaturated calcium phosphate solutions. *Arch Oral Biol.* 2004 Feb;49(2):91-8. Pubmed PMID: 14693202

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. doi:10.1016/j.archoralbio.2015.12.006 Pubmed PMID: 26752225

Cortiano FM, Rached RN, Mazur RF, Vieira S, Freire A, de Souza EM. Effect of desensitizing agents on the microtensile bond strength of two-step etch-and-rinse adhesives to dentin. *Eur J Oral Sci.* 2016 Jun;124(3):309-15. doi:10.1111/eos.12263 Pubmed PMID: 27038226

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. Pubmed PMID: 19466248

de Andrade e Silva SM, Marquezini Jr L, 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. Pubmed PMID: 18265707

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. doi:10.1089/pho.2004.22.527 Pubmed PMID: 15684756

Esteves SR, Huhtala MF, Gomes AP, Ye Q, Spencer P, De Paiva Goncalves SE. Longitudinal Effect of Surface Treatments Modified by NaOCl-Induced Deproteinization and Nd:YAG Laser on Dentin Permeability. *Photomed Laser Surg.* 2016 Feb;34(2):68-75. doi:10.1089/pho.2015.3977 Pubmed PMID: 26799835

Ferreira LS, Ferreira LS, Francci C, Navarro RS, Calheiros FC, Eduardo Cde P. Effects of Nd:YAG laser irradiation on the hybrid layer of different adhesive systems. *J Adhes Dent.* 2009 Apr;11(2):117-25. Pubmed PMID: 19492713

Gale MS, Darvell BW. Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations. *J Dent*. 1999 Feb;27(2):89-99. Pubmed PMID: 10071465

Ghiggi PC, Dall Agnol RJ, Burnett Jr LH, 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. doi:10.1089/pho.2009.2530 Pubmed PMID: 19795996

Gonçalves 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. Pubmed PMID: 11189979

Goodis HE, Marshall GW, Jr., White JM. The effects of storage after extraction of the teeth on human dentine permeability in vitro. *Arch Oral Biol*. 1991;36(8):561-6. Pubmed PMID: 1781745

Goodis HE, Marshall Jr GW, White JM, Gee L, Hornberger B, Marshall SJ. Storage effects on dentin permeability and shear bond strengths. *Dent Mater*. 1993 Mar;9(2):79-84. Pubmed PMID: 8595846

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. doi:10.1177/00220345810600030401 Pubmed PMID: 6937499

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. doi:10.1016/j.prosdent.2004.10.008 Pubmed PMID: 15623999

Gregoire G, Joniot S, Guignes P, Millas A. Dentin permeability: self-etching and one-bottle dentin bonding systems. *J Prosthet Dent*. 2003 Jul;90(1):42-9. doi:10.1016/S0022391303002580 Pubmed PMID: 12869973

Gwinnett AJ. Moist versus dry dentin: its effect on shear bond strength. *Am J Dent*. 1992 Jun;5(3):127-9. Pubmed PMID: 1388947

Hossain M, Nakamura Y, Kimura Y, Yamada Y, Kawanaka T, Matsumoto K. Effect of pulsed Nd:YAG laser irradiation on acid demineralization of enamel and dentin. *J Clin Laser Med Surg*. 2001 Apr;19(2):105-8. 10.1089/104454701750285421 Pubmed PMID: 11443789

Hsu PJ, Chen JH, Chuang FH, Roan RT. The combined occluding effects of fluoride-containing dentin desensitizer and Nd-Yag laser irradiation on human dentinal tubules: an in vitro study. *Kaohsiung J Med Sci*. 2006 Jan;22(1):24-9. doi:10.1016/S1607-551X(09)70216-5 Pubmed PMID: 16570565

Ishihata H, Kanehira M, Finger WJ, Takahashi H, Tomita M, Sasaki K. Effect of two desensitizing agents on dentin permeability in vitro. *J Appl Oral Sci*. 2017 Jan-Feb;25(1):34-41. doi:10.1590/1678-77572016-0228 Pubmed PMID: 28198974

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(3):171-6. doi:10.1002/lsm.10061 Pubmed PMID: 12224090

Jacobsen T, Soderholm KJ. Some effects of water on dentin bonding. *Dent Mater.* 1995 Mar;11(2):132-6. 10.1016/0109-5641(95)80048-4 Pubmed PMID: 8621034

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. doi:10.1016/j.joen.2009.04.004 Pubmed PMID: 19567317

Kobayashi CA, Fujishima A, Miyazaki T, Kimura Y, Matsumoto K, Osada T, et al. Effect of Nd:YAG laser irradiation on shear bond strength of glass-ionomer luting cement to dentin surface. *Int J Prosthodont.* 2003 Sep-Oct;16(5):493-8. Pubmed PMID: 14651233

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. Pubmed PMID: 12666757

Komabayashi T, Imai Y, Ahn C, Chow LC, Takagi S. Dentin permeability reduction by a sequential application of calcium and fluoride-phosphate solutions. *J Dent.* 2010 Sep;38(9):736-41. doi:10.1016/j.jdent.2010.05.019 Pubmed PMID: 20685375

Koutsi V, Noonan RG, Horner JA, Simpson MD, Matthews WG, Pashley DH. The effect of dentin depth on the permeability and ultrastructure of primary molars. *Pediatr Dent.* 1994 Jan-Feb;16(1):29-35. Pubmed PMID: 8015939

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. doi:10.1097/00004770-200403000-00001 Pubmed PMID: 15055427

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. Pubmed PMID: 11891746

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 Jun;27(6):389-93. doi:10.1097/00004770-200106000-00004 Pubmed PMID: 11487131

Liu HC, Lin CP, Lan WH. Sealing depth of Nd:YAG laser on human dentinal tubules. *J Endod.* 1997 Nov;23(11):691-3. doi:10.1016/S0099-2399(97)80403-7 Pubmed PMID: 9587310

Lodha E, Hamba H, Nakashima S, Sadr A, Nikaido T, Tagami J. Effect of different desensitizers on inhibition of bovine dentin demineralization: micro-computed tomography assessment. *Eur J Oral Sci.* 2014 Dec;122(6):404-10. doi:10.1111/eos.12155 Pubmed PMID: 25363830

Magalhaes AC, Rios D, Machado MA, Da Silva SM, Lizarelli Rde F, Bagnato VS, et al. Effect of Nd:YAG irradiation and fluoride application on dentine resistance to erosion in vitro. *Photomed Laser Surg.* 2008 Dec;26(6):559-63. doi:10.1089/pho.2007.2231 Pubmed PMID: 19025402

Marimoto AK, Cunha LA, Yui KC, Huhtala MF, Barcellos DC, Prakki A, et al. Influence of Nd:YAG laser on the bond strength of self-etching and conventional adhesive systems to dental hard tissues. *Oper Dent.* 2013 Jul-Aug;38(4):447-55. doi:10.2341/11-383-L Pubmed PMID: 23215546

Matos AB, Oliveira DC, Kuramoto Jr M, Eduardo CP, Matson E. Nd:YAG laser influence on sound dentin bond strength. *J Clin Laser Med Surg.* 1999;17(4):165-9. doi:10.1089/clm.1999.17.165 Pubmed PMID: 11199840

Matos AB, Oliveira DC, Navarro RS, de Eduardo CP, Matson E. Nd:YAG laser influence on tensile bond strength of self-etching adhesive systems. *J Clin Laser Med Surg.* 2000 Oct;18(5):253-7. doi:10.1089/clm.2000.18.253 Pubmed PMID: 11572240

Mazzoni A, Nascimento FD, Carrilho M, Tersariol I, Papa V, Tjaderhane L, et al. MMP activity in the hybrid layer detected with in situ zymography. *J Dent Res.* 2012 May;91(5):467-72. doi:10.1177/0022034512439210 Pubmed PMID: 22354448

Mjor IA. Dentin permeability: the basis for understanding pulp reactions and adhesive technology. *Braz Dent J.* 2009;20(1):3-16. Pubmed PMID: 19466224

Moriyama EH, Zangaro RA, Villaverde AB, Lobo PD, Munin E, Watanabe IS, et al. Dentin evaluation after Nd:YAG laser irradiation using short and long pulses. *J Clin Laser Med Surg.* 2004 Feb;22(1):43-50. doi:10.1089/104454704773660967 Pubmed PMID: 15117486

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. Pubmed PMID: 1322546

Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res.* 1982 May;16(3):265-73. doi:10.1002/jbm.820160307 Pubmed PMID: 7085687

Nakabayashi N, Nakamura M, Yasuda N. Hybrid layer as a dentin-bonding mechanism. *J Esthet Dent.* 1991 Jul-Aug;3(4):133-8. Pubmed PMID: 1817582

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. doi:10.1089/pho.2006.24.745 Pubmed PMID: 17199476

Oncu E, Karabekiroglu S, Unlu N. Effects of different desensitizers and lasers on dentine tubules: in-vitro analysis. *Microsc Res Tech.* 2017 Mar 02. doi:10.1002/jemt.22859 Pubmed PMID: 28251725

Ozok AR, Wu MK, De Gee AJ, Wesselink PR. Effect of dentin perfusion on the sealing ability and microtensile bond strengths of a total-etch versus an all-in-one adhesive. *Dent Mater.* 2004 Jun;20(5):479-86. doi:10.1016/j.dental.2003.07.004 Pubmed PMID: 15081555

Pashley DH. Dentin permeability, dentin sensitivity, and treatment through tubule occlusion. *J Endod.* 1986 Oct;12(10):465-74. doi:10.1016/S0099-2399(86)80201-1 Pubmed PMID: 3465852

Pashley DH, Andringa HJ, Derkson GD, Derkson ME, Kalathoor SR. Regional variability in the permeability of human dentine. *Arch Oral Biol.* 1987;32(7):519-23. Pubmed PMID: 3479091

Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent.* 1997 Sep;25(5):355-72. Pubmed PMID: 9241954

Pashley DH, Carvalho RM, Sano H, Nakajima M, Yoshiyama M, Shono Y, et al. The microtensile bond test: a review. *J Adhes Dent.* 1999 Winter;1(4):299-309. Pubmed PMID: 11725659

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. Pubmed PMID: 3866520

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. Pubmed PMID: 287430

Pashley DH, Michelich V, Kehl T. Dentin permeability: effects of smear layer removal. *J Prosthet Dent.* 1981 Nov;46(5):531-7. Pubmed PMID: 7028970

Pashley DH, O'Meara JA, Kepler EE, Galloway SE, Thompson SM, Stewart FP. Dentin permeability. Effects of desensitizing dentifrices in vitro. *J Periodontol.* 1984 Sep;55(9):522-5. doi:10.1902/jop.1984.55.9.522 Pubmed PMID: 6592326

Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjaderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, et al. State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater.* 2011 Jan;27(1):1-16. doi:10.1016/j.dental.2010.10.016 Pubmed PMID: 21112620

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 Mar;83(3):216-21. doi:10.1177/154405910408300306 Pubmed PMID: 14981122

Pei D, Liu S, Huang C, Du X, Yang H, Wang Y, et al. Effect of pretreatment with calcium-containing desensitizer on the dentine bonding of mild self-etch adhesives. *Eur J Oral Sci*. 2013 Jun;121(3 Pt 1):204-10. doi:10.1111/eos.12047 Pubmed PMID: 23659244

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. doi:10.1016/j.dental.2004.02.007 Pubmed PMID: 15681011

Reeder OW, Jr., Walton RE, Livingston MJ, Pashley DH. Dentin permeability: determinants of hydraulic conductance. *J Dent Res*. 1978 Feb;57(2):187-93. doi:10.1177/00220345780570020601 Pubmed PMID: 277512

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. doi:10.11607/prd.1096 Pubmed PMID: 23593631

Rohanizadeh R, LeGeros RZ, Fan D, Jean A, Daculsi G. Ultrastructural properties of laser-irradiated and heat-treated dentin. *J Dent Res*. 1999 Dec;78(12):1829-35. doi:10.1177/00220345990780121001 Pubmed PMID: 10598913

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. doi:10.1089/pho.2006.24.730 Pubmed PMID: 17199473

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. doi:10.1016/j.dental.2010.02.010 Pubmed PMID: 20304479

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. Pubmed PMID: 7664990

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. Pubmed PMID: 17262143

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. doi:10.1016/j.dental.2006.06.010 Pubmed PMID: 16904175

Schaller HG, Weihing T, Strub JR. Permeability of dentine after Nd:YAG laser treatment: an in vitro study. *J Oral Rehabil.* 1997 Apr;24(4):274-81. Pubmed PMID: 9147299

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. doi:10.1097/00004770-200101000-00007 Pubmed PMID: 11487159

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. doi:10.1007/s10103-015-1827-1 Pubmed PMID: 26510575

Simpson MD, Horner JA, Brewer PD, Eichmiller F, Pashley DH. Effects of aluminum oxalate/glycine pretreatment solutions on dentin permeability. *Am J Dent.* 1992 Dec;5(6):324-8. Pubmed PMID: 1304182

Spencer P, Wang Y. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions. *J Biomed Mater Res.* 2002 Dec 05;62(3):447-56. doi:10.1002/jbm.10364 Pubmed PMID: 12209931

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. Pubmed PMID: 2610613

Tanji EYS, S. C. G.; Eduardo, C. P. E. Mev De canais radiculares irradiados com Er:YAG e Nd:YAG laseres. 15ª Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Pesquisa Odontológica. 1998:p. 47. Pubmed PMID:

Tay FR, Frankenberger R, Krejci I, Bouillaguet S, Pashley DH, Carvalho RM, et al. Single-bottle adhesives behave as permeable membranes after polymerization. I. In vivo evidence. *J Dent.* 2004 Nov;32(8):611-21. doi:10.1016/j.jdent.2004.04.006 Pubmed PMID: 15476955

Tay FR, Gwinnett AJ, Wei SH. The overwet phenomenon: an optical, micromorphological study of surface moisture in the acid-conditioned, resin-dentin interface. *Am J Dent.* 1996 Feb;9(1):43-8. Pubmed PMID: 9002816

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 Oct;84(10):891-6. doi:10.1177/154405910508401004 Pubmed PMID: 16183786

Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Hiraishi N, Yiu CK. Water treeing in simplified dentin adhesives--deja vu? *Oper Dent.* 2005 Sep-Oct;30(5):561-79. Pubmed PMID: 16268390

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. doi:10.1002/jbm.b.32840 Pubmed PMID: 23166091

Thanatvarakorn O, Nakashima S, Sadr A, Prasansuttiorn T, Thitthaweerat S, Tagami J. Effect of a calcium-phosphate based desensitizer on dentin surface characteristics. *Dent Mater J*. 2013;32(4):615-21. Pubmed PMID: 23903644

Titley KC, Chernecky R, Rossouw PE, Kulkarni GV. The effect of various storage methods and media on shear-bond strengths of dental composite resin to bovine dentine. *Arch Oral Biol*. 1998 Apr;43(4):305-11. Pubmed PMID: 9839706

Tonami K, Takahashi H, Nishimura F. Effect of frozen storage and boiling on tensile strength of bovine dentin. *Dent Mater J*. 1996 Dec;15(2):205-11. Pubmed PMID: 9550019

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. doi:10.1002/sca.21309 Pubmed PMID: 27062025

Tung MS, Bowen HJ, Derkson GD, Pashley DH. Effects of calcium phosphate solutions on dentin permeability. *J Endod*. 1993 Aug;19(8):383-7. doi:10.1016/S0099-2399(06)81500-1 Pubmed PMID: 8263438

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 Oct;89(10):1045-50. doi:10.1177/0022034510375285 Pubmed PMID: 20631093

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. doi:10.1016/j.dental.2010.10.023 Pubmed PMID: 21109301

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. doi:10.1111/j.1365-2842.2007.01843.x Pubmed PMID: 18405276

Yazici E, Gurgan S, Gutknecht N, Imazato S. Effects of erbium:yttrium-aluminum-garnet and neodymium:yttrium-aluminum-garnet laser hypersensitivity treatment parameters on the bond strength of self-etch adhesives. *Lasers Med Sci*. 2010 Jul;25(4):511-6. doi:10.1007/s10103-009-0682-3 Pubmed PMID: 19475475

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 Dec;26(34):6863-72. doi:10.1016/j.biomaterials.2005.05.011 Pubmed PMID: 15964621

Zapletalova Z, Perina Jr J, 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. doi:10.1089/pho.2007.2085 Pubmed PMID: 18158751

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. doi:10.1371/journal.pone.0158400 Pubmed PMID: 27359118

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

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: SAO JOSE DOS CAMPOS

Telefone: (12)3947-9078

Fax: (12)3947-9010

E-mail: ceph@fosjc.unesp.br

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



Continuação do Parecer: 2.022.356

Teste de Tukey (= 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 stress 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% das 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.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@fosjc.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_PROJETO_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@fosjc.unesp.br