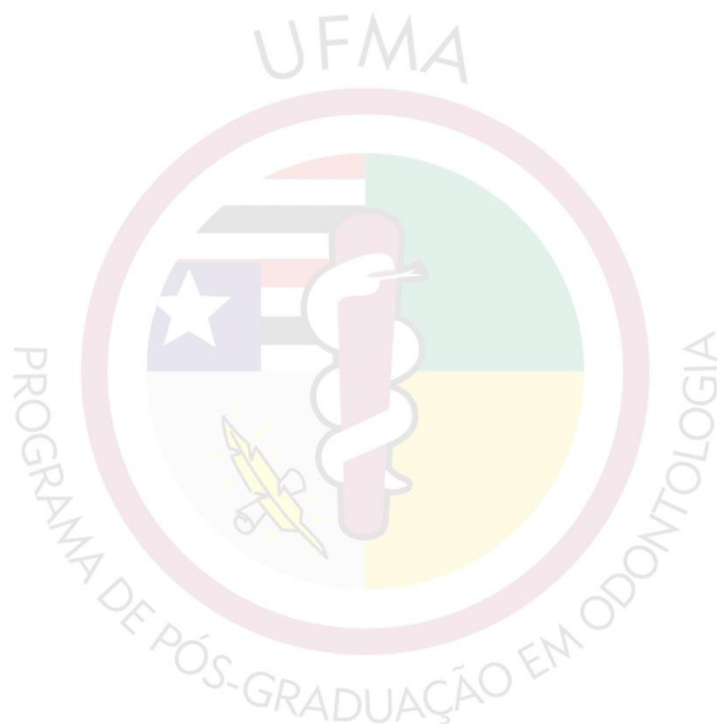




UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
CURSO DE MESTRADO



ANÁLISE DA PERMEABILIDADE DENTINÁRIA APÓS
IRRADIAÇÃO COM O LASER DE ND:YAG ASSOCIADO A
DIFERENTES BIOVIDROS E ADESIVO UNIVERSAL.



São Luís - MA
2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
CURSO DE MESTRADO

**ANÁLISE DA PERMEABILIDADE DENTINÁRIA APÓS
IRRADIAÇÃO COM O LASER DE ND:YAG ASSOCIADO
A DIFERENTES BIOVIDROS E ADESIVO UNIVERSAL.**

São Luís - MA
2016

KARLA JANILEE DE SOUZA PENHA

**ANÁLISE DA PERMEABILIDADE DENTINÁRIA APÓS IRRADIAÇÃO COM O
LASER DE Nd:YAG ASSOCIADO A ADESIVO UNIVERSAL E DIFERENTES
BIOVIDROS.**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Odontologia como
parte dos requisitos para a obtenção do
título de Mestre em Odontologia.

Orientador(a): Profa. Dra. Leily Macedo
Firoozmand

São Luís - MA
2016

Penha, Karla Janilee de Souza.

ANÁLISE DA PERMEABILIDADE DENTINÁRIA APÓS IRRADIAÇÃO
COM O LASER DE ND:YAG ASSOCIADO A DIFERENTES BIOVIDROS E
ADESIVO UNIVERSAL / Karla Janilee de Souza Penha. - 2016.
93 f.

Orientador(a): Leily Macedo Firoozmand.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Odontologia/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São
Luís-MA, 2016.

1. Adesivos dentinários. 2. Biovidros. 3. Lasers. 4.
Permeabilidade dentinária. I. Firoozmand, Leily Macedo.
II. Título.

BANCA EXAMINADORA

KARLA JANILEE DE SOUZA PENHA

ANÁLISE DA PERMEABILIDADE DENTINÁRIA APÓS IRRADIAÇÃO COM O LASER DE ND:YAG ASSOCIADO A DIFERENTES BIOVIDROS E ADESIVO UNIVERSAL.

A Comissão julgadora da Defesa do Trabalho Final de Mestrado em Odontologia, em sessão pública realizada no dia / / , considerou a candidato(a).

() APROVADO

() REPROVADO

1) Examinador: Prof Dr. José Roberto de Oliveira Bauer

2) Examinador: Prof. Dr. Rudys Rodolfo de Jesus Tavares

3) Presidente (Orientador): Profa. Dra. Leily Macedo Firoozmand

“O sucesso nasce do querer. Sempre que o homem aplicar a determinação e a persistência para um objetivo, ele vencerá os obstáculos, e se não atingir o alvo, pelo menos fará coisas admiráveis” (José de Alencar).

DEDICATÓRIA

A Deus, “O Senhor é meu pastor e nada me faltará” - Salmo 23 (1)

A quem devemos não só a existência, mas também tudo que alcançamos em nossas vidas. Sem a Sua presença não seria possível ter encontrado inspiração, ter vencido as dificuldades do caminho e galgado mais este degrau. Meu imenso respeito e gratidão por mais esta conquista.

Aos meus pais: Antônio e Janice, que com muito amor e dedicação possibilitaram a minha formação pessoal e profissional, sempre me encorajando nas horas mais difíceis. A vocês todo meu amor, respeito e principalmente, eterna gratidão por contribuírem tanto para concretização dos meus sonhos. Compartilho inteiramente com vocês, mais esta vitória. Amo vocês!

Aos meus irmãos: Janine e Eduardo, pelo amor e pelo carinho dedicado a mim, pelo companheirismo em cada etapa da minha vida, pelo apoio oferecido para que eu realmente fosse em busca dos meus sonhos, encontrando minhas vitórias.

Ao meu amado sobrinho Heitor, por você ser o tesouro mais precioso da minha vida, sempre só me trazendo alegria e bons momentos.

A minha vó Guiomar (em memória), por sempre ter compartilhado comigo todos os melhores momentos da minha vida, guardo sempre em meu coração. Saudades eternas.

A minha orientadora querida profa. Dra. Leily M. Firoozmand, por me orientar com tanta dedicação e paciência. Pelos conhecimentos transmitidos não apenas científicos, como de vida. Pelo incentivo constante e colaboração para o meu desenvolvimento profissional. Sempre disposta a ajudar em tudo e de coração aberto para receber todos os meus anseios. Meu agradecimento, respeito, carinho e eterna admiração.

Ao prof. Dr. José Roberto O. Bauer, por sempre estar pronto a ajudar e ensinar, não medindo esforços para o desenvolvimento científico e por ascender em mim a chama da busca pela ciência e possibilitar a realização deste trabalho. Muito obrigada!

Ao prof. Dr. Carlos R. G. Torres, pelo seu carinho em me acolher na UNESP-SJC, sempre disposto a aconselhar, apoiar e ajudar. Por ser para mim um exemplo de pessoa, de professor e de profissional, que felizmente eu tive o privilégio de conhecer, durante minha trajetória acadêmica. Minha admiração, respeito e gratidão.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão - UFMA, pela oportunidade de realizar minha Pós-Graduação.

À CAPES pelo incentivo a pesquisa e inovação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão (FAPEMA) pelo apoio financeiro.

À Faculdade de Odontologia da Universidade Paulista Júlio de Mesquita Filho UNESP-SJC, São José dos Campos, na figura do prof Dr, Carlos Torres por viabilizar a execução deste trabalho.

Aos Prof. Dr. Darlon Martins, Profa. Dra. Cecília Ribeiro e Profa. Dra. Cláudia Alves pelo constante estímulo ao programa de Pós-Graduação da UFMA.

Ao Prof. Dr. José Roberto Bauer por ter ajudado no desenvolvimento e disponibilização dos principais materiais utilizados neste estudo, além das constantes e incansáveis contribuições.

À grande amiga Fábiana Regina Roma, pelo imenso incentivo e paciência em ter transmitido conhecimentos científicos e de vida, meu eterno e sincero obrigada.

A amiga Ana Diniz, por compartilhar os momentos acadêmicos.

Ao Wallyson, pelo seu carinho, paciência e principalmente pelas horas de muita ajuda e companheirismo.

À Érica Crastechini, por ter ajudado nas etapas mais difíceis de realização deste trabalho.

Aos Professores do curso de Pós-Graduação e Graduação, em especial a Profa Dra. Meire Coelho por ter desde início me oportunizado conhecer o mundo da pesquisa.

Às secretárias e demais funcionários do programa de pós-graduação em Odontologia UFMA.

Aos amigos do programa de pós-graduação pelo respeito e pela agradável convivência.

RESUMO

A busca por materiais que diminuam a permeabilidade dentinária (P), tem-se tornado cada vez mais relevante devido a crescente prevalência de hipersensibilidade dentinária (HSD). O uso de biovidros pode ser uma alternativa eficaz em decorrência da bioatividade, assim como os adesivos universais, que podem ter seus efeitos otimizados quando associados ao laser de Nd:YAG, porém sua aplicação clínica carece de maiores estudos. No capítulo I objetivou-se verificar *in vitro* a influência do uso do laser Nd:YAG (L) associado à dois biovidros (45S5-Sílica-Si e NbG - Niobofosfato). Foram confeccionados 50 discos de dentina bovina com 6 mm de diâmetro e 1 mm de espessura. A (P) foi medida em 4 momentos: com a presença da *smear layer*, abertura máxima dos túbulos, após o tratamento e seguido do desafio erosivo com o auxílio do aparelho de permeabilidade (modelo câmara dividida-ODEME). Os espécimes foram randomicamente distribuídos em 5 grupos experimentais (n=10), de acordo com o tratamento realizado: (L) nos parâmetros 60mJ, 10 Hz, 0,6 W e 80mJ, 10 Hz, 0,8 W associado ao biovidro de Si (Si60 e Si80), biovidro de NbG, (NbG60 e NbG80) e Controle (C). Alguns espécimes foram selecionados para microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectrometria dispersiva de raio-x (EDS). Foram obtidas as variações percentuais da (P) após os diferentes tratamentos e erosão, por meio do teste Kruskal Wallis com post hoc de Dunn ($p>0.05$). Verificou-se que os grupos com Si apresentaram maior diminuição de (P). O 45S5 apresentou uma maior diminuição dos valores de (P) comparado aos grupos tratados com NbG, Si80 ($26,12\pm8,16$) - Si60 ($42,20\pm9,39$) > NbG80 ($46,28\pm9,39$) > NbG60 ($74,63\pm9,68$). Os tratamentos mostram-se resistentes à erosão quando comparados ao grupo (C). A análise do MEV e EDS comprovaram a formação de uma camada bioativa e todos os grupos, se mostraram resistentes ao desafio erosivo. NbG e 45S5 quando associados ao Nd:YAG (60/80mJ), apresentaram significativa redução da (P), visto que o biovidro 45S5 pareceu promover maior redução da (P) em relação ao NbG. No capítulo II objetivou verificar *in vitro*, por meio da (CH), a influência da associação do Adesivo universal (3M ESPE) ao (L) para a diminuição da (P). 40 discos de dentina foram confeccionados e a (P) medida da mesma forma do estudo anterior. As amostras foram randomicamente distribuídas em 4 grupos experimentais (n=10), de acordo com o tratamento realizado: A60 – Adesivo + Nd:YAG (60mJ,10Hz,0,6W), A80 – Adesivo + Nd:YAG (80mJ,10Hz,0,8 W) AU – Apenas adesivo e C–Controle (sem tratamento) e depois submetidas ao desafio erosivo. Algumas amostras foram preparadas para avaliação em (MEV) e (EDS). Os testes Kruskal Wallis e post hoc de Dunn ($p>0.05$) demonstraram que não houve diferença estatística entre os grupos AU, A60 e A80. Após desafio erosivo todos os tratamentos se mostraram resistentes. O uso do sistema adesivo Universal sobre a dentina, bem como a sua associação ao laser Nd:YAG (60 e 80mJ), apresentaram semelhante redução da permeabilidade dentinária e resistência ao desafio erosivo.

Palavras-chaves: Sensibilidade da dentina; Permeabilidade da dentina; Lasers; Adesivos dentinários; Biovidros.

ABSTRACT

The search for materials that decrease dentin permeability (P), has become increasingly relevant due to the increasing prevalence of dentin hypersensitivity (HSD). The use of bio-glasses may be an effective alternative due to bioactivity, as well as the universal adhesives, which may have their optimized effects when associated with Nd: YAG laser, but its clinical application lacks further studies. In Chapter I, the influence of the Nd: YAG (L) laser associated to the two bioglasses (45S5-Silica-Si and NbG-Niobophosphate) investigated was in vitro. Fifty discs of bovine dentin with 6 mm diameter and 1 mm thickness made.were A (P) measured was in 4 moments: with the presence of the smear layer, maximum opening of the tubules, after the treatment and followed by the erosive challenge with the aid of the permeability apparatus (divided chamber model-ODEME). The specimens were randomly distributed in 5 experimental groups (n = 10), according to the treatment performed: (L) in the parameters 60mJ, 10 Hz, 0,6 W and 80mJ, 10 Hz, 0,8 W associated to the bioglass of Si (Si60 and Si80), NbG bioglass, (NbG60 and NbG80) and Control (C). Some specimens selected were for scanning electron microscopy (SEM) and dispersive x-ray spectrometry (EDS). The percentage variations of (P) after the different treatments and erosion obtained were by Kruskal Wallis test with Dunn post hoc test ($p > 0.05$). It found was that the groups with Si showed a greater decrease of (P). The 45S5 showed a greater decrease of (P) values compared to the groups treated with NbG, Si80 (26.12 ± 8.16) - Si60 (42.20 ± 9.39)> NbG80 (46.28 ± 9.39)> NbG60 (74.63 ± 9.68). Treatments are resistant to erosion when compared to group (C). The SEM and EDS analysis proved the formation of a bioactive layer and all the groups showed resistance to the erosive challenge. NbG and 45S5 when associated to Nd: YAG (60 / 80mJ), showed a significant reduction of (P), since the 45S5 bioglass seemed to promote a greater reduction of (P) in relation to NbG. In Chapter II, the influence of Universal Adhesion (3M ESPE) to (L) for the decrease of (P) was investigated in vitro. 40 dentin disks were made and (P) measured in the same way as the previous study. A60 - Adhesive + Nd: YAG (60mJ, 10Hz, 0.6W), A80 - Adhesive + Nd: YAG (80mJ, 10Hz) were randomly distributed in 4 experimental groups (n = 10) , 0.8 W) AU - Adhesive only and C-Control (without treatment) and then submitted to the erosive challenge. Some samples were prepared for evaluation in (SEM) and (EDS). Kruskal Wallis and Dunn's post hoc tests ($p > 0.05$) showed that there was no statistical difference between the AU, A60 and A80 groups. After erosive challenge, all treatments were resistant. The use of the Universal adhesive system on the dentin, as well as its association with Nd: YAG laser (60 and 80mJ), presented similar reduction of dentin permeability and resistance to erosive challenge.

Keywords: dentin sensitivity; Permeability of dentin; Lasers; Adhesives; Bioglass.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

Figura 1: Esquema de funcionamento da máquina de permeabilidade.....	25
Figura 2: Distribuição dos grupos experimentais.....	26
Figura 3: Fluxograma das mensurações de permeabilidade de cada amostra.....	29
Figura 4: Gráfico Box-plot com mediana, Diferenças entre a permeabilidade após tratamento e desafio erosivo (E) dos grupos experimentais.....	31
Figura 5: Imagens em MEV das superfícies do grupo controle (1000x); A -(C) controle sem nenhum tratamento (após 24h em saliva artificial), B (C-Erosão) após desafio erosivo.....	32
Figura 6: Imagens em MEV das superfícies tratadas com o biovidro Niobofosfato e laser Nd:YAG (1000x); A -(NbG60) associado ao laser com 60 mJ, (após 24h) B (NbG60-Erosão) associado ao laser com 60 mJ (após desafio erosivo), C (NbG80) associado ao laser com 80 mJ, (após 24h) e D (NbG80-Erosão). associado ao laser com 80 mJ, (após desafio erosivo).....	33
Figura 7: Imagens em MEV das superfícies tratadas com o biovidro 45S5 e laser Nd:YAG (1000x); A -(Si60) associado ao laser com 60 mJ, (após 24h) B (Si60-Erosão) associado ao laser com 60 mJ (após desafio erosivo), C (SiG80) associado ao laser com 80 mJ, (após 24h) e (Si-Erosão). associado ao laser com 80 mJ, (após desafio).....	34
Figura 8: EDS do grupo controle (C) após 24hs em saliva artificial.....	35
Figura 9: EDS após 24hs do tratamento com Biovidro de niobofosfato + Laser de Nd:YAG: A - com 60 mJ (NbG60) e B - com 80 mJ (NbG80).....	36
Figura 10: EDS após 24hs do tratamento com Biovidro 45S5 + Laser de Nd:YAG: A - com 60 mJ (Si60) e B - com 80 mJ (Si80).....	37

CAPÍTULO II

Figura 1: Esquema de funcionamento da máquina de permeabilidade.....	50
Figura 2: Distribuição dos grupos experimentais.....	51
Figura 3: Fluxograma das mensurações de permeabilidade de cada amostra.....	52
Figura 4: Gráfico Box-plot com mediana, diferenças entre a permeabilidade após tratamento e desafio erosivo (e) dos grupos experimentais.....	55
Figura 5: Imagens em MEV das superfícies do grupo controle (3000x); A -(C) controle sem nenhum tratamento (após 24h em saliva artificial), B (C-Erosão) após desafio erosivo.....	56
Figura 6: Imagens em MEV das superfícies tratadas com adesivo universal e laser Nd:YAG no parâmetro de 60mJ (3000x). A (A60) – após 24hs do tratamento e B (A60-Erosão) – após desafio erosivo.....	56
Figura 7: Imagens em MEV das superfícies tratadas com adesivo universal e laser Nd:YAG no parâmetro de 60mJ (3000x). A (A60)–após 24hs do tratamento e B(A60-Erosão)- após desafio erosivo	56
Figura 8: Imagens em MEV das superfícies tratadas apenas com adesivo universal (3000x). A (AU) – após 24hs do tratamento e B (AU-Erosão) – após desafio erosivo.....	57
Figura 9: EDS após 24hs do tratamento com Biovidro de niobofosfato + Laser de Nd:YAG: A - com 60 mJ (A60) e B – com 80 mJ (A80).....	58
Figura 10: EDS após desafio erosivo do tratamento apenas com Adesivo Universal e Grupo controle (C) : A – Adesivo Universal (AU - Erosão) e B – Controle (C - Erosão).....	59

LISTA DE QUADROS E TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1 - Tipos de material, composição e modo de aplicação na superfície dentinária.....	26
---	----

CAPÍTULO II

Tabela 1 - Material usado nos grupos experimentais.....	51
--	----

LISTA DE ABREVIações, SIGLAS E SÍMBOLOS

AU= Adesivo Universal

A60 = Adesivo associado ao laser com 60 mJ

A80 = Adesivo associado ao laser com 80 mJ

°C = Grau Celsius

C = Controle

Ca = Cálcio

cm = Centímetros

CP = Constante de proporcionalidade

dl = Deslocamento linear

DP = Desvio padrão

h = Hora

H₂O = Água

HSD = Hipersensibilidade dentinária

Hz = Hertz

HSD = Hipersensibilidade dentinária

NbG60 = Laser com 60 mJ associado ao biovidro de niobofosfato

NbG80= Laser com 60 mJ associado ao biovidro de niobofosfato

Ni = Nióbio

Si = Sílica

Si60 = Laser com 60 mJ associado ao biovidro de sílica (45S5)

Si80 = Laser com 80 mJ associado ao biovidro de sílica (45S5)

LASER = Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation

Lp = Condutância hidráulica

M = Metro

MEV = Microscopia eletrônica de varredura

µm = micrometro

µL = microlitro

Min = Minuto

mJ = Milijoule

mm = Milímetro

MDP = metacriloiloxidecil dihidrogeno fosfato

Nd:YAG = Neodymium Yttrium Aluminum Garnet

P = Pressão

pH = potencial hidrogeniônico

Pacid = permeabilidade após desafio erosivo

Pmax = permeabilidade máxima

Pmin = permeabilidade mínima

Ptrat = permeabilidade após realização do tratamento

Psi = pound per square inch

Q = Taxa de filtração

seg = segundos

VL = Volume do capilar

W = Watt

SUMÁRIO

RESUMO.....	10
ABSTRACT	11
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	12
LISTA DE QUADROS E TABELAS.....	14
LISTA DE ABREVIACÕES, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	15
INTRODUÇÃO GERAL	17
CAPÍTULO I	19
RESUMO.....	20
1 INTRODUÇÃO.....	22
2 MATERIAL E MÉTODOS	23
3 RESULTADOS	30
4 DISCUSSÃO.....	38
5 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS.....	40
CAPÍTULO II	49
RESUMO.....	50
1 INTRODUÇÃO.....	52
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	54
3 RESULTADOS.....	59
4 DISCUSSÃO.....	65
5 CONCLUSÃO.....	69
REFERÊNCIAS.....	69
REFERÊNCIAS GERAIS.....	74
APÊNDICES	77
ANEXOS.....	105

INTRODUÇÃO GERAL

A exposição dentinária, oriunda da perda de esmalte de origem não bacteriana é consequência de várias alterações bucais que desafiam a prática clínica odontológica¹. Estas condições em muitos casos estão associadas a hipersensibilidade dentinária (HSD), que afeta cerca de 13% a 98% dos indivíduos².

A presença de túbulos dentinários abertos eleva os valores de permeabilidade dentinária e consequentemente a estimulação nervosa, acarretando respostas dolorosas. Devido ao contato da dentina exposta com o meio bucal e sua vulnerabilidade a estímulos táteis, térmicos ou químicos², o fluido no interior dos túbulos dentinários se movimenta, caracterizando a HSD.

Em decorrência destes aspectos, a maior parte dos tratamentos para HSD são voltados para a obliteração dos túbulos dentinários³, dentre as terapêuticas sugeridas, a aplicação de: sistemas adesivos, vernizes fluoretados, materiais resinosos^{4,5} e laser Nd:YAG⁶.

O mecanismo de ação dos adesivos baseia-se na formação de uma camada semi-permeável, aplicada sob a superfície dentinária⁷, dentre os sistemas adesivos comercializados, destaca-se os convencionais (*total etch*) e autocondicionantes (*self etch*). O primeiro, encontra-se em dois ou três passos, o que exige maior tempo clínico para seu uso, já os autocondicionantes possuem menor sensibilidade técnica, maior rapidez de aplicação e praticidade. Existem ainda adesivos, recentemente incorporados no comércio, que contêm a fase hidrofílica e hidrofóbica em frasco único⁸ chamados de “*Multi-purpose*”, “*Multimode*” ou “*Universal*”⁹. Apresentam maior interação química com a dentina, pela presença do 10-MDP (metacriloiloxidecil dihidrogeno fosfato), este material resinoso pode apresentar-se como uma alternativa apropriada para a redução da permeabilidade dentinária.

A literatura também relata que materiais bioativos podem apresentar-se como alternativas promissoras para a obliteração dentinária^{10,11}. Desde que foi desenvolvido por Hench (1988)²¹ e introduzido na Odontologia como um material favorável à reparação óssea, o vidro bioativo é alvo de várias investigações. Diversas pesquisas foram conduzidas para obter-se biovidros mais estáveis no meio bucal^{12,13,14}. Estes materiais promovem a deposição de

hidroxiapatita na superfície da dentina e liberam substâncias biocompatíveis, capazes de proliferar células e formar uma camada protetora dentinária¹⁵. São representados comercialmente pelo 45S5 Bioglass ® (US Biomaterials Corp., Jacksonville, FL, EUA) e Novamin ® (Denshield, Tecnologia, FL). Com a crescente busca pelo desenvolvimento de materiais cada vez mais bioativos, surgiu o biovidro de niobofosfato (NbG), “biovidro experimental” que possui o pentóxido de nióbio (Nb₂O₅), capaz de mineralizar tecidos circundantes de forma eficaz¹³, além de estimular o aumento da fosfatase alcalina que eleva a quantidade de íons de Nb e intensifica sua bioatividade.

Diferentes estudos tem analisado o efeito da irradiação do laser sobre a dentina^{16,17}, principalmente os de alta potência como o Nd:YAG (*Neodymium: yttrium – aluminum – garnet*) que possibilitam a formação de uma camada de dentina derretida “*melting*”, formada pelo aumento da temperatura e responsável pela obliteração dos túbulos dentinários¹⁸.

A vasta diversidade de agentes obliterantes acessíveis, torna complexa a escolha pelo profissional do mais adequado a ser usado. Com a crescente investigação de materiais capazes de interagirem com a dentina, os biovidros^{19,20,21} e os adesivos universais merecem destaque.

Apesar de verificar na literatura estudos que avaliaram a permeabilidade dentinária após diversos tratamentos para oclusão dos túbulos^{6,17,22}, escassos trabalhos verificam a eficácia do tratamento para HSD por meio de sistemas adesivos e biovidros associados ao laser de Nd:YAG.

Deste modo, o objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro*, por meio da condutância hidráulica, a influência da aplicação de dois diferentes biovidros e o sistema adesivo universal associados a diferentes parâmetros do laser Nd:YAG para o selamento dentinário, antes e após o desafio erosivo.

CAPITULO I *

EFEITO DA ASSOCIAÇÃO DE BIOVIDROS A DIFERENTES PARÂMETROS DE IRRADIAÇÃO DO LASER Nd:YAG NA PERMEABILIDADE DENTINÁRIA.

EFFECT OF ASSOCIATION OF BIOGLASS TO DIFERENTT Nd: YAG LASER PARAMETERS IN DENTIN PERMEABILITY.

Karla Janilee de Souza Penha^a, Carlos Rocha Gomes Torres^b, José Roberto Oliveira Bauer^c, Leily Macedo Firoozmand^c

^a Aluna do Mestrado em Odontologia da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, São Luís, Maranhão, Brasil.

^b Professor Adjunto do Departamento de Dentística Restauradora da UNESP-ICT-SJC, São José dos Campos, São Paulo. Brasil

^c Professor(a) Adjunta do Departamento de Odontologia I da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, São Luís, Maranhão, Brasil

Autor correspondente:

Karla Janilee de Souza Penha

Endereço: Rua Oklahoma, casa 21, quadra 08, Central Parque I, Araçagy.

CEP: 65068-565 – São Luís – MA

Telefone para contato: +55(98)981530875

karlajanilee@gmail.com

*Artigo normatizado de acordo com as normas do periódico *American Journal of Dentistry*.

RESUMO

EFEITO DA ASSOCIAÇÃO DE BIOVIDROS A DIFERENTES PARÂMETROS DE IRRADIAÇÃO DO LASER Nd:YAG NA PERMEABILIDADE DENTINÁRIA.

Objetivo: verificar *in vitro*, por meio da condutância hidráulica (CH), a influência da associação dos biovidros 45S5 (Si) e Niobofosfato (NbG) ao laser Nd:YAG a 60mJ e 80mJ para redução da permeabilidade dentinária (P). **Método:** Foram confeccionados 50 discos de dentina bovina com 6mm de diâmetro e 1mm de espessura. A (P) foi medida com o auxílio do aparelho de (CH) (modelo câmara dividida-ODEME) em 4 momentos: presença da *smear layer*, abertura máxima, após o tratamento e desafio ácido. As amostras foram randomicamente distribuídas em 5 grupos experimentais (n=10), de acordo com o tratamento realizado: NBG60-NbG+Nd:YAG (60mJ,10Hz,0,6W); NBG80-NbG+Nd:YAG (80mJ,10 Hz,0,8W), Si60-45S5+Nd:YAG (60mJ,10Hz,0,6W); Si80-45S5+Nd:YAG (80mJ,10 Hz,0,8W) e Controle (C). Em seguida as amostras foram submetidas ao desafio erosivo. Algumas amostras foram preparadas para visualização em microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Espectrometria de energia dispersiva de raios-x (EDS). **Resultados:** Os testes de Kruskal Wallis e post hoc de Dunn ($p>0.05$) indicaram diferença estatística significativa entre os valores médios de (P), visto que o 45S5 apresentou uma maior diminuição dos valores de (P) comparado aos grupos tratados com NbG, Si80 ($26,12\pm 8,16$) - Si60 ($42,20\pm 9,39$) > NbG80 ($46,28\pm 9,39$) > NbG60 ($74,63\pm 9,68$). A análise do MEV e EDS comprovaram a formação de uma camada bioativa e todos os grupos, se mostraram resistentes ao desafio erosivo. **Conclusão:** Os biovidros (NbG e 45S5) quando associados ao Nd:YAG (60/80mJ), apresentaram significativa redução da (P), visto que o biovidro 45S5 pareceu promover maior redução da (P) em relação ao NbG .

Descritores: Sensibilidade da dentina; Permeabilidade da dentina; Lasers.

Significância clínica: Este estudo permitiu verificar associação de técnicas e materiais bioativos capazes de estimular a deposição de partículas sobre a dentina e promover a diminuição da permeabilidade dentinária. A formação desta camada bioativa sobre a dentina é de extrema relevância clínica para a obtenção de um promissor tratamento conservador para a HSD.

ABSTRACT

EFFECT OF ASSOCIATION OF BIOGLASS TO DIFFERENT Nd: YAG LASER PARAMETERS IN DENTIN PERMEABILITY.

Objective: to verify in vitro, through the hydraulic conductance (CH), the influence of the association of 45S5 (Si) and Niobophosphate (NbG) bioglass on the Nd: YAG laser at 60mJ and 80mJ for reducing dentin permeability (P). Method: Fifty discs of bovine dentin with 6mm diameter and 1mm thickness made were. A (P) measured was with the aid of the (CH) (divided chamber model-ODEME) apparatus in 4 moments: presence of smear layer, maximum aperture, after treatment and acid challenge. NBG60-NbG + Nd: YAG (60mJ, 10Hz, 0.6W) were randomly distributed in 5 experimental groups (n = 10); NBG80-NbG + Nd: YAG (80mJ, 10Hz, 0.8W), Si60-45S5 + Nd: YAG (60mJ, 10Hz, 0.6W); Si80-45S5 + Nd: YAG (80mJ, 10Hz, 0.8W) and Control (C). Then the samples submitted were to erosive challenge. Some samples were prepared for visualization in scanning electron microscopy (SEM) and X-ray dispersive energy spectrometry (EDS). Results: The Kruskal Wallis and post hoc Dunn tests ($p > 0.05$) indicated a statistically significant difference between the mean values of (P), since the 45S5 presented a greater decrease of the values of (P) compared to the groups treated with NbG, Si80 (26.12 ± 8.16) - Si60 (42.20 ± 9.39) > NbG80 (46.28 ± 9.39) > NbG60 (74.63 ± 9.68). The analysis of SEM and EDS proved the formation of a bioactive layer that all the groups showed to be resistant to the erosive challenge. Conclusion: The bioglass (NbG and 45S5) when associated to Nd: YAG (60 / 80mJ), showed a significant reduction of (P), since the 45S5 bioglass seemed to promote a greater reduction of (P) in relation to NbG.

Key words: dentin sensitivity; Permeability of dentin; Lasers.

Clinical significance: The possibility of development of materials and application techniques capable of stimulating the formation of enamel lost due to oral erosive and abrasive processes is very important for the safest and most effective treatment of HSD.

TÍTULO: Efeito da associação de biovidros a diferentes parâmetros de irradiação do *laser* Nd:YAG na permeabilidade dentinária.

1 INTRODUÇÃO

O aumento da expectativa de vida da população somado ao de crescimento da incidência de lesões de cárie e ao avanço tecnológico da Odontologia, tem favorecido a permanência dos dentes na cavidade bucal por mais tempo.¹ Tal fato acarreta à exposição dos dentes a constantes desafios ácidos e mecânicos que podem ocasionar a perda de esmalte com exposição dentinária².

A ocorrência da hipersensibilidade dentinária (HSD) pode ser resultado da movimentação do fluido no interior dos túbulos dentinários, como proposto por Brännström³, e, tem-se tornado cada vez mais frequente na clínica. Afeta cerca de 14% a 98% da população adulta⁴, tornando-se um problema de saúde pública.

O uso de materiais bioativos apresenta-se como opção promissora para o tratamento da HSD, com ênfase para os biovidros^{5,6,7}. O 45S5 Bioglass® (US Biomaterials Corp., Jacksonville, FL, EUA) cuja composição básica é cálcio/sódio fostato e silicatos tem sido amplamente difundido. Baseado em óxido de sílica (SiO₂)⁹ que é capaz de estimular a deposição de hidroxiapatita na superfície da dentina devido a liberação de íons de sílica (Si) para o meio¹⁰. Recentemente percebeu-se que a substituição da Si pelo nióbio (Ni) garante uma melhor estabilidade química dos vidros, otimizando sua biocompatibilidade à dentina resultando no “biovidro experimental de niobofosfato” (NbG)¹¹ que possibilita a formação de apatita pela deposição de um composto de cálcio amorfo transformando-se em hidroxiapatita³⁷, permitindo a cristalização e mineralização da dentina hipersensível.

Outra opção para a HSD é uso do *laser*^{1,12} em destaque para o de alta potência Nd:YAG (*Neodymium: yttrium–aluminum–garnet*) que produz expressiva obliteração dos túbulos devido ao derretimento “melting” e recristalização da dentina exposta^{13,14,15}. Esta camada juntamente com a associação de um biovidro poderia ser uma opção promissora de tratamento para HSD.

Relatos sobre a influência do Nd:YAG associados à materiais bioativos são escassos e poucos estudos mostram os resultados desta interação para tratamentos da HSD^{9,10}. O NbG, por ser um biovidro experimental, com características bioativas promissoras e merece maiores investigações acerca da sua associação com o *laser*. Sabendo que o aumento da densidade de energia promove maior alteração dentinária^{9,38}, destaca-se a necessidade do estudo da influência, de diferentes parâmetros de irradiação associados a este material, na permeabilidade dentinária.

A HSD tem-se dado pelo consumo frequente de alimentos e bebidas ácidas, bem como pela elevada prevalência na população de distúrbios alimentares, tais como anorexia e bulimia^{17,41}. Assim, torna-se importante avaliar o comportamento da terapêutica proposta frente a esses desafios erosivos.

Diante da relevância destas associações para o tratamento da HSD o objetivo deste estudo é comparar *in vitro* o efeito do uso de diferentes biovidros (45S5 e NbG) associados a parâmetros de irradiação do laser Nd:YAG (60mJ/80mJ) na permeabilidade dentinária, antes e após o desafio erosivo. As hipóteses nulas testadas são a de que; (1) os diferentes parâmetros de irradiação (60mJ/80mJ) associados aos biovidros (NbG e 45S5) não alteram a permeabilidade dentinária, e (2) o desafio erosivo não promove alteração na permeabilidade dentinária dos grupos tratados.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Cálculo Amostral

Após a execução do teste piloto, o tamanho da amostra foi calculado adotando-se alfa igual a 5%, poder de teste do Kruskal Wallis 80%. Adotou-se um tamanho (n) de 10 elementos dentais para cada grupo experimental (SPSS 11. NCSS, LLC, Kaysville, Utah, USA).

2.2 Confeção dos espécimes

Foram selecionados 50 incisivos bovinos recém extraídos, de animais com idades entre 2 e 4 anos. Foram limpos e armazenados em água destilada

até o momento do preparo dos espécimes de dentina, período este que não ultrapassou 6 meses.

Os dentes foram seccionados transversalmente, abaixo da junção cimento-esmalte para remoção das raízes, utilizando um disco diamantado (Dremel, Racine, Madison, Wisconsin, EUA), acoplado a um torno de alta rotação (Nevoni, São Paulo, SP, BR). As coroas dentais foram fixadas em uma base metálica posicionadora que possibilitou o corte de amostras circulares de esmalte e dentina da superfície vestibular, utilizando uma broca trefina com 6 mm de diâmetro interno acoplado à máquina (Micro Mill, Washington, EUA) de corte.¹⁸

Posteriormente, os espécimes foram posicionados em um dispositivo metálico para determinação da profundidade, onde a face pulpar permaneceu alinhada à parte externa do dispositivo. O conjunto foi posicionado para desgaste em uma politriz circular (DP-10, Panambra, São Paulo, SP, BR), com lixa P600 (Fepa P, Extec Corp., Enfield, Connecticut, EUA) sob refrigeração. Em seguida foi realizada a identificação do lado pulpar com um risco. Posteriormente, os espécimes foram posicionados no dispositivo ajustado com a profundidade de 1,1 mm com a face de esmalte voltada para a superfície externa. O conjunto foi levado para politriz circular para a realização dos desgastes do esmalte com lixa P600. Foram obtidos discos de dentina com 1mm de espessura e apropriada lisura superficial, com lixa P2400 e refrigeração por 30 seg¹⁸.

2.3 Permeabilidade dentinária inicial ou permeabilidade mínima (Pmin)

Mensuração da permeabilidade inicial foi realizada com a presença da *smear layer* do lado vestibular. Assim, após o desgaste do lado pulpar com lixa P1200 por 30 seg sob constante refrigeração na politriz circular¹⁸, a superfície vestibular foi protegida e foi aplicada a solução de ácido cítrico a 0,3% por 30 seg apenas sobre a superfície pulpar a fim de permitir a abertura dos túbulos dentinários do lado pulpar. O ácido cítrico foi escolhido pelo fato de ter promovido maior similaridade com a dentina sensível em estudo piloto realizado previamente ao início da fase experimental e também por ser a substância erosiva mais frequentemente encontrada nas dietas alimentares atuais.

Com o auxílio do aparelho, modelo câmara dividida, TDH 03 (ODEME Equipamentos Médicos e Odontológicos Ltda, Joaçaba, SC, Brasil) (Figura 1) foi realizada a leitura da condutância hidráulica inicial e a primeira leitura de permeabilidade dentinária.

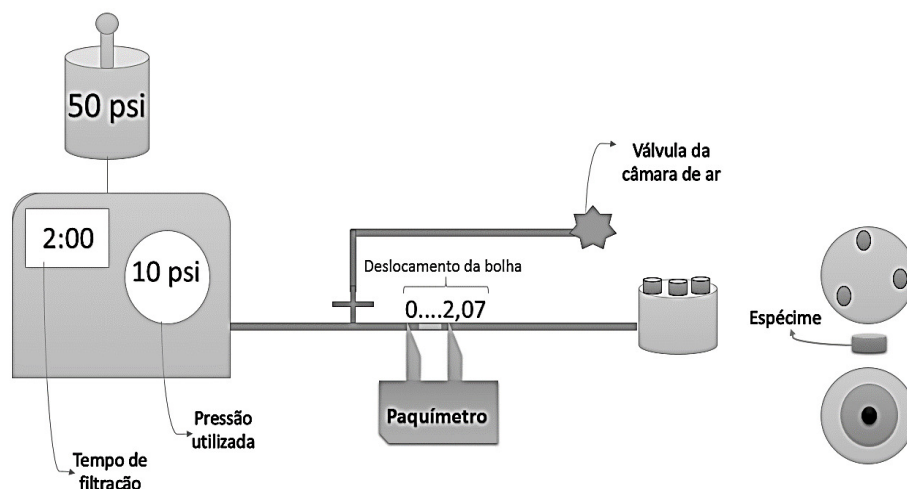


Figura 1: Esquema de funcionamento da máquina de permeabilidade

2.4 Permeabilidade máxima (Pmax)

Para simular a abertura total dos túbulos dentinários, a *smear layer* das superfícies dentinárias externas, voltadas para o esmalte, foi removida usando ácido cítrico a 0,3% por 30 seg.¹⁹. Após a abertura dos túbulos da superfície vestibular, foi realizada a segunda leitura da permeabilidade dentinária em cada espécime por meio do aparelho de permeabilidade, modelo câmara dividida. Assim, foi obtido o valor da condutância hidráulica máxima para cada amostra, representando a abertura total dos túbulos dentinários.

2.5 Randomização e disposição dos espécimes

Após a leitura da Pmax dos espécimes, tais foram organizados em ordem crescente de permeabilidade e randomizados entre os grupos, contrabalanceando os espécimes dentro dos grupos experimentais. Considerando-se, que a permeabilidade é muito variável, pois os diâmetros dos túbulos dentinários variam de acordo com o dente e o extrato dentinário analisado. Os espécimes foram divididos de forma estratificada em 5 grupos

experimentais (n=10) de modo que os grupos tivessem médias semelhantes de permeabilidade.

2.6 Distribuição dos grupos experimentais:

Após a randomização, os grupos experimentais foram formados de acordo com o tratamento realizado (Figura 2).

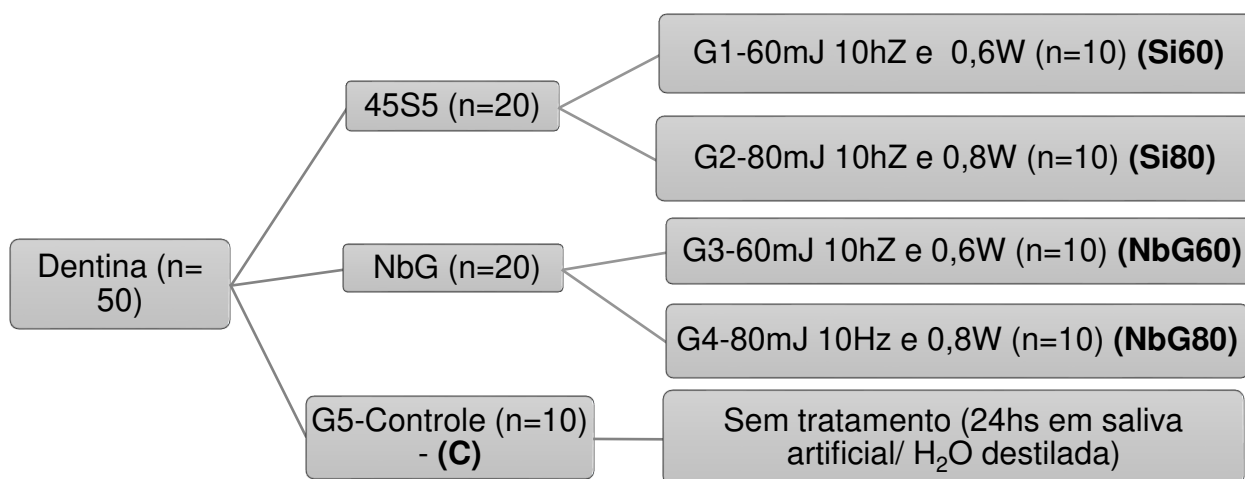


Figura 2: Distribuição dos grupos experimentais.

Tabela 1 – Tipos de material, composição e modo de aplicação na superfície dentinária.

MATERIAL	COMPOSIÇÃO	MODO DE APLICAÇÃO	
		BIOVIDRO	LASER Nd:YAG
Biovidro de Niobofosfato	Nb ₂ O ₅ : 41.8% P ₂ O ₅ : 32.5% CaO: 18.8% Al ₂ O ₃ : 2.7% Na ₂ O: 1.2%	1. Secagem da superfície com papel absorvente	4. 60mJ,10Hz,0,6W em contato com varredura da superfície tratada com a suspensão por 40s
		2. Suspensão: 0,02 g de pó + 10μL de H ₂ O destilada	4. 80mJ, 10 Hz, 0,8 W em contato com varredura da superfície tratada com a suspensão por 40s
Biovidro 45S5 – Sílica	SiO ₂ : 45% CaO: 24.4% Na ₂ O: 24.6% P ₂ O ₅ : 6%	3. Aplicação da suspensão com microbrush: na face vestibular do disco de dentina forma ativa por 20s	4. 60mJ,10Hz, 0,6W em contato com varredura da superfície tratada com a suspensão por 40s
		3. Aplicação da suspensão com microbrush: na face vestibular do disco de dentina forma ativa por 20s	4. 80mJ, 10 Hz, 0,8 W em contato com varredura da superfície tratada com a suspensão por 40s

2.7 Obtenção e forma de aplicação dos biovidros

Foram utilizados dois tipos de vidros bioativos: um comercial, Bioglass 45S5 Syla (OSsray Ltda, Londres, Reino Unido) e um experimental, Niobofosfato (NbG), conforme descritos na Tabela 1. O biovidro de Niobofosfato foi obtido por meio da fusão de misturas de hidróxido de amônia di-básico (PA-Casa Americana, São Paulo, SP, Brasil), óxido de nióbio (PA – Companhia Brasileira de Mineração e Metalurgia, Araxá, MG, Brasil), óxido de cálcio (PA-Casa Americana, São Paulo, SP, Brasil) e carbonato de sódio (PA- Casa Americana, São Paulo, SP, Brasil) em fornos elétricos.

Após a pesagem, os compostos químicos foram misturados a seco com um misturador tipo túrbula por 1h. Em seguida, a mistura foi colocada em um cadinho de alumina e aquecida em forno elétrico (Lindberg, Blue M, I1, Estados Unidos). A taxa de aquecimento foi 10°C/min até atingir a temperatura de 500°C, mantendo-a constante por 30 min em ar para eliminação de produtos voláteis. A temperatura foi então elevada a 1400°C para a completa fusão dos precursores, permanecendo nesta temperatura por 20 min para homogeneização e afinagem, procedimento realizado para eliminação de bolhas provenientes da decomposição dos materiais precursores.

O líquido formado foi vertido em molde de aço inoxidável e resfriado à temperatura ambiente. Após o resfriamento completo, o vidro foi moído em sistema de moagem com bola de aço (Pulverisette, Fritsch, Alemanha) durante 2h. Amostras do pó foram submetidas à análise de espectroscopia de raio-X de energia dispersiva (EDX-720, Shimadzu, Tóquio, Japão) para verificar a composição do material e análise de granulometria via laser (CilasModel, 1064, Compagnie Industrielle des Lasers, Orleans, França). A separação dessas partículas foi realizada pela passagem do pó por peneiras de análise granulométrica (Tamis) de tela metálica com auxílio de um agitador (Bertel, São Paulo, Brasil).

Os dois vidros bioativos foram aplicados na superfície vestibular dos discos de dentina na forma de suspensão (0,02g de pó + 10µL água destilada) com auxílio de micro-aplicador (KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil) por 20 segundos ativamente.

2.8 Irradiação com *laser* de Nd:YAG

As superfícies dos espécimes foram irradiadas com *laser* de Nd:YAG (*Neodymium: Yttrium-Aluminium- Garnet*), utilizando o aparelho Pulse Master 600 IQ (American Dental Technologies, Austin, Texas, EUA), emitindo um comprimento de onda de 1064nm. A fibra óptica de 400 µm foi utilizada para a aplicação do laser após a aplicação dos biovidros. Foi executada uma varredura da superfície, em quatro direções espaçadas de 45° (vertical, horizontal e duas transversais), por 40s com a fibra óptica posicionada perpendicularmente à superfície de dentina, para promover uma irradiação homogênea.

2.9 Cálculo da densidade de energia (DE)

Foram utilizados os seguintes parâmetros na fibra ótica de quartzo com diâmetro de 400 µm.

- 60 mJ de energia por pulso e 10 Hz (ou 10 pps) de frequência e 0,6W de potência
- 80 mJ de energia por pulso e 10 Hz (ou 10 pps) de frequência e 0,8W de potência

A densidade de energia (**DE**) foi obtida pela seguinte fórmula: **DE = E/Área**

E = energia/pulso (em J), **Área** = da fibra ótica (obtida pelo diâmetro do feixe, expressa em cm²). Resultando nas seguintes DEs: para 80 mJ (63,69 J/cm²) e 60 mJ (47,77 J/cm²).

2.10 Desafio erosivo

Após o tratamento das amostras, foi realizado o desafio erosivo, 24hs após a leitura de permeabilidade^{22,39}, por meio de quatro ciclos (des-mineralizantes) executados diariamente durante cinco dias. Sendo cada ciclo constituído pela imersão dos espécimes em solução de ácido cítrico na concentração de 0,3%, com pH natural de 2,3 durante 2 minutos e posteriormente a imersão dos mesmos em saliva artificial (pH=7) durante 1h. Ao final do desafio ácido as amostras foram armazenadas em *ependorfs* identificados contendo água ultrapura e mantidos em estufa a 37±1°C por 24h.

2.11 Cálculo da permeabilidade em % após cada momento (P%)

Foram realizados 4 momentos de leitura da permeabilidade para cada amostra (1º com a presença da *smear layer* ou permeabilidade mínima, 2º com permeabilidade máxima, 3º 24hs após a realização do tratamento, 4º após o desafio erosivo) foi calculada proporcionalmente como um percentual relacionado à condutância hidráulica máxima, obtida após a abertura dos túbulos (permeabilidade máxima), a qual foi considerada uma permeabilidade de 100%^{18, 23, 24}. A seguinte fórmula foi utilizada: $P\% = \frac{(L_p \cdot 100)}{L_{pMax}}$

P% = Percentual de permeabilidade em relação ao valor máximo; **L** = Condutância hidráulica em cada momento

LPmin = com a presença de *smear layer*; **LPmax** = após abertura máxima dos túbulos; **LPtrat** = após o tratamento; **LPacid** = após o desafio erosivo); **LPmax** = condutância hidráulica máxima com os túbulos abertos. Assim calculou-se um **p%** para cada amostra (Figura 3).

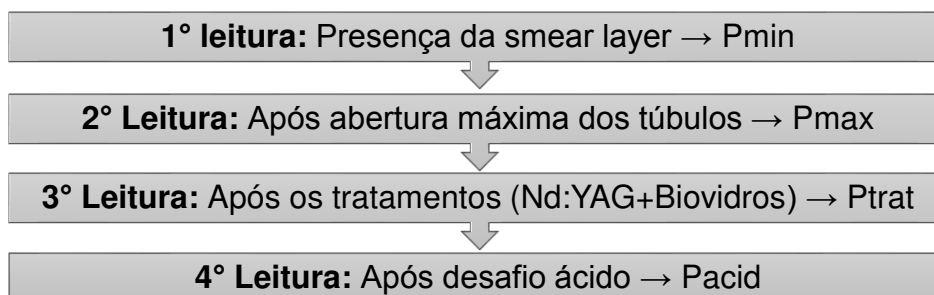


Figura 3: Fluxograma das mensurações de permeabilidade de cada amostra.

2.12 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectrometria de Energia Dispersiva de raios-x (EDS)

Para fins ilustrativos das diferentes irradiações e tratamentos foram selecionados, após os tratamentos e desafio erosivo. As amostras foram desidratadas em campânula vítrea de sílica durante 10 dias. Após essa etapa, os espécimes foram montados em *stubs* de alumínio com auxílio de fita adesiva de carbono (Koch, Instrum Cient, São Paulo - SP, BR) e metalizados com ouro-paládio pelo processo de sputter, por meio de um aparelho Desk II (Denton

Vacuum, Moorestown, New Jersey, EUA) por 2 min que serviu de anteparo aos elétrons a fim de permitir a captação das imagens.

Após este procedimento, os espécimes foram observados em MEV para observação morfo-estrutural e EDS para análise química superficial. A primeira análise a captação das imagens foi realizada por meio de um *software* específico acoplado ao microscópio eletrônico de varredura (JMS 5310 – Jeol Brasil Instrumentos Científicos Ltda. – SP, BR), empregando aumento de 3000 e 1000 vezes, permitindo a obtenção das fotomicrografias.

As análises demonstrativas em EDS foram realizadas no MEV empregando o software Esprit 1.9 Bruker (Schwarzschildstr, Berlin, Alemanha), foram consideradas para esta análise as áreas onde foram previamente realizadas as imagens. Para a obtenção dos elementos, foram atingidos espectros (Real time) por 100 segundos, a voltagem utilizada 25kv, em uma distância de 20mm e magnitude de 3000x

2.13 Análise estatística

Foram calculados os valores médios e os desvios padrão da variação do percentual de permeabilidade (P%) para cada variável analisada. A distribuição dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro Wilk. Os testes estatísticos de Kruskal Wallis e post hoc de Dunn foram empregados para identificar as diferenças estatísticas e comparar os tratamentos realizados. O nível de significância adotado foi de 5%. O programa estatístico utilizado foi SPSS 21.0 (IBM, Armonk, NY, USA).

3 RESULTADOS

3.1 Avaliação da permeabilidade dentinária

Os valores médios da variação do percentual de permeabilidade dentinária P% após o tratamento e desafio erosivo para os diferentes grupos avaliados estão representados na Figura 3.

O teste de Kruskal Wallis demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados ($p < 0,05$), sendo que em relação ao grupo C, todos os grupos experimentais tratados apresentaram expressiva diminuição

na permeabilidade dentinária. Avaliando os valores médios das dentinas tratadas com os dados de *smear layer*, foi verificado que todos os tratamentos promoveram redução da permeabilidade aproximadamente duas vezes maior em relação, à dentina apenas com *smear layer*.

O biovidro 45S5 tanto com a aplicação do Nd:YAG a 60mJ, bem como a 80mJ apresentou maior redução da permeabilidade quando comparados ao NbG (Figura 4). O emprego de diferentes energias do Nd:YAG (60mJ e 80mJ) para 45S5 não promoveram diferença estatística entre os grupos Si60 e Si80 (Figura 4: Si60_T e Si80_T).

O NbG apresentou valores estatisticamente diferentes de condutância hidráulica entre os grupos NbG60 e NbG80. A associação do NbG com Nd:YAG a 80mJ promoveu menor passagem do fluido de perfusão quando comparado ao a 60mJ (Figura 4: NbG60_T e NbG80_T).

Não foi verificada diferença estatística significativa entre os grupos após o desafio erosivo e o tratamento realizado em cada grupo (Figura 4).

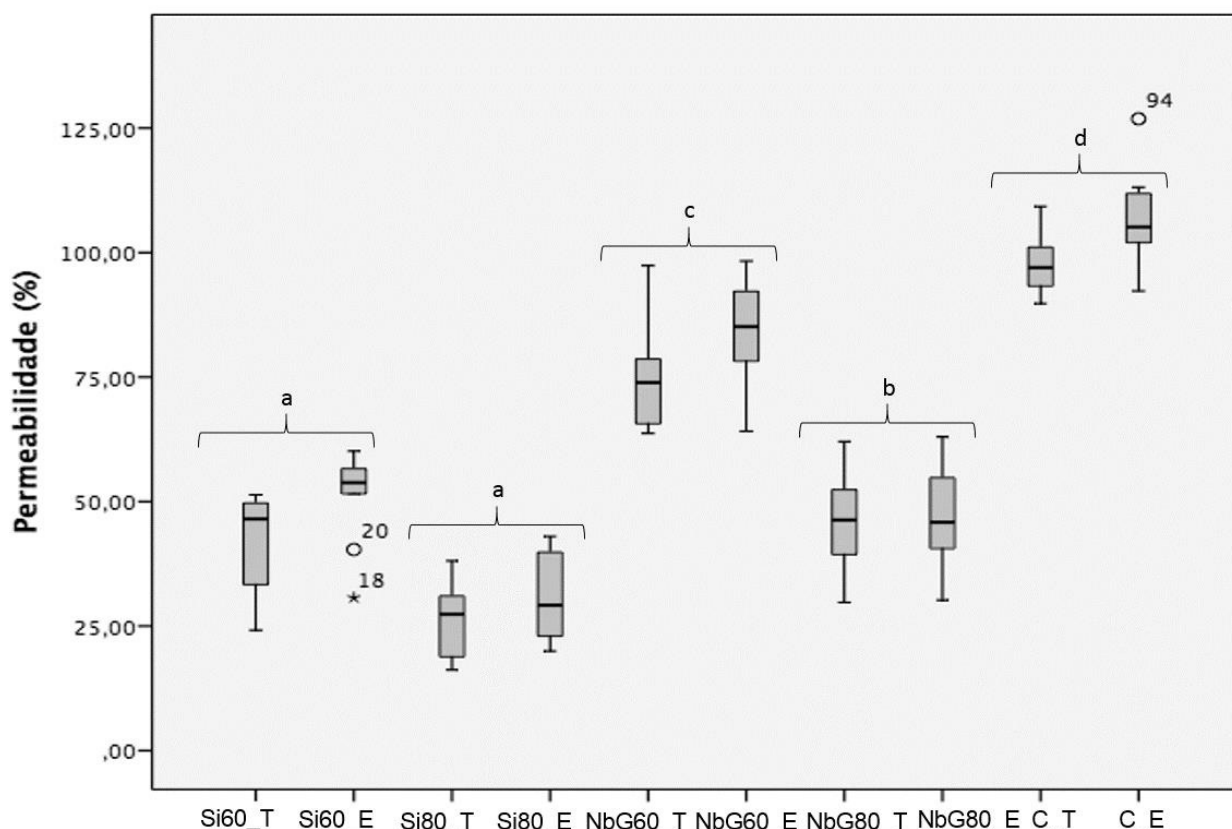


Figura 4: Mediana, intervalo interquartil, mínimo e máximo de permeabilidade após tratamento (T) e desafio erosivo (E) dos grupos experimentais estudados.

3.2 Visualização em MEV e EDS

Imagens foram realizadas empregando o aumento de 1000x, a fim de ilustrar as condições da superfície dentinária após os tratamentos realizados e após serem submetidos ao desafio erosivo. As imagens dos diferentes grupos experimentais demonstram alterações na superfície do grupo controle (Figura 5) dos grupos tratados (Figuras 6 e 7).

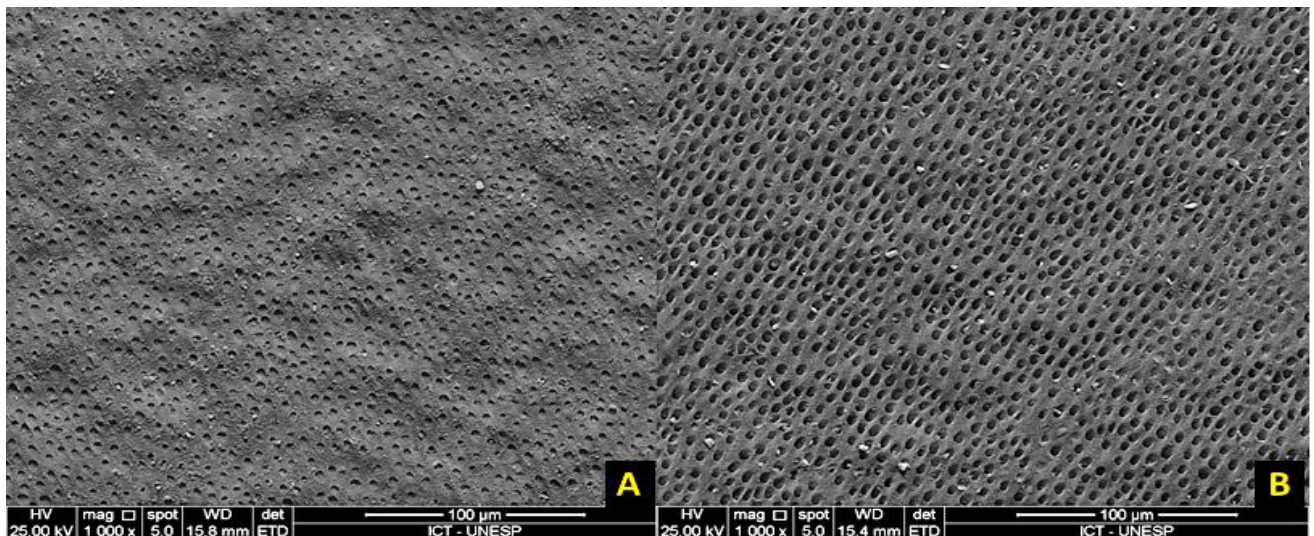
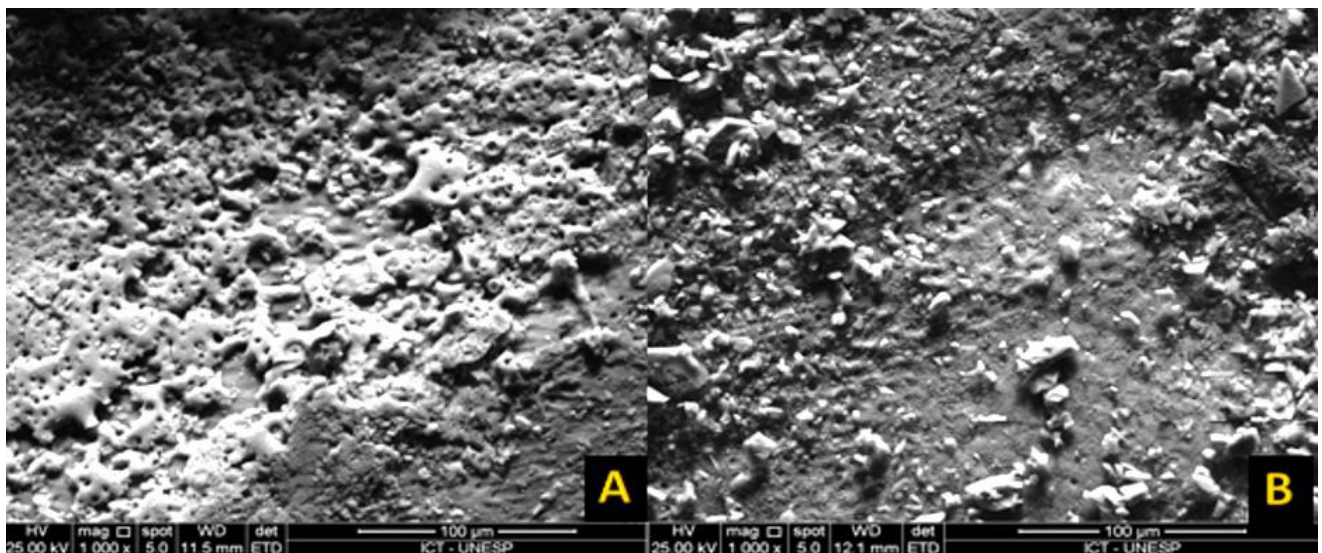


Figura 5: Superfícies do grupo controle (1000x); **A**-(C) Controle sem nenhum tratamento (após 24h em saliva artificial), **B** (C-Erosão) Após desafio erosivo.



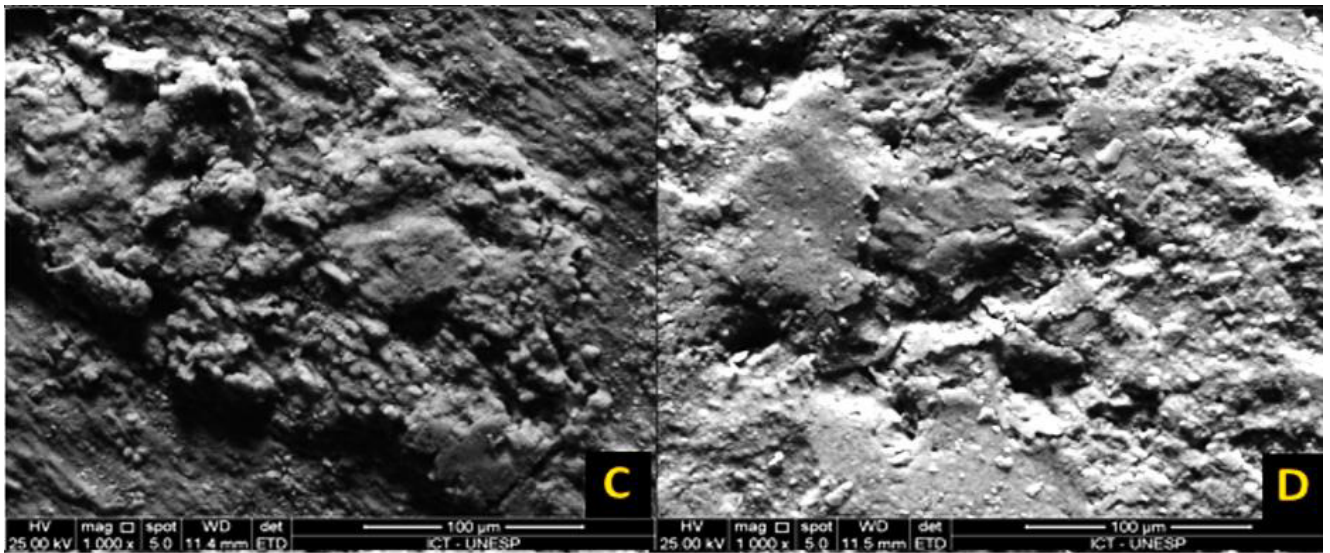
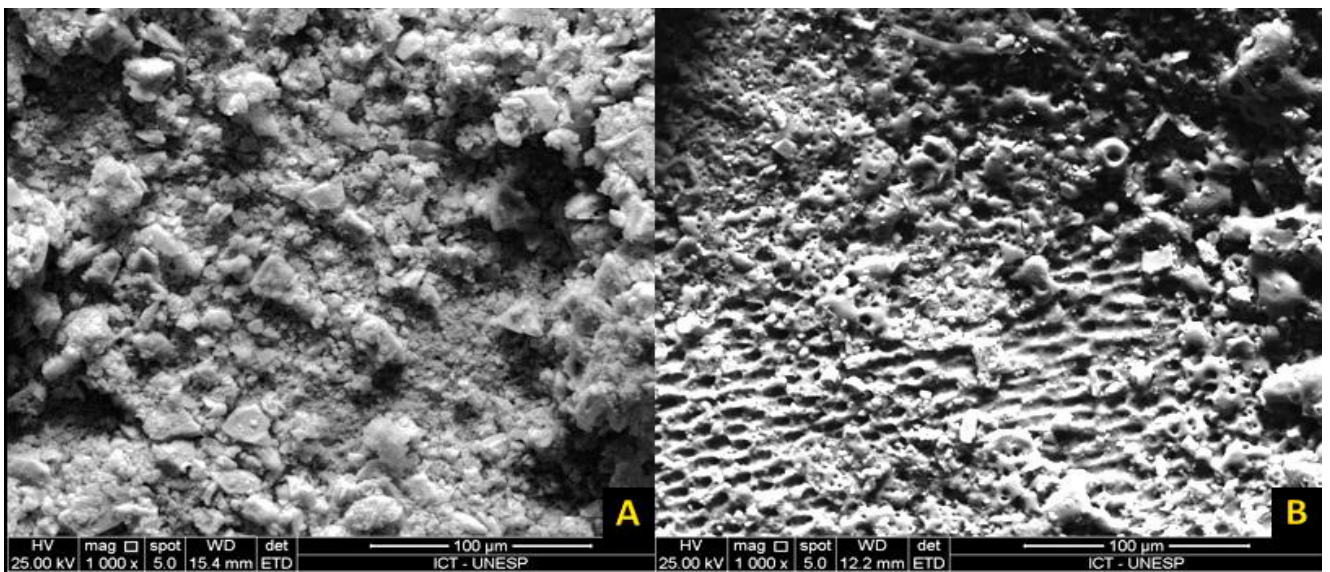


Figura 6: Superfícies tratadas com o biovidro Niobofosfato e laser Nd:YAG (1000x); **A**-(NbG60) associado ao laser com 60 mJ, (após 24h) **B** (NbG60-Erosão) associado ao laser com 60 mJ (após desafio erosivo), **C** (NbG80) associado ao laser com 80 mJ, (após 24h) e **D** (NbG80-Erosão) associado ao laser com 80 mJ, (após desafio erosivo).



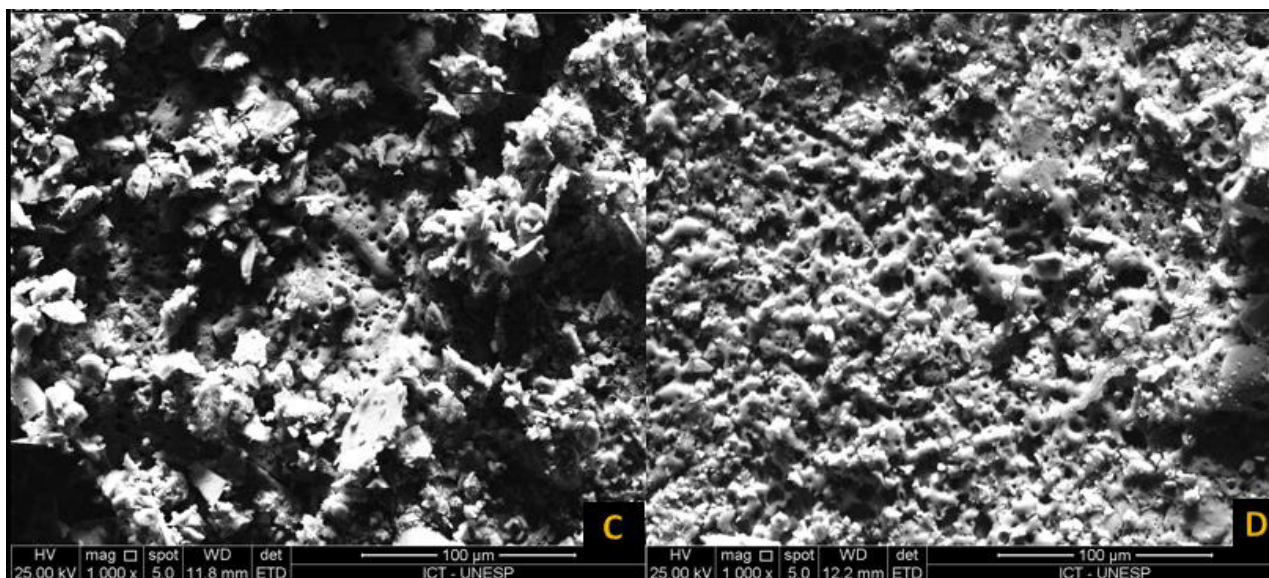


Figura 7: Superfícies tratadas com o biovidro 45S5 e laser Nd:YAG (1000x); **A**-(Si60) associado ao laser com 60 mJ, (após 24h) **B** (Si60-Erosão) associado ao laser com 60 mJ (após desafio erosivo), **C** (SiG80) associado ao laser com 80 mJ, (após 24h) e (Si-Erosão) associado ao laser com 80 mJ, (após desafio erosivo).

As imagens obtidas por MEV ilustram que todos os biovidros aplicados sobre a superfície da dentina apresentaram uma camada provavelmente fundida após a aplicação do Nd:YAG (Figura 6 e 7) e permanência desta camada após desafio erosivo quando comparados ao grupo C (Figura 5).

O grupo Si80 apresentou maior deposição de partículas com diversos tamanhos sob a superfície dentinária (Figura 7C), demonstrando ser uma associação eficaz para a redução da permeabilidade. Característica esta percebida também quando este mesmo biovidro foi associado ao Nd:YAG com 60 mJ (Si60) (Figura 7A).

Já a superfície da dentina onde foi realizada a aplicação do laser Nd:YAG (80mJ) associado ao NbG apresentou uma camada irregular com a presença de partículas mais dispersas obliterando os túbulos dentinários (Figura 6C). Quando associado ao parâmetro 60mJ a camada formada sobre a dentina pareceu mais porosa ocupando toda extensão da abertura tubular (Figura 6A).

Todos os tratamentos mostram-se resistentes ao desafio erosivo quando comparados ao grupo (C) (Figura 5B), onde pode-se observar a significativa permanência de partículas especialmente no grupo Si80 (Figura 7D), seguido dos grupos Si60 (Figura 7B) > NbG80 (Figura 6D) > NbG60 (Figura 6B).

Os achados obtidos pela MEV corroboram com os valores de permeabilidade dentinária encontrados (Figura 4).

O EDS permitiu observar a composição das estruturas mineralizadas sobre a dentina. Os valores obtidos foram projetados em gráficos que representaram a contagem dos elementos químicos, os picos representam as emissões de energias características dos elementos retidos sobre a superfície dos espécimes, demonstrando a presença do material bioativo 45S5 ou NbG. (Figura 8, 9 e 10).

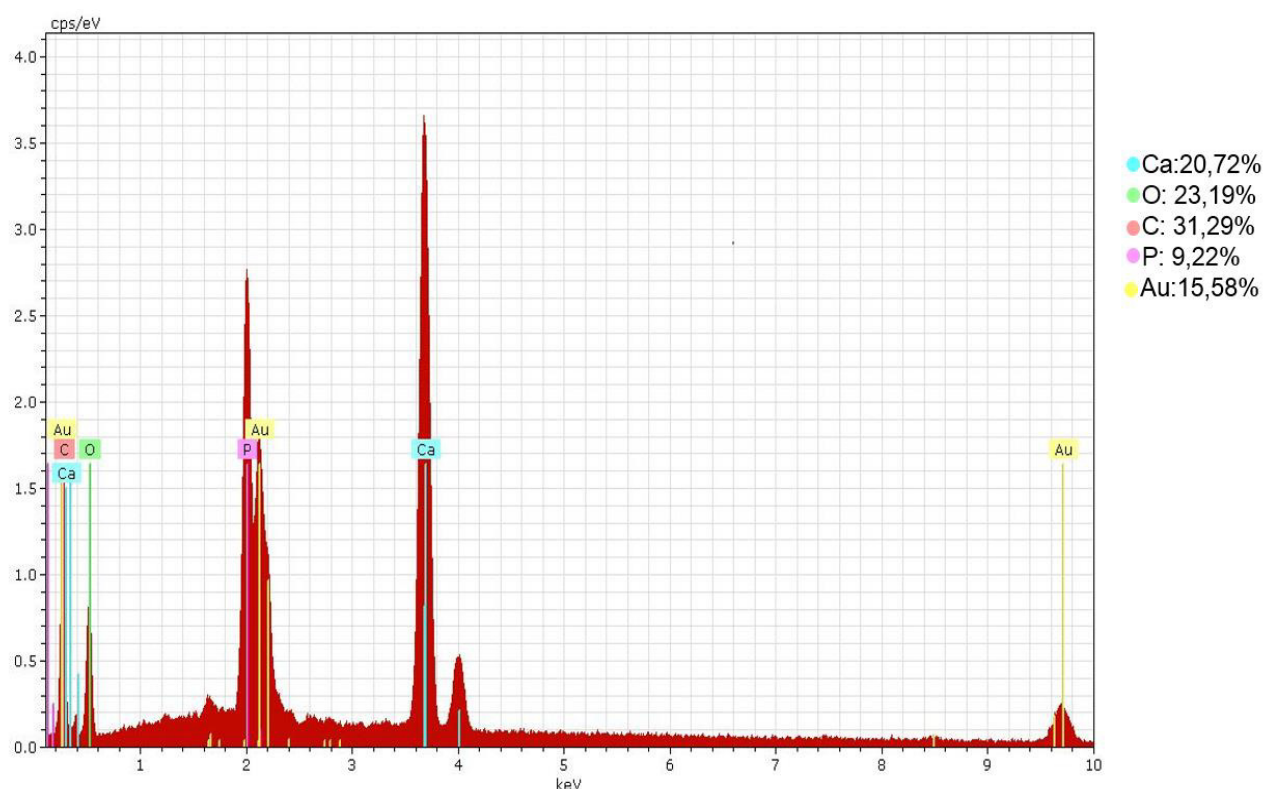


Figura 8: EDS do grupo controle (C) após 24hs em saliva artificial

Após 24 horas, nas amostras de dentina armazenadas em saliva artificial observa-se um predomínio de Ca e P (Figura 8).

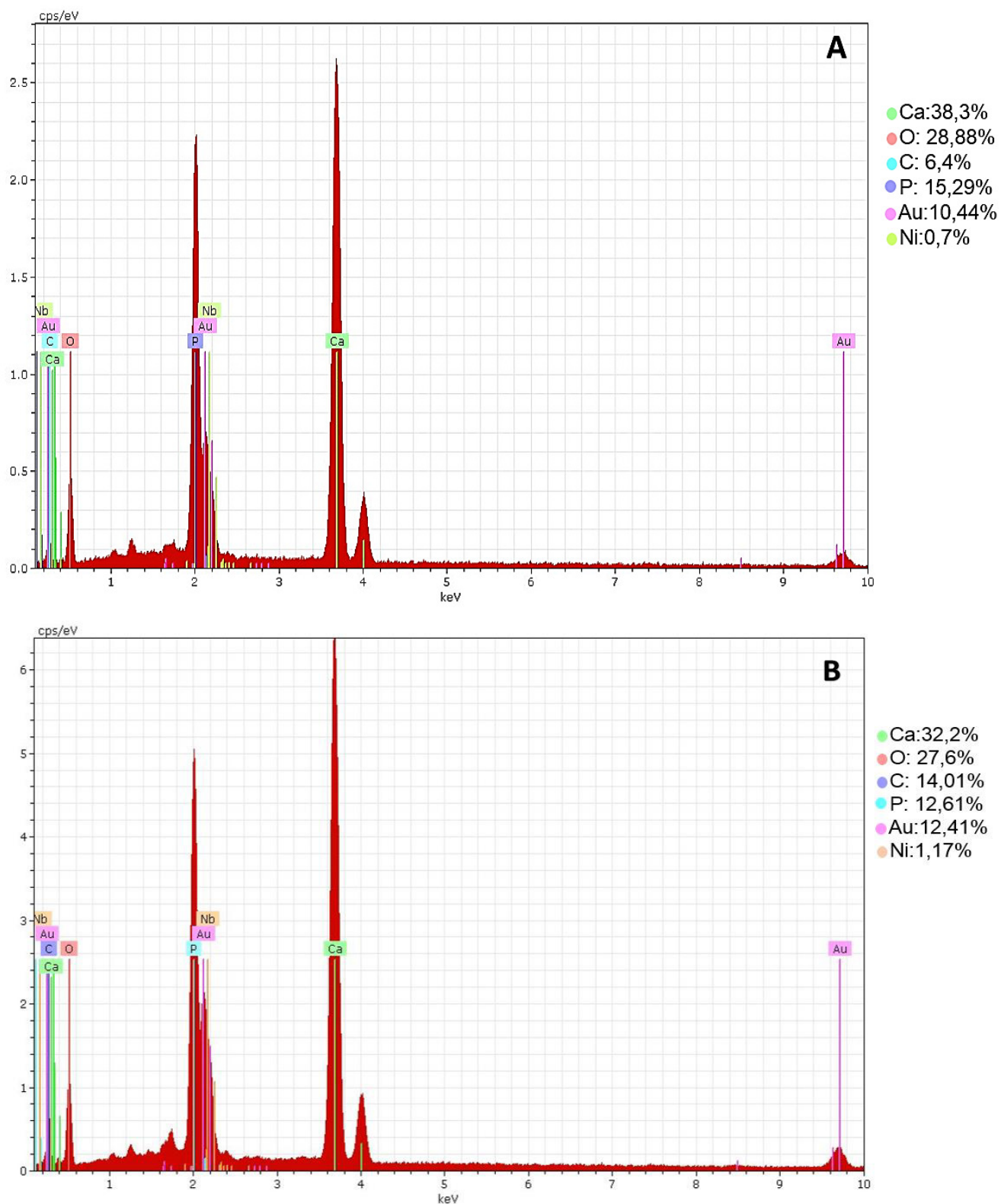


Figura 9: EDS após 24hs do tratamento com Biovidro de niobofosfato + *Laser* de Nd:YAG: A - com 60 mJ (NbG60) e B – com 80 mJ (NbG80).

Conforme verificado na Figura 9 observa-se a presença de íons de Ni (Ni60-0,7%) e a 80mJ obteve a concentração de 1,17%.

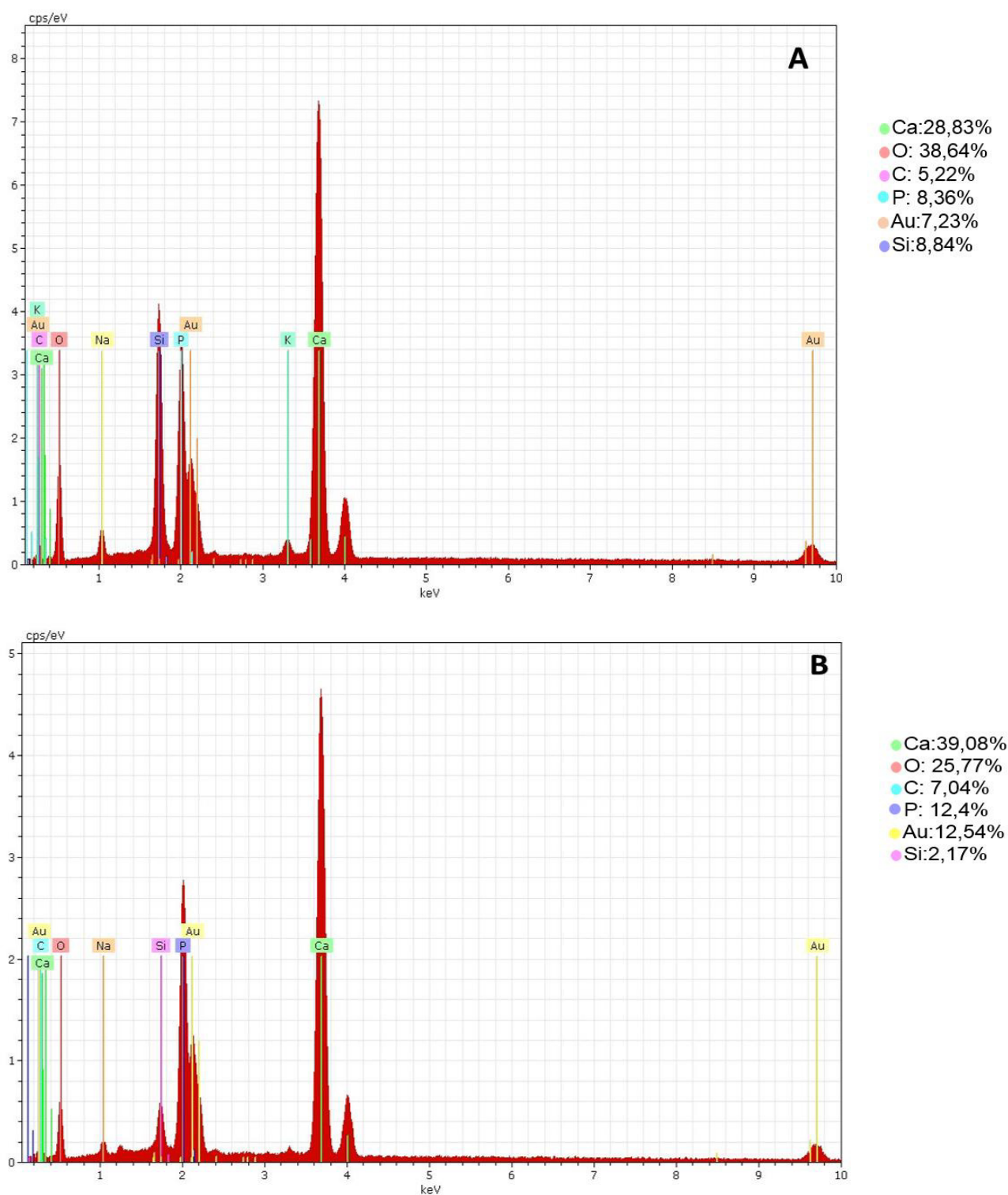


Figura 10: EDS após 24hs do tratamento com Biovidro 45S5 + *Laser* de Nd:YAG: A - com 60 mJ (Si60) e B – com 80 mJ (Si80).

Percebeu-se que a associação do biovidro 45S5 com o *laser* de Nd:YAG nos parâmetros 60 mJ (Figura 10A) e 80 mJ (Figura 10B) também apresentou íons de Si.

4 DISCUSSÃO:

Diversos materiais são desenvolvidos para o tratamento da HSD¹², porém a maioria permanece instável frente aos desafios ácidos-mecânicos que ocorrem na boca²⁵. Os resultados do presente estudo demonstraram que a utilização dos vidros bioativos 45S5 e NbG quando associados aos parâmetros de irradiação 60mJ e 80mJ promoveram redução dos valores de permeabilidade dentinária rejeitando a primeira hipótese levantada. A segunda hipótese do estudo não foi rejeitada, visto que não foi verificada diferença estatística significativa após a realização do desafio erosivo.

A avaliação da condutância hidráulica tem sido utilizada^{18,26,27} como um instrumento capaz de mensurar o fluido de perfusão da dentina, resultando em valores de permeabilidade dentinária²⁸. Corroborando com os estudos de HSD^{2,12,29}, adotou-se a leitura de permeabilidade dentinária realizada em diferentes momentos, inclusive na presença da *smear layer*^{9,18} para possibilitar a comparação com o perfil de redução da permeabilidade, após a abertura total dos túbulos e tratamentos^{30,31,32}. A fim de analisar o nível de redução da permeabilidade dentinária em relação ao dente estudado, foi admitido um grupo controle, contribuindo para os resultados, sem a presença de falsos positivos^{2,33,34}.

A busca por materiais capazes de reduzirem os efeitos da HSD estimulou a inserção de vidros bioativos no contexto odontológico³⁵ de forma promissora^{9,25,32}. A interação com os tecidos dentais ocorre quando esses vidros reagem com substâncias orgânicas do meio, e possibilitam a formação de uma camada de hidroxiapatita. O 45S5, proporciona uma interação química por meio da formação de uma camada rica em silanol, devida a liberação de Si que facilita a incorporação de íons de cálcio (Ca) e fosfato (P), formando de hidroxiapatita carbonatada⁴². Porém pesquisas recentes^{37,42,43,45} têm sugerido que a instabilidade química deste tipo de biovidro pode ser melhorada com a adição de óxido de nióbio (Nb₂O₅), que motivou o desenvolvimento do NbG^{11,37,43}. Estes tipos de óxidos são biocompatíveis^{37,45} e podem interagir com dentina hipersensível possibilitando a redução da permeabilidade.

O laser Nd:YAG para o tratamento da HSD é capaz de formar uma camada de dentina derretida “melting”¹⁰, fundindo e ressolidificando a superfície

dentinária e obliterando os túbulos¹⁸, que junto ao vidro pode ser “bioativamente reforçada”^{25,36,38}. Os diferentes parâmetros de irradiação poderiam influenciar no grau de fundição das partículas vítreas ao substrato dentinário e na agregação de íons sob os túbulos expostos. Pela a polpa dentária tolerar uma temperatura de até 5,5°C empregou-se 60 mJ e 80 mJ, correspondendo a uma variação respectivamente de 3,90°C e 4,80°C no interior da câmara pulpar³⁹. Baseados neste conceito e após observação em estudo piloto, verificou-se que densidades de energia maiores a 80mJ formaram trincas/fraturas, e as menores que 60 mJ não alteraram a dentina.

O biovidro 45S5, tanto quando associado ao uso do Nd:YAG a 60mJ bem como 80mJ, apresentou maior redução de permeabilidade dentinária quando comparados ao NbG nos mesmo parâmetros (Figura 4), o que pode ser observado nas MEVs (Figuras 7A e 7C). Estes resultados permitem, sugerir que a camada formada pelo 45S5 possibilite maiores trocas iônicas com o meio, e devido a sua solubilidade, proporciona a deposição de Ca e P de maneira imediata. Já a camada formada pelo NbG por ser mais estável, libera lentamente Ca e P refletindo no perfil de redução de permeabilidade encontrado neste estudo.^{42,44} Esta tendência é apoiada por Bakry et al (2010)³⁶ que verificaram, por MEV, maior vedamento tubular quando associado o 45S5 ao *laser* de alta potência (CO₂), e por Farmakis et al (2012 e 2013)^{9,38} quando combinaram o 45S5 (Novamin ®) ao uso do laser Nd:YAG.

Já para NbG, os parâmetros de energia pareceram influenciar na qualidade da camada bioativa formada, conforme observado em MEV (Figuras 6A e 6C) e EDS (Figura 9A), acarretando maiores valores de redução da permeabilidade dentinária quando associado a 80 mJ, comparado a 60mJ (Figura 4). Levanta-se a hipótese de que elevadas densidades de energia favoreçam uma maior aproximação das partículas deste tipo de vidro, como sugerido por Farmakis et al (2012)⁹ e (2013)³⁸, e a modificação da dentina após o uso de Nd:YAG, pode ser proporcional ao aumento da energia de irradiação.

Porém esperava-se que o NbG associado ao Nd:YAG proporcionasse maior redução da permeabilidade, quando comparados ao 45S5, devido à sua maior estabilidade química conforme sugerido por CARVALHO et al (2016)⁴² e (2015)⁴⁴. Talvez o NbG necessite de maiores densidades de energias para formar o “*melting*” com partículas fundidas devido a sua própria inércia, diferente

do 45S5 que parece não sofrer influência da irradiação, pelo fato de permitir a formação de uma camada bioativa derivada das suas rápidas e ricas trocas iônicas. Contudo, sabe-se que para a diminuição da dor nos casos de HSD, não é necessário que todos os túbulos estejam completamente obliterados. Assim, para a ausência de dor é fundamental que haja uma redução da abertura dos túbulos dentinários,^{12,26} e este fato pode ser observado nas MEVs.

Após o desafio erosivo proposto por ENGLE et al 2010^{39,16} verificou-se que os grupos tratados se apresentaram resistentes. Rizzante et al (2016)²⁸, observou que os grupos submetidos ao *laser* de diodo apresentaram maior resistência à desmineralização, entretanto João-Souza et al (2015)⁴⁰ encontrou maior permeabilidade dos grupos tratados com Nd:YAG (100 mJ) após erosão, levantando a hipótese que o efeito de redução da permeabilidade do *laser*, e o efeito sobre a dentina seria dependente do tipo de laser e da densidade de energia utilizada.

5 CONCLUSÃO

Dentro das limitações deste estudo in vitro foi possível concluir que;

- O biovidro 45S5 associado ao Nd:YAG (60 e 80mJ) apresentou maior redução da permeabilidade em relação ao NbG; e NbG apresentou redução dos valores de permeabilidade quando aplicado Nd:YAG a 80mJ em relação à 60 mJ.
- O desafio erosivo não alterou a permeabilidade dentinária obtida após os tratamentos propostos.

REFERÊNCIAS

- 1 Biagi R, Cossellu G, Sarcina M, Pizzamiglio I T, Farronato, G. Laser-assisted treatment of dentinal hypersensitivity: a literature review. *Annali di Stomatologia*, 2015; VI (3-4): 75-80.
- 2 Palazon M T, Scaramucci T, Aranha A C C, Prates R A, Lachowsk K M, Hanashiro F S, Youssef M N. Immediate and Short-Term Effects of In-Office Desensitizing Treatments for Dentinal Tubule Occlusion. *Photomedicine and Laser Surgery*, 2013; 31(6):274–282.
- 3 Al-Saud L M S, Al-Nahedh H N A. Occluding Effect of Nd:YAG Laser and Desensitizing Agents on Human Dentin. *Operative Dentistry*, 2012; 37(4): 340-355. DOI: 10.2341/10-188-L.

- 4 Haneet R K, Vandana L K. Prevalence of dentinal hypersensitivity and study of associated factors: a cross-sectional study based on the general dental population of Davangere, Karnataka, India. *International Dental Journal*, 2016; 66: 49–57.
- 5 Bakry AS, Takahashi H, Otsuki M, Tagami J. Evaluation of new treatment for incipient enamel demineralization using 45S5 bioglass. *Dental materials*, 2014; 30: 314–320.
- 6 Bakry AS, Marghalani HY, Amin AO, Tagami J. The effect of a bioglass paste on enamel exposed to erosive challenge. *Journal of dentistry*, 2014; 42:1458 – 1463.
- 7 Li X, Wang J, Joiner A, Chang J. The remineralisation of enamel: a review of the literature. *Journal of dentistry*, 2014; 42(s1):s12–s20.
- 8 Samuel, S.R. et al Evaluation of instant desensitization after a single topical application over 30 days: a randomized trial. *Australian Dental Journal*, 2015; 60: 336–342.
- 9 Farmakis E T R, Beer F, Kozyrakis K, Pantazis N, Moritz A. The Influence of Different Power Settings of Nd:YAG Laser Irradiation, Bioglass and Combination to the Occlusion of Dentinal Tubules. *Photomedicine and Laser Surgery* 2013, 31(2): 54–58.
- 10 Elmadjian, T, Lopez T C C, Diniz I M A, Borges R, Marchi J, Marques M M. Hipersensibilidade dentinária: proposta de tratamento à base de pó biovidro em diferentes veículos para aplicação na dentina. *Estudo morfológico in vitro. Clin Lab Res Den*, 2015; 21(1): 19-28.
- 11 Carvalho EM, Lima DM, Carvalho CN, Loguercio AD, Martinelli JR, Bauer J Effect of airborne-particle abrasion on dentin with experimental niobophosphate bioactive glass on the microtensile bond strength of resin cements, 2015; 59(2):129-35. doi: 10.1016/j.jpor.2015.01.001.
- 12 Lin PY, Cheng YW, Chu CY, Chien KL, Lin CP, Tu YK. In-office treatment for dentin hypersensitivity: a systematic review and network meta-analysis. *J Clin Periodontol*, 2013;40(1):53-64. doi: 10.1111/jcpe.12011.
- 13 Ribeiro, P.F.R. et al Avaliação dos efeitos do laser de Nd:YAG no tratamento da hipersensibilidade dentinária: estudo preliminar. *Revista Saúde-UNG*. 2011; 04(05).
- 14 Dilsiz A, Canakci V, Ozdemir A, Kaya Y. Clinical Evaluation of Nd:YAG and 685-nm Diode Laser Therapy for Desensitization of Teeth with Gingival Recession. *Photomedicine and Laser Surgery*, 2006; 27(6): 843–848. DOI: 10.1089/pho.2008.2395.
- 15 Lopes A O, Aranha A C C. Comparative Evaluation of the Effects of Nd:YAG Laser and a Desensitizer Agent on the Treatment of Dentin Hypersensitivity: A Clinical Study. *Photomedicine and Laser Surgery*, 2013;31(3): 132–138. DOI: 10.1089/pho.2012.3386.
- 16 Alghilan M, Cook N B, Platt A J, Eckert G J; Hara A T. Susceptibility of restorations and adjacent enamel/dentine to erosion under different salivary flow conditions. *Journal of Dentistry* ,2015; 43(12):1476 – 1482.
- 17 Farooq I, Moheet IA, AlShwaimi E. In vitro dentin tubule occlusion and remineralization competence of various toothpastes. *archives of oral biolog*, 2015; 60: 1246– 1253.
- 18 Esteves S-R-M-S, Huhtala M-F-R-L, Gomes A-P-M, Ye G, Spencer P, Golçalves S-E-D-P. Longitudinal Effect of Surface Treatments Modified by NaOCl-Induced Deproteinization and Nd:YAG Laser on Dentin Permeability.

Photomedicine and Laser Surgery, 2016; 34(2): 68–75. DOI: 10.1089/pho.2015.3977.

19 Lavender SA, Petrou I, Heu R, Stranick MA, Cummins D, Kilpatrick-Liverman L, et al. Mode of action studies on a new desensitizing dentifrice containing 8.0% arginine, a high cleaning calcium carbonate system and 1450 ppm fluoride. *Am J Dent*, 2010; 23(A):14A-19A.

20 Almeida-Lopes L, Massini RJ. Laserterapia, conceitos e aplicações. NUPEM/DMC, São Carlos, 2002. [Acesso 04 out 2016]. Disponível em: http://www.nupen.com.br/Revista_port/index.htm

21 Engle K, Hara AT, Matis B, Eckert GJ, Zero DT. Erosion and abrasion of enamel and dentin associated with at-home bleaching: an in vitro study, 2010; 141(5):546-51.

22 Alghilan MA, Cozinhe NB, Platt JA, Eckert GJ, Hara AT. Susceptibility of restorations and adjacent enamel/dentine to erosion under different salivary flow conditions. *J Dent*, 2015;43(12):1476-82.

23 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; 26(05): 397-403. 2012.

24 Thanatvarakorn O, Nakashima S, Sadr A, Prasansuttiporn 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;101(2):303-9.

25 Bakry AS, Takahashi H, Otsuki M, Sadr A, Yamashita K, Tagami J. CO2 laser improves 45S5 bioglass interaction with dentin. *J Dent Res*. 2011; 90(2):246-50. doi: 10.1177/0022034510387793.

26 Shiau H J. Dentin hypersensitivity. *J Evid Based Dent Pract*, 2012; 12(3):220-8. doi: 10.1016/S1532-3382(12)70043-X.

27 Curtis AR, West NX, Su B. Synthesis of nanobioglass and formation of apatite rods to occlude exposed dentine tubules and eliminate hypersensitivity. *Acta Biomater*. 2010 Sep;6(9):3740-6. doi: 10.1016/j.actbio.2010.02.045.

28 Rizzante A P, Maenosono R M, Duarte M A H, Furuse A Y, Palma-Dibb R G, Ishikiriyama S K. In Vitro Evaluation of Dentin Hydraulic Conductance After 980 nm Diode Laser Irradiation. *J Periodontol*, 2016; 87(3): 320-326.

29 Bader J, Balevi B, Farsai P, Flores-Mir C, Gunsolley J, Matthews D, Vig K, Zahrowski J. Lasers may reduce pain arising from dentin hypersensitivity. *J Am Dent Assoc*, 2014;145(4):e1-2. doi: 10.14219/jada.2013.56.

30 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. doi: 10.1002/sca.21309.

31 Maleki-pour MR, Birang R, Khoshayand M, Naghsh N. Effect of Nd:YAG Laser Irradiation on the Number of Open Dentinal Tubules and Their Diameter with and without Smear of Graphite: An in Vitro Study. *Journal of Lasers in Medical Sciences*, 2015; 6(1):32-39.

32 Lynch E, Brauer D S, Karpukhina N, Gillam DG, Hill R G. Multi-component bioactive glasses of varying fluoride content for treating dentin hypersensitivity. *Dental materials*, 2012; 28:168–178.

33 Dilber E, Malkoc MA, Ozturk AN, Ozturk F. Effect of various laser irradiations on the mineral content of dentin. *Eur J Dent*, 2013;7(1):74-80.

- 34 Al-Omari WM, Palamara JE. The effect of Nd:YAG and Er,Cr:YSGG lasers on the microhardness of human dentin. *Lasers Med Sci*, 2013; 28(1):151-6. doi: 10.1007/s10103-012-1094-3.
- 35 Hench LL e Jones JR. Bioactive Glasses: Frontiers and Challenges. *Front. Bioeng. Biotechnol*, 2015; 3:194. doi: 10.3389/fbioe.2015.00194.
- 36 Bakry AS, Takahashi H, Otsuki M, Sadr A, Yamashita K, Tagami J. CO2 Laser Improves 45S5 Bioglass Interaction with Dentin. *Dent Res*, 2011; 90(2):246-250.
- 37 Carvalho C-N, Martinelli J-R, Bauer J, Haapasalo m, Shen Y, Bradaschia-Correa V, Manso A P, Gavini G. Micropush-out dentine bond strength of a new gutta-percha and niobium phosphate glass composite. *International Endodontic Journal*, 2015; 48, 451–459.
- 38 Farmakis ER, Kozyrakis K, Khabbaz MG, Schoop U, Beer F, Moritz A. In Vitro Evaluation of Dentin Tubule Occlusion by Denshield and Neodymium-doped Yttrium-Aluminum-Garnet Laser Irradiation. *JOE*; 2012,38(5).
- 39 Engle K, Hara AT, Matis B, Eckert GJ, Zero DT. Erosion and abrasion of enamel and dentin associated with at-home bleaching: an in vitro study. *J Am Dent Assoc*. 2010;141(5):546-51.
- 40 João-Souza S H, Scaramucci T, Hara A T, Aranha A C C. Effect of Nd:YAG laser irradiation and fluoride application in the progression of dentin erosion in vitro. *Lasers Med Sci*. 2015; 30:2273–2279. DOI 10.1007/s10103-015-1802-x.
- 41 Trushkowsky R D, Oquendo A. Treatment of Dentin Hypersensitivity. *Dent Clin N Am*. 2011; 55:599-608. doi:10.1016/j.cden.2011.02.013.
- 42 Carvalho CN, Freire LG, Carvalho AP, Duarte MA, Bauer J, Gavini G. Ions Release and pH of Calcium Hydroxide-, Chlorhexidine- and Bioactive Glass-Based Endodontic Medicaments. *Braz Dent J*. 2016; 27(3):325-31.
- 43 Carbonari JM, Faria Jr LJ, Kronig Jr B, Martinelli JR. Bioactive niobium phosphate glasses for osseointegrated applications. Patent Number: WO2004026781A1. 2004.
- 44 Carvalho CN, Freire LG, Carvalho APL, Siqueira EL, Bauer JR, Cunha GG, Gavini G. The Influence of Dentine on the pH of Calcium Hydroxide, Chlorhexidine Gel, and Experimental Bioactive Glass-Based Root Canal Medicament. *Scientific World Journal*. 2015; 686.259.
- 45 Bauer J, Carvalho EM, Carvalho CN, Meier MM, Souza JP, Carvalho RM, Louguercio A. Development of a simplified etch-and-rinse adhesive containing niobiophosphate bioactive glass. *International Journal of Adhesion & Adhesives*. 2016; (69):110-114.

CAPITULO II *

O LASER Nd:YAG PODE MELHORAR O EFEITO DO ADESIVO UNIVERSAL PARA REDUÇÃO DA PERMEABILIDADE DENTINÁRIA?

Karla Janilee de Souza Penha^a, Carlos Rocha Gomes Torres^b, Leily Macedo Firoozmand^c

^a Aluna do Mestrado em Odontologia da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, São Luís, Maranhão, Brasil.

^b Professor Adjunto do Departamento de Dentística Restauradora da UNESP-ICT-SJC, São José dos Campos, São Paulo. Brasil

^c Professora Adjunta do Departamento de Odontologia I da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, São Luís, Maranhão, Brasil

Autor correspondente:

Karla Janilee de Souza Penha

Endereço: Rua Oklahoma, casa 21, quadra 08, central parque I, Araçagy.

CEP: 65068-565 – São Luís – MA

Telefone para contato: +55(98)981530875

karlajanilee@gmail.com

*Artigo normatizado de acordo com as normas do periódico *American Journal of Dentistry*.

RESUMO

O LASER Nd:YAG PODE MELHORAR O EFEITO DO ADESIVO UNIVERSAL PARA REDUÇÃO DA PERMEABILIDADE DENTINÁRIA?

Objetivo: verificar *in vitro*, por meio da condutância hidráulica (CH), a influência da associação do adesivo universal (3M ESPE) ao *laser* Nd:YAG para diminuição da permeabilidade dentinária (P). **Método:** Foram confeccionados 40 discos de dentina bovina com 6mm de diâmetro e 1mm de espessura. A (P) foi medida com um aparelho (modelo câmara dividida-ODEME) em 3 momentos: abertura máxima, após o tratamento e desafio ácido. As amostras foram randomicamente distribuídas em 4 grupos experimentais (n=10), de acordo com o tratamento realizado: **A60**-Adesivo universal + Nd:YAG (60mJ,10Hz,0,6W), **A80**-Adesivo universal + Nd:YAG (80mJ,10Hz,0,8 W), **AU**-Apenas adesivo universal e **C**-Controle (sem tratamento). Em seguida as amostras foram submetidas ao desafio erosivo. Algumas amostras foram preparadas para visualização em microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Espectrometria de energia dispersiva de raios-x (EDS). **Resultados:** Os testes Kruskal Wallis e post hoc de Dunn ($p>0.05$) demonstraram que não houve diferença estatística entre os grupos AU, A60 e A80. Após desafio erosivo todos os tratamentos que se mostram resistentes. **Conclusão:** O uso do sistema adesivo Universal sobre a dentina, bem como a sua associação ao *laser* Nd:YAG (60 e 80mJ), apresentaram semelhante redução da permeabilidade dentinária e resistência ao desafio erosivo.

Descritores: Sensibilidade da dentina; Permeabilidade da dentina; *Lasers*; Adesivos.

Significância clínica: O uso do sistema adesivo universal associado ao *laser* Nd:YAG pode ser uma alternativa para o tratamento da HSD, que poderia reduzir a sintomatologia dolorosa pela obliteração dos túbulos dentinários expostos ao meio bucal.

ABSTRACT

THE LASER Nd: YAG CAN IMPROVE THE EFFECT OF ROUND UNIVERSAL DENTIN PERMEABILITY?

Objective: to verify in vitro, through hydraulic conductance (CH), the influence of the universal adhesive association (3M ESPE) on the Nd: YAG laser to decrease dentin permeability (P). Method: 40 discs of bovine dentin with 6mm diameter and 1mm thickness made were. A (P) measured was with an apparatus (divided chamber model-ODEME) in 3 moments: maximum aperture, after treatment and acid challenge. A60-Universal Adhesive + Nd: YAG (60mJ, 10Hz, 0.6W), A80-Universal Adhesive + Nd: YAG (80mJ) were randomly distributed in 4 experimental groups (n = 10), 10Hz, 0.8W), AU-Only universal adhesive and C-Control (no treatment). Then the samples submitted were to erosive challenge. Some samples were prepared for visualization in scanning electron microscopy (SEM) and X-ray dispersive energy spectrometry (EDS). Results: Kruskal Wallis and Dunn post hoc tests ($p > 0.05$) showed that there was no statistical difference between the AU, A60 and A80 groups. After erosive challenge all treatments that are resistant. Conclusion: The use of the Universal adhesive system on dentin, as well as its association with Nd: YAG laser (60 and 80mJ), showed similar reduction of dentin permeability and resistance to erosive challenge.

Key words: Dentin sensitivity; Permeability of dentin; Lasers; Adhesives.

Clinical significance: The use of the universal adhesive system associated with the Nd: YAG laser may be an alternative for the treatment of HSD, which could reduce painful symptoms by obliteration of the dentinal tubules exposed to the oral environment.

TÍTULO: O laser Nd:YAG pode melhorar o efeito do adesivo universal para redução da permeabilidade dentinária?

1 INTRODUÇÃO

Os sistemas adesivos são combinações de monômeros resinosos com diferentes pesos moleculares e viscosidades, e que tem por função a união dos materiais restauradores ao substrato dental, por meio de ligações químicas e/ou micromecânica¹ formando a camada híbrida na dentina^{2,3}. Estes materiais resinosos podem ser empregados, em alguns casos, para o tratamento da hipersensibilidade dentinária (HSD). Baseando-se na teoria hidrodinâmica, a tentativa de oclusão dos túbulos dentinários, teria como função o impedimento da oscilação do fluido intratubular perante estímulos do meio bucal, o que acarreta dor^{4,5,6}.

A aplicabilidade dos sistemas na dentina torna-se mais desafiadora devido a sua heterogeneidade, variações regionais da morfologia e fisiologia do substrato dentinário⁸. Dentre os sistemas adesivos existentes, os sistemas *etch-and-rinse* (convencionais), e *self-etch* (autocondicionantes) apresentam diferentes interações com o substrato dentinário^{9,10}. Os sistemas convencionais são utilizados após o condicionamento ácido da superfície, formando microporosidades e expondo as fibras colágenas, previamente ao *primer* (hidrofílico). Já os monômeros hidrofóbicos favorecem o embricamento com a resina. Tal material apresenta-se na forma de três ou dois passos¹¹.

Enquanto que os sistemas autocondicionantes eliminam o passo da aplicação do condicionamento ácido prévio em dentina, por possuírem *primers* acídicos, que desmineralizam e incorporam a *smear layer* na interface de união¹². Possuem uma técnica menos sensível, reduzindo a dor pós-operatória, devido a dissolução da *smear layer* menos profunda e simultânea ao preenchimento dos espaços pelos monômeros adesivos¹³. Devido as peculiaridades deste sistema adesivo, estes materiais poderiam se apresentar com uma boa opção para a HSD.

A evolução do sistema *self-etch*, permitiu o desenvolvimento dos adesivos “*Multi-purpose*”, “*Multimode*” ou “*Universal*”^{13,14}. Da mesma forma que os sistemas autocondicionantes, possuem a molécula de 10-MDP

(metacriloiloxidecil dihidrogeno fosfato), monômero funcional incorporado ao *primer* e adesivo que forma fortes ligações iônicas com Ca do substrato dental, contribuindo para formação de uma melhor interface adesiva^{15,16,17}. Porém os sistemas universais, possuem um mecanismo de ação semelhante aos de passo único, onde observam-se as “*water trees*”, que funcionam como caminho de fluídos através das interfaces adesivas e por isso, têm sido apontadas como sinal de degradação hidrolítica do material³⁸.

Estudos recentes demonstram^{18,30}, no entanto, que o uso de sistemas adesivos para o tratamento da HSD diminui sua efetividade com o tempo. Já os *lasers* de alta potência, como Nd:YAG (*Neodímio: Ítrio-Alumínio-Granada*) podem melhorar a evaporação do solvente dos adesivos¹⁹ e promovem a fusão da dentina, auxiliando em sua recristalização e obliteração de túbulos dentinários²⁰.

Investigações sobre o comportamento dos adesivos universais “*multimodes*” associados ao *laser* Nd:YAG, poderiam favorecer a redução de efeitos adversos relatados na literatura^{24,32}. Por isso alternativas para melhorar a efetividade e longevidade do adesivo foram desenvolvidas, como a utilização da energia a *laser*¹⁹. Dentre eles, um dos importantes aspectos que poderiam ser amenizados é elevada hidrofília destes sistemas, quando comparados aos *self etch* (2 passos)¹⁴.

Diante do exposto, e da escassez de estudos sobre o comportamento dos sistemas adesivos universais sobre a dentina, e sob a ação de diferentes parâmetros de irradiação do Nd:YAG, verifica-se que este questionamento merece maiores investigações. Assim, o objetivo deste estudo *in vitro* é avaliar, a influência da associação do adesivo universal ao *laser* Nd:YAG (60 e 80mJ) na permeabilidade dentinária. As hipóteses nulas testadas são: (1) não há diferença estatística significativa na permeabilidade dentinária após a aplicação do sistema adesivo universal e a sua associação ao Nd:YAG, nos diferentes parâmetros de irradiação, e, (2) o desafio erosivo não promove alteração na permeabilidade dentinária dos grupos tratados.

2 METODOLOGIA

2.1 Cálculo amostral

Após a execução do teste piloto, o tamanho da amostra foi calculado adotando-se alfa igual a 5%, poder de teste do Kruskal Wallis 80%. Chegou-se a um tamanho (n) de 10 elementos dentais para cada grupo experimental (PASS 11. NCSS, LLC, Kaysville, Utah, USA).

2.2 Preparação dos corpos de prova

Quarenta incisivos bovinos recentemente extraídos com idades entre 2 e 4 anos, foram escolhidos. Os dentes foram limpos e armazenados em água destilada durante o preparo dos espécimes de dentina, momento este que não excedeu 6 meses. Os dentes foram seccionados transversalmente ao seu longo eixo, aquém da junção cimento-esmalte para a remoção das raízes, usando um disco diamantado (Dremel, Racine, Madison, Wisconsin, EUA), conectado a um torno de alta rotação (Nevoni, São Paulo, SP, BR).

As coroas dentais foram aderidas em uma base metálica posicionadora que permitiu o corte de amostras circulares de esmalte e dentina usando a máquina de corte (Micro Mill, Washington, EUA). O corte começou pela face vestibular, utilizando uma broca trefina com 6 mm de diâmetro interno para a aquisição das amostras circulares.

Em seguida, os espécimes foram posicionados em um dispositivo metálico para determinação da profundidade, onde a superfície pulpar continuou alinhada à parte externa do dispositivo. O conjunto foi disposto para desgaste em uma politriz circular (DP-10, Panambra, São Paulo, SP, BR), utilizando lixa de P600 (Fepa P, Extec Corp., Enfield, Connecticut, USA) sob refrigeração, depois foi realizada a identificação da superfície pulpar com um risco.

Os espécimes foram posicionados outra vez no dispositivo ajustado com a profundidade de 1,1 mm para desgaste do esmalte em politriz circular com lixa P1200. Para polimento da face de dentina os corpos de prova foram colocados neste mesmo dispositivo com a profundidade de 1 mm e levado à politriz com lixa P2400 (Fepa P, Extec Corp., Enfield, Connecticut, USA) por 30 s.

Alcançando-se disco de dentina com 1mm de espessura e apropriada lisura superficial²¹.

2.3 Permeabilidade máxima ou inicial

Para reproduzir a abertura total dos túbulos dentinários, a *smear layer* foi removida utilizando ácido cítrico a 0,3% por 30 seg²⁴.

Depois da abertura dos túbulos, foi efetuada a primeira leitura da permeabilidade dentinária em cada espécime por meio do aparelho de permeabilidade TDH 03 (ODEME - Equipamentos Médicos e Odontológicos Ltda, Joaçaba, SC, Brasil) (Figura 1). Desta forma, foi adquirido o valor da condutância hidráulica máxima para cada corpo de prova, simulando a abertura total dos túbulos dentinários.

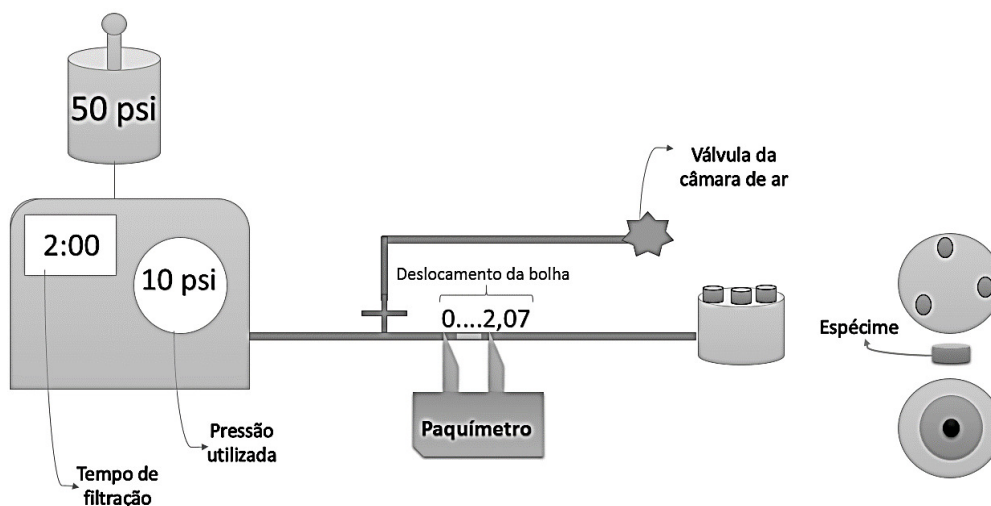


Figura 1: Esquema de funcionamento da máquina de permeabilidade

2.4 Randomização e organização dos corpos de prova

Depois da leitura da permeabilidade máxima, os espécimes foram dispostos em ordem crescente de permeabilidade, e, desta forma randomizados entre os grupos, contrabalanceando os espécimes incluídos nos grupos experimentais. Baseando-se, no fato de que a permeabilidade dentinária é bem variável, pois os diâmetros dos túbulos alteram de conforme o dente e o extrato dentinário estudado.

Os espécimes foram separados de maneira sedimentada em 4 grupos experimentais (n=10) de forma que os grupos possuísem médias parecidas de condutância hidráulica e estivessem mais homogêneos quanto a permeabilidade dentinária.

2.5 Distribuição dos grupos experimentais

Depois da randomização, cada grupo foi composto conforme o tratamento realizado (Figura 2).

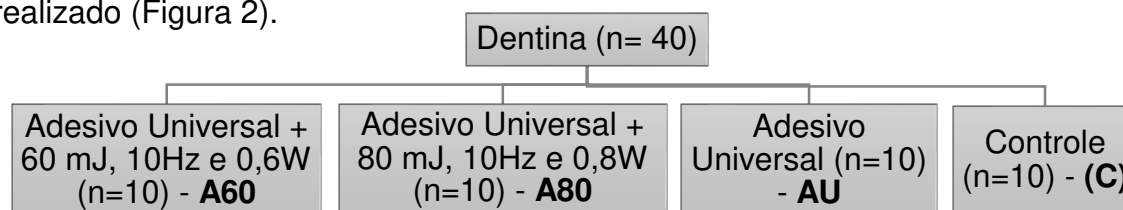


Figura 2: Distribuição dos grupos experimentais

2.6 Aplicação e descrição do adesivo universal

O adesivo foi aplicado de acordo com as instruções do fabricante e fotopolimerizado após a irradiação com *laser* de Nd:YAG (Tabela 1).

Tabela 1: Material usado nos grupos experimentais.

Material/Lote	Composição	Modo de aplicação
Single Bond Universal (3M ESPE, Seefeld-Alemanha) Lote1306600524	15-20% Bisfenol A diglicileter dimetacrilato (Bis-GMA), 15-15% <2% metacrilato de 2-hidroxietila, 5-15% sílica tratada com silício, 10-15% etanol, 5-10% decametileno dimetacrilato, 10-15% água, 10% 10- decanodiol fosfato metacrilato, 1-5% copolímero de acrílico e 1-5% ácido politacônico, <2% canforoquinona, <2% N, Ndimetilbenzocaína, <2% metacrilato de 2-dimetilamonoetilo, <0,5% metiletilcetona.	Secagem da superfície com papel absorvente Duas aplicações ativas do adesivo com um aplicador descartável durante 20 s; Leve jato de ar por 5 s; Fotopolimerização por 10 s após a aplicação do <i>laser</i> Nd:YAG.

2.7 Irradiação com *laser* de Nd:YAG

Os discos de dentina foram irradiados com *laser* de Nd:YAG (*Neodymium: Yttrium-Aluminium- Garnet*), utilizando o aparelho Pulse Master 600 IQ (American Dental Technologies, Austin, Texas, EUA), emitindo um comprimento de onda de 1064nm, empregando uma fibra óptica de 400 µm, após a aplicação do adesivo universal.

Foi executada uma varredura da superfície, em quatro direções espaçadas de 45° (vertical, horizontal e duas transversais), por 40s com a fibra óptica posicionada perpendicularmente à superfície de dentina, para promover uma irradiação homogênea.

2.8 Cálculo da densidade de energia

Foram utilizados os seguintes parâmetros na fibra ótica de quartzo com diâmetro de 400 µm: 60 mJ de energia por pulso, 10 Hz (ou 10 pps) de frequência e 0,6W de potência, e o outro 80 mJ de energia por pulso e 10 Hz (ou 10 pps) de frequência e 0,8W de potência.

A densidade de energia (**DE**) foi obtida pela seguinte fórmula: **DE = E/Área**, onde **E**= energia/pulso (em J), **Área**= da fibra ótica (obtida pelo diâmetro do feixe, expressa em cm²). Resultando nas seguintes DEs: para 80 mJ (63,69 J/cm²) e 60 mJ (47,77 J/cm²).

2.9 Desafio ácido

Após o tratamento das amostras, foi realizado o desafio erosivo^{24,25}, por meio de quatro ciclos executados diariamente durante cinco dias. Sendo cada ciclo constituído pela imersão dos espécimes em solução de ácido cítrico na concentração de 0,3%, com pH natural de 2,3 durante 2 minutos e posteriormente a imersão dos mesmos em saliva artificial (pH=7) durante 1 hora.

Ao final do desafio ácido as amostras foram armazenadas em *ependorfs* identificados contendo água ultrapura e mantidos em estufa a 37±1°C por 24h.

2.10 Determinação da permeabilidade em % após cada momento (P%)

A permeabilidade de cada amostra nos 3 momentos da leitura (1º inicial/permeabilidade máxima, 2º após tratamento e 3º após desafio erosivo) (Figura 3), foi calculada proporcionalmente como um percentual relacionado à condutância hidráulica máxima, obtida após a abertura dos túbulos (permeabilidade máxima), a qual foi considerada uma permeabilidade de 100%^{21,30,27}. A seguinte fórmula foi utilizada:

$$P\% = \frac{(L_p \cdot 100)}{L_{pMax}}$$

P%=Percentual de permeabilidade em relação ao valor máximo; **Lp** = Condutância hidráulica em cada momento (**Lptrat**= após o tratamento; **Lpacid**= após o desafio erosivo; **Lpmax**= condutância hidráulica máxima com os túbulos abertos). Assim calculou-se um **p%** para cada amostra. E com os valores foram realizados os testes estatísticos.

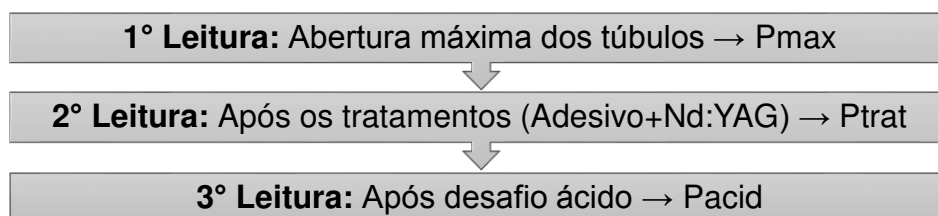


Figura 3: Fluxograma das leituras de permeabilidade de cada corpo de prova.

2.11 Preparo dos corpos de prova para a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectrometria de Energia Dispersiva de raios-x (EDS)

Para fins ilustrativos das diferentes irradiações e tratamentos, os espécimes mais representativos de cada grupo foram selecionados, após os tratamentos e desafio erosivo. Foram mantidos na campânula vítrea de sílica durante 10 dias.

Após essa etapa, os espécimes foram montados em *stubs* de alumínio com auxílio de fita adesiva de carbono (Koch, Instrum Cient, São Paulo - SP, BR) e metalizados com ouro-paládio pelo processo de sputter, por meio de um

aparelho Desk II (Denton Vacuum, Moorestown, New Jersey, EUA) por 2 min que serviu de anteparo aos elétrons a fim de permitir a captação das imagens.

Após este procedimento, os espécimes foram observados em MEV para observação morfo-estrutural e EDS para análise química superficial. A primeira análise a captação das imagens foi realizada por meio de um *software* específico acoplado ao microscópio eletrônico de varredura (JMS 5310 – Jeol Brasil Instrumentos Científicos Ltda. – SP, BR), empregando aumento de 3000 e 1000 vezes, permitindo a obtenção de fotomicrografias.

As análises demonstrativas em EDS foram realizadas no MEV empregando o software Esprit 1.9 Bruker (Schwarzschildstr, Berlin, Alemanha), foram consideradas para esta análise áreas onde eram realizadas previamente as imagens.

Para a obtenção dos elementos, foram atingidos espectros (Real time) por 100 segundos, a voltagem utilizada 25kv, em uma distância de 20mm e magnitude de 3000x.

2.12 Análise estatística

Foram calculados os valores médios e os desvios padrão da variação do percentual de permeabilidade (P%) para cada variável analisada. O teste estatístico Shapiro Wilk demonstrou a distribuição não normal dos dados. Os testes estatísticos de Kruskal Wallis e post hoc de Dunn foram empregados para identificar as diferenças estatísticas e comparar os tratamentos realizados. O nível de significância adotado foi de 5%. O programa estatístico utilizado foi SPSS 21.0 (IBM, Armonk, NY, USA).

3 RESULTADOS

3.1 Avaliação da Permeabilidade Dentinária

Os valores médios da variação do percentual de permeabilidade P% pós tratamento e desafio erosivo para os diferentes grupos avaliados estão representados na Figura 4.

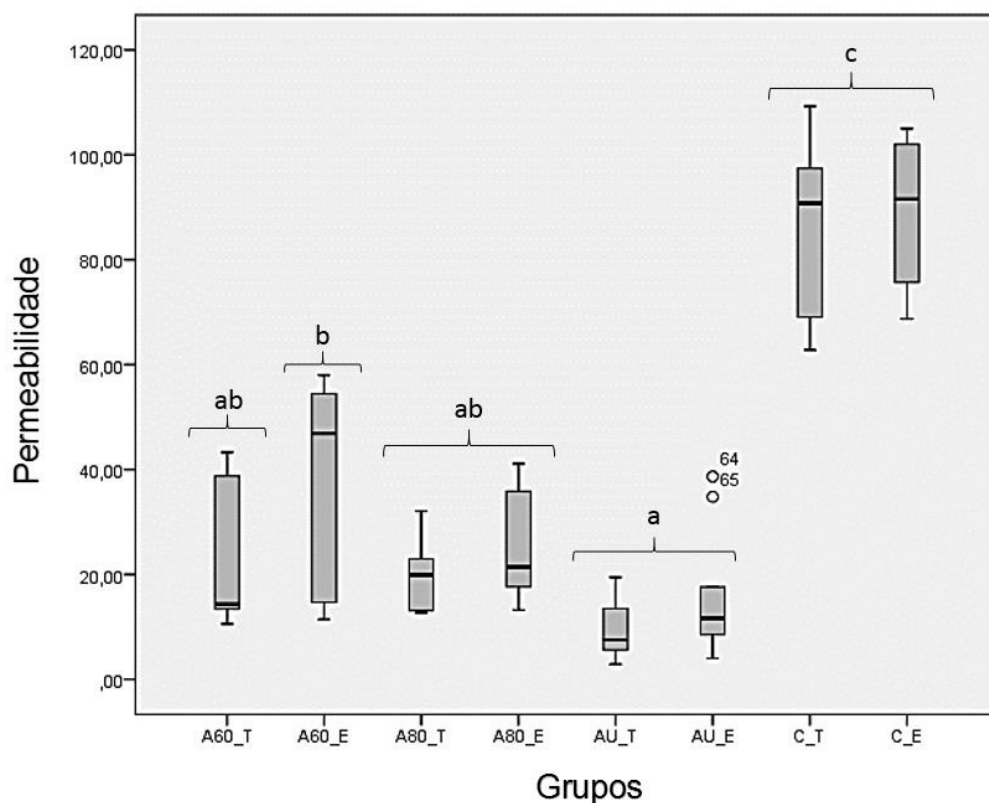


Figura 4: Gráfico Box-plot com mediana, Diferenças entre a permeabilidade após tratamento e desafio erosivo (e) dos grupos experimentais. * Letras diferentes=diferença significativa (Kruskal Wallis, pos hoc de Dunn, $p<0,05$)

O teste de Kruskal Wallis demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados ($p<0,05$). Em relação ao grupo C, todos os grupos experimentais tratados apresentaram expressiva diminuição na permeabilidade dentinária (A60_T, A80_T, AU_T) após 24h (Figura 4).

Os parâmetros de irradiação utilizados (60mJ e 80mJ) não promoveram diferença estatística, na redução da permeabilidade.

Após desafio erosivo, todos os grupos experimentais conservaram o perfil de diminuição da permeabilidade dentinária quando comparados ao grupo C.

3.2 Visualização em MEV e EDS

Imagens foram realizadas empregando o aumento de 3000x, a fim de ilustrar as condições da superfície dentinária após o tratamento realizado e o desafio erosivo. As imagens dos diferentes grupos experimentais demonstram alterações na superfície dos grupos tratados e controle (Figura 5, 6, 7 e 8).

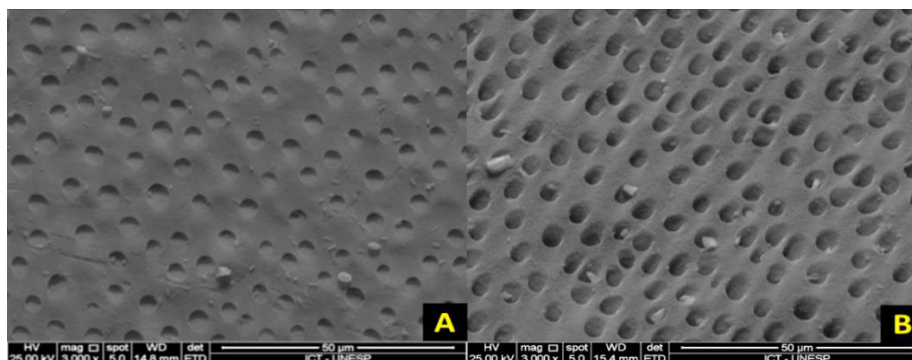


Figura 5: Imagens em MEV das superfícies do grupo controle (3000x); **A**-(C) Controle sem nenhum tratamento (após 24h em saliva artificial), **B** (C-Erosão) após desafio erosivo.

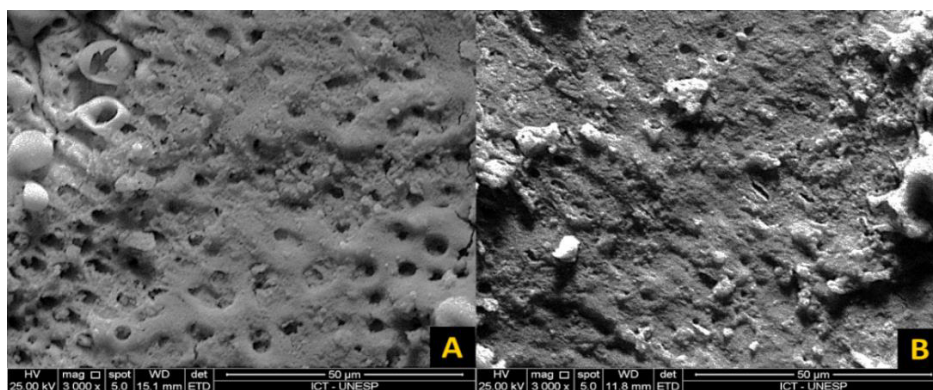


Figura 6: Imagens em MEV das superfícies tratadas com adesivo universal e *laser* Nd:YAG no parâmetro de 60mJ (3000x). A (A60) – após 24h do tratamento e B (A60-Erosão) – após desafio erosivo.

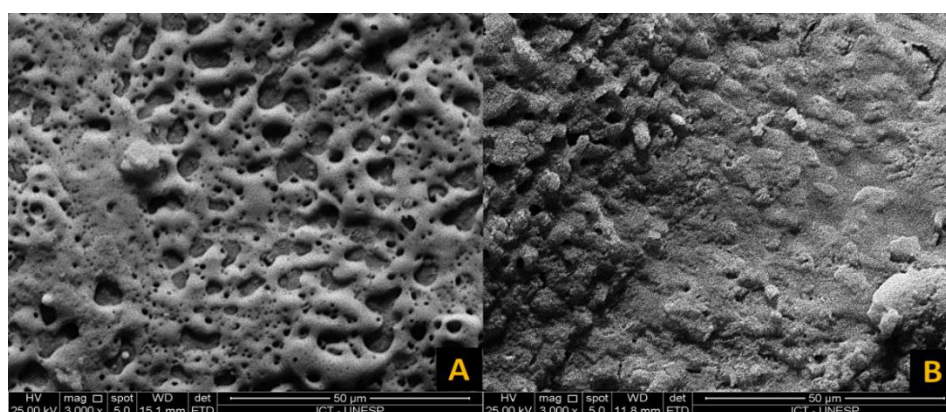


Figura 7: Imagens em MEV das superfícies tratadas com adesivo universal e *laser* Nd:YAG no parâmetro de 80mJ (3000x). A (A80) – após 24h do tratamento e B (A80-Erosão) – após desafio erosivo.

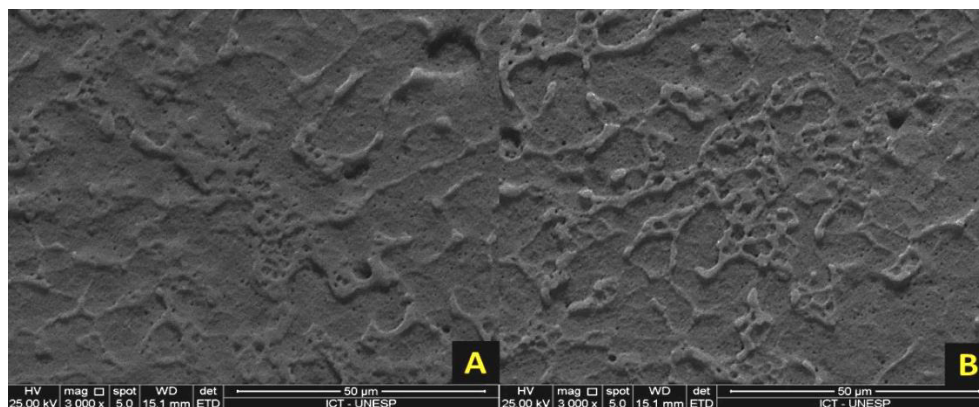


Figura 8: Imagens em MEV das superfícies tratadas apenas com adesivo universal (3000x). A (AU) – após 24h do tratamento e B (AU-Erosão) – após desafio erosivo.

As imagens obtidas por MEV ilustram, que a associação do sistema adesivo ao *laser* Nd:YAG demonstrou uma ligeira interação do adesivo com a dentina (Fig. 6A e 7A), quando comparados às imagens do grupo C (Figura 5A). Ambos parâmetros de irradiação (60 e 80mJ) aplicados com os sistemas adesivos, promoveram a formação de uma camada não homogêna, com a existência de poros e falhas.

O grupo tratado apenas com adesivo (Figura 8A) apresentou uma camada uniforme e com microporos, corroborando com os achados obtidos nas leituras de permeabilidade. E após o desafio erosivo os tratamentos mostram-se resistentes (Figura 5B, 6B, 7B e 8B), ratificando os valores de permeabilidade encontrados após erosão.

O EDS permitiu observar a composição das estruturas mineralizadas da dentina após desafio ácido, evidenciando a presença dos tratamentos depois da erosão. Os valores obtidos foram projetados em gráficos que representaram a contagem dos elementos químicos, os picos representam a emissões de energias características dos elementos que compõem os corpos de prova (Figuras: 9 e 10).

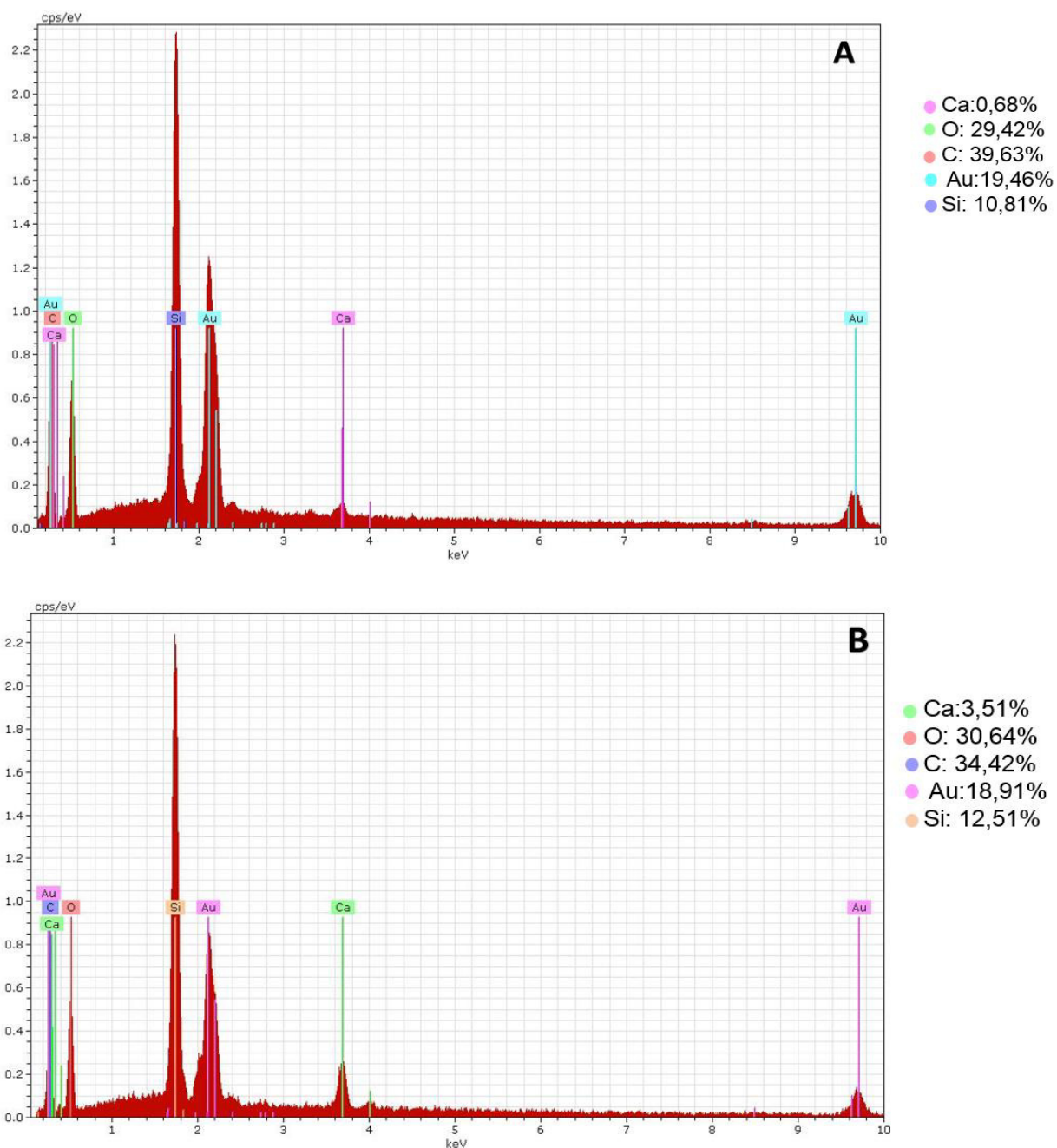


Figura 9: EDS após desafio erosivo do tratamento com Adesivo Universal + Laser de Nd:YAG: A - com 60 mJ (A60 - Erosão) e B – com 80 mJ (A80 - Erosão).

Conforme verificado na Figura 9 observa-se que a camada formada após a fundição do adesivo com o laser de Nd:YAG nos parâmetros 60 mJ (Figura 9A) e 80 mJ (Figura 9B) possuíam um predomínio de íons de Ca existente na estrutura dental, Si devido a presença das partículas inorgânicas existentes no adesivo.

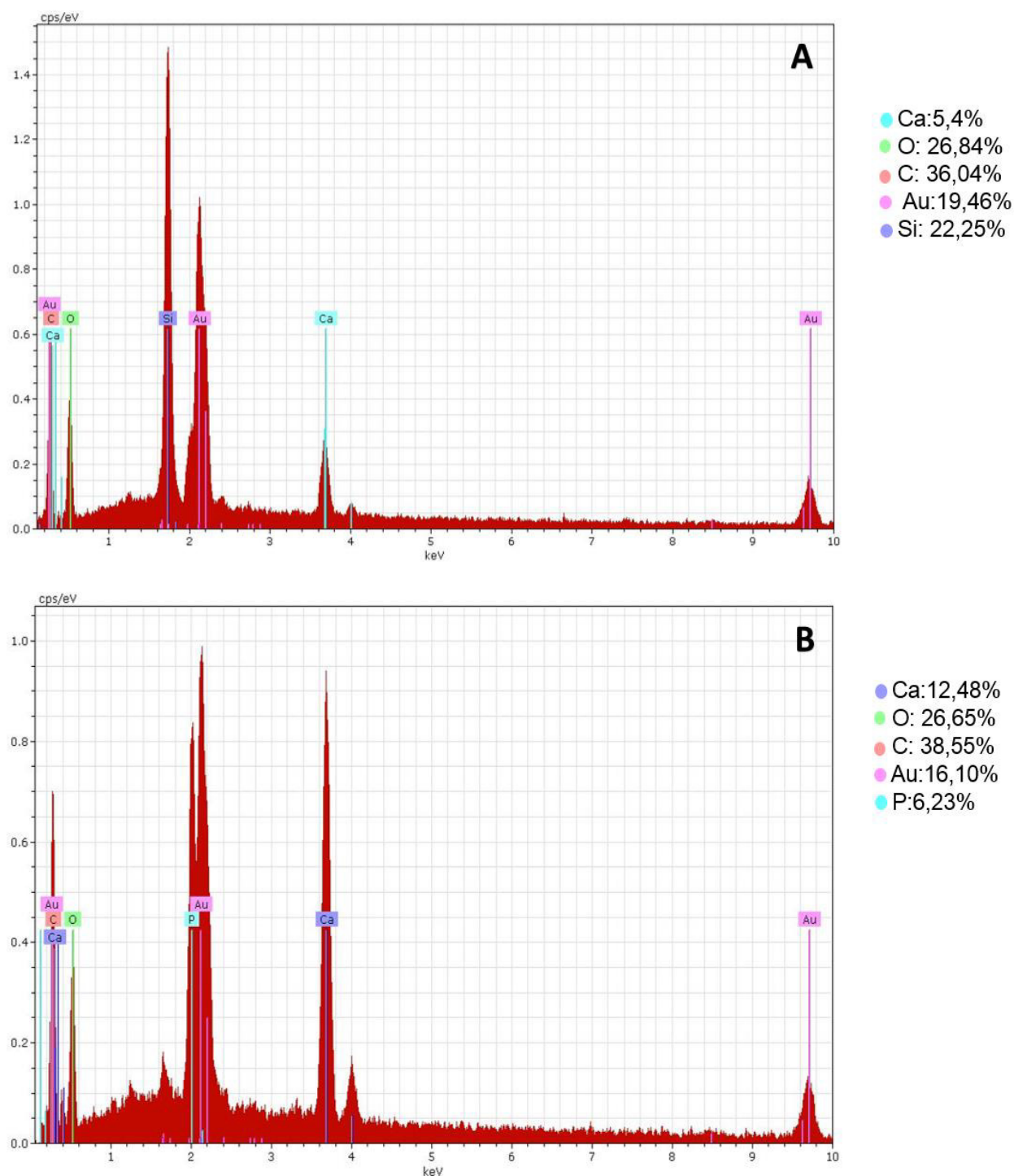


Figura 10: EDS após desafio erosivo do tratamento apenas com Adesivo Universal e Grupo Controle (C): A – Adesivo Universal (AU - Erosão) e B – Controle (C - Erosão).

Observa-se que a dentina tratada apenas com adesivo universal (10A) possuiu principalmente íons de Si devido a composição do sistema adesivo utilizado, seguida pelos íons Ca. Já o grupo controle (10B) apresentou percentual significativo de íons de Ca e P sem sílica em sua composição.

4 DISCUSSÃO

Os adesivos dentinários, por serem materiais resinosos, são capazes de promover a formação de uma camada semi-permeável sobre a estrutura dental. Esta camada auxilia na redução da permeabilidade dentinária, e pode ser empregada para o tratamento de alguns casos de HSD^{3,10,30}. Porém diante dos frequentes desafios ácidos que a dentina é exposta, torna-se importante a procura por tratamentos conservadores e duradouros. Verificou-se, neste estudo, que tanto o uso do sistema adesivo universal sobre a dentina, bem como a sua associação ao Nd:YAG a 60 e 80 mJ, promovem a redução da permeabilidade dentinária, rejeitando a primeira hipótese levantada. A segunda hipótese não foi rejeitada, visto que não foi verificada diferença estatística após submeter os tratamentos propostos ao desafio erosivo.

Uma das opções para a redução da dor na HSD está relacionada à diminuição da passagem de fluidos pelo interior dos túbulos dentinários, de acordo com teoria de Brännstrom et al. (1967)⁴. Por isso alguns estudos^{25,27,28} avaliam a permeabilidade dentinária, por meio da condutância hidráulica, como descrito neste estudo.

O uso dos sistemas adesivos tem sido sugerido para o tratamento da HSD, por produzir uma camada híbrida “ácido-resistente”⁷. Porém, estudos relatam que sua efetividade pode ser reduzida ao longo do tempo,^{28,31,45} conduzindo a necessidade da busca de alternativas que possam melhorar a sua ação sobre a dentina. O uso dos *lasers* de alta potência, destacando-se o Nd:YAG, são apontados na literatura como uma importante alternativa^{3,5,6,19}, devido a formação da camada de “*melting*” sobre a dentina^{20,21}, consequentemente diminuindo a permeabilidade dentinária.

A extensa busca por técnicas e parâmetros ideais para o uso do *laser* Nd:YAG tem sido alvo de estudo em diversos trabalhos^{33,35,40}. Os resultados descritos na literatura impulsionaram o emprego dos parâmetros de 60mJ e 80mJ, onde Silva et al (2013)³² demonstraram que a variação de temperatura pulpar é proporcional a energia de irradiação, sendo nestas condições, prejudicial para a polpa parâmetros de energia acima de 80mJ. Estes achados foram ratificados nos resultados do estudo piloto, que se obteve

trincas/rachaduras com maiores energias, e menores que 60mJ não apresentaram alteração da dentina.

Estudos demonstram que a dentina impregnada com o adesivo não polimerizado associado ao Nd:YAG, pode aumentar a resistência adesiva e a simultânea recristalização dentinária²⁸ influenciando na obtenção de uma camada híbrida favorável^{29,30} e uma consequente diminuição da permeabilidade, o que estimulou a presente investigação.

Os resultados deste estudo, demonstraram que após os tratamentos, houve significativa redução da permeabilidade dentinária quando comparado ao controle, conforme encontrado na literatura.^{7,21,26} Verificou-se por meio de MEV e EDS que a aplicação do sistema adesivo universal (AU) sobre a superfície dentinária forma uma camada resinosa reduzindo a permeabilidade dentinária. Tal camada, reflete a interação do monômero 10-MDP com a hidroxiapatita, pela formação do sal MDP-Ca permitindo a nano-interação química do material e produção de uma camada estável.^{35,40,45} Estes achados corroboram com Sahin et al 2012¹, que observou menores valores de permeabilidade com o uso de adesivos convencionais e autocondicionantes. Entretanto Gregoire et al 2016¹⁷, demonstraram que o adesivo universal conseguia, apenas 50% de vedamento dos túbulos dentinários por MEV.

A utilização dos parâmetros de energia (60 e 80 mJ), não promoveram alterações significativas na permeabilidade, quando comparado a aplicação isolada do adesivo universal. A literatura expõem^{35,36} que a aplicação do Nd:YAG pode tornar a dentina resistente as perdas iônicas que ocorrem no meio bucal⁴⁵, diminuindo o efeito oxidorreduutivo dos íons de Ca e P na dentina. O que pode ser evidenciado pelos elevados valores de Ca e P verificados nos EDS obtidos. Porém, a análise destes resultados torna-se ainda mais desafiadora, pela falta de padronização do uso dos tipos de *laseres*, parâmetros de irradiação e diâmetros de fibra ótica apresentados na literatura.

Entretanto para os sistemas adesivos convencionais, tais como Single Bond (3M/ESPE) Batista et al (2015)¹⁹ observou que o uso do Nd:YAG, no modo não contato a 140 mJ, promoveu elevadas taxas de evaporação dos solventes. Isto ocorreu devido ao efeito fototérmico sobre a superfície irradiada e também a expressiva interação do *laser* com a fase hidrofílica destes materiais, melhorando as propriedades mecânicas da interface adesiva³⁴. Baseado nisso,

esperava-se que os grupos A60 e A80 demonstrassem menores valores de permeabilidade quando comparados ao AU, devido a eficiente hibridização obtida pelo uso combinado do *laser*/adesivo³². Porém, outros fatores, tais como formação de microtrincas, porosidade na dentina³⁹, e ou possível interação do *laser* com a fase hidrofóbica do adesivo podem ter contribuído para obtenção de resultados inferiores aos esperados.

O desafio erosivo proposto por Engle et al (2010)²², não influenciou na permeabilidade dentinária após os tratamentos com sistemas adesivos e sua associação com o Nd:YAG. Assim como proposto por De Moraes et al (2016)²³, onde observaram resistência erosiva dos grupos, também após o tratamento a *laser*.

5 CONCLUSÃO

Dentro limitações deste estudo *in vitro*, concluiu-se que;

- O uso do sistema adesivo universal e a sua associação ao *laser* de Nd:YAG, tanto nos parâmetros de 60 mJ e 80 mJ, proporcionaram redução da permeabilidade dentinária, sem apresentarem diferenças estatísticas entre si.
- O desafio erosivo não influenciou na permeabilidade dentinária dos grupos após os tratamentos propostos.

REFERÊNCIAS

- 1 Sahin C, Cehreli Z C, Yenigul M, Dyangac B. In vitro permeability of etch-and-rinse and self-etch adhesives used for immediate dentin sealing. Dental Materials Journal 2012; 31(3): 401–408. doi:10.4012/dmj.2011-217.
- 2 Spencer P, Jonggu Park QY, Misra A, Bohaty BE. Durable bonds at the adhesive/dentin interface: an impossible mission or simply a moving target? Brazilian dental science. 2012; 15(1):4-18.
- 3 Maeda FA, Fukushima KA, Tedesco TK, Aranha ACC, Raggio DP, Miranda Junior WP, Cesar PF. Effect of erosive challenge and Nd:YAG laser irradiation on bond strength of adhesive systems to dentin. International Journal of Adhesion and Adhesives. 2016, 64: 60–64.
- 4 Brännström M, Linden LA, Aström A. The hydrodynamics of dental tubule and pulp fluid. Caries Research. 1967; 01:310-317.
- 5 Asnaashari M, Moeini M. Effectiveness of Lasers in the Treatment of Dentin Hypersensitivity. J Lasers Med Sci. 2013; 01(04): 1-7.

- 6 Al-Saud L M S, Al-Nahedh H N A. Occluding Effect of Nd:YAG Laser and Desensitizing Agents on Human Dentin. *Operative Dentistry*, 2012, 37(40): 340-355. DOI: 10.2341/10-188-L.
- 7 Patil SA, Naik BD, Suma R. Evaluation of three different agents for in-office treatment of dentinal hypersensitivity: A controlled clinical study. *Indian J Dent Res*. 2015; 26: 38-42.
- 8 Perdigão J, Reis A, Louguercio AD. Dentin adhesion and MMPs: A comprehensive Review. *J Esthet Restor Dent*. 2013; 25(4):219-41. doi: 10.1111/jerd.12016.
- 9 Munck J, Mine A, Poitevin A, Van Ende A, Cardoso MV, Van Landuyt KL, Peumans M, Van Meerbeek B. Meta-analytical review of parameters involved in dentin bonding. *J Dent Res*. 2012; 91(4): 351-7. doi: 10.1177/0022034511431251.
- 10 Memarpour M, Shafiei F, Razmjoei F, Kianimanesh N. Effect of laser preparation on adhesion of a self-adhesive flowable composite resin to primary teeth. *Microsc Res Tech*. 2016; 79(4): 334-41. doi: 10.1002/jemt.22635.
- 11 Cardoso MV, de Almeida Neves A, Mine A, Coutinho E, Van Landuyt K, De Munck J, Van Meerbeek B. Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry. *Aust Dent J*. 2011; 56 (1): 31-44. doi: 10.1111/j.1834-7819.2011.01294.x.
- 12 Marchesi G, Frassetto A, Mazzoni A, Apolonio F, Diolosa M, Cadenaro M, Lenarda RD, Pashley DH, Tay F, Breschi L. Adhesive performance of a multi-mode adhesive system: 1-Year in vitro study. *journal of dentistry*. 2014; 63: 603 – 612.
- 13 Wagner A, Wendler M, Petschelt A, Belli R, Lohbauer U. Bonding performance of universal adhesives in different etching modes. *journal of dentistry*, 2014; 42: 800 – 800.
- 14 Muñoz MA, Luque I, Hass V, Reis A, Loguercio AD, Bombarda NH. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. *J Dent*. 2013; 41 (5): 404-11.
- 15 Fukegawa D, Hayakawa S, Yoshida Y, Suzuki K, Osaka A, Van Meerbeek B. Chemical interaction of phosphoric acid ester with hydroxyapatite. *J Dent Res*. 2006; 85: 941-944.
- 16 Fujita K, Ma S, Aida M, Maeda T, Ikemi T, Hirata M, Nishiyama N. Effect of reacted acidic monomer with calcium on bonding performance. *J Dent Res*. 2011; 90: 607-612.
- 17 Grégoire G, Sharrock P, Prigent Y. Performance of a universal adhesive on etched and non-etched surfaces: Do the results match the expectations? *Materials Science and Engineering*. 2016; 66(C): 199–205.
- 18 Heintze SD. Clinical relevance of tests on bond strength, microleakage and marginal adaptation. *Dent Mater*. 2013 Jan;29(1):59-84.
- 19 Batista G R, Barcellos D C, Torres C R G, Damião Á J, Oliveira H P M, Gonçalves S E P. Effect of Nd:YAG laser on the solvent evaporation of adhesive systems. *The international Journal of esthetic dentistry*. 2015. 10(4): 558-609

- 20 Lopes, A.O.; Aranha, A.C.C. Comparative Evaluation of the Effects of Nd:YAG Laser and a Desensitizer Agent on the Treatment of Dentin Hypersensitivity: A Clinical Study. *Photomedicine and Laser Surgery*. N 03, V 31, 2013.
- 21 Esteves S R M S, Huhtala M F R L, Gomes A P M, Ye G, Spencer P, Golçalves S E D P. Longitudinal Effect of Surface Treatments Modified by NaOCl-Induced Deproteinization and Nd:YAG Laser on Dentin Permeability. *Photomedicine and Laser Surgery* 2016, 34(2):68–75. DOI: 10.1089/pho.2015.3977.
- 22 Engle K, Hara AT, Matis B, Eckert GJ, Zero DT. Erosion and abrasion of enamel and dentin associated with at-home bleaching: an in vitro study. *J Am Dent Assoc*. 2010 May;141(5):546-51.
- 23 De Moraes MCD, Freitas AZ, Aranha ACC. Progression of erosive lesions after Nd:YAG laser and fluoride using optical coherence tomography. *Lasers Med Sci*. 2016, pp:1-8.
- 24 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*. N 26, V 05, pgs: 397-403. 2012.
- 25 Thanatvarakorn O, Nakashima S, Sadr A, Prasansuttioporn T, Ikeda M, Tagami J. In vitro evaluation of dentinal hydraulic conductance and tubule sealing by a novel calcium-phosphate desensitizer. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2013;101(2):303-9.
- 26 Yu X, Liang B, Jin X, Fu B, Hannig M. Comparative in vivo study on the desensitizing efficacy of dentin desensitizers and one-bottle self-etching adhesives. *Oper Dent*. 2010 May-Jun;35(3):279-86.
- 27 Greenhill JD, Pashley DH. The Effects of Desensitizing Agents on the Hydraulic Conductance of Human Dentin in vitro. *J Dent Res* 60(3):686-698, March 1981.
- 28 Kolker JL; Vargasb AM; Armstrongc SR; Dawsond DV. Effect of Desensitizing Agents on Dentin Permeability and Dentin Tubule Occlusion. *J Adhes Dent* 2002; 4: 211–221.
- 29 Gonçalves SEP, Damiao AJ, Araujo MAM. Dentin bond strength: influence of laser irradiation, acid etching and hypermineralization. *J Clin Laser Med Surg*. 1999; 17(2):77-85.
- 30 Arisu HD, Dalkýhc E, Tasxlý MBU. Effect of Desensitizing Agents on the Microtensile Bond Strength of a Two-step Self-etch Adhesive to Dentin. *Operative Dentistry*, 2011, 36-2, 153-161.
- 31 Marimoto AK, Cunha LA, Yui KCK, Huhtala MFRL, Barcellos DC, Prakki A, Gonçalves SEP. Influence of Nd:YAG Laser on the Bond Strength of Self-etching and Conventional Adhesive Systems to Dental Hard Tissues. *Operative Dentistry*, 2013, (38)4: 447-455.
- 32 Silva T M, Gonçalves L L, Fonseca BM, Esteves S R M S, Barcellos D C, Damião A J, Gonçalves S E P. Influence of Nd:YAG laser on intrapulpal

temperature and bond strength of human dentin under simulated pulpal pressure. *Lasers Med Sci* (2016) 31:49–56 DOI 10.1007/s10103-015-1827-1.

33 Chigaa S, Toroa CVT, Lepria TP, Turssib CP, Coluccia V, Coronaa SAM. Combined effect of fluoride varnish to Er:YAG or Nd:YAG laser on permeability of eroded root dentine. *Archives of Oral Biology* 64 (2016) 24–27.

34 Reis A, Klein-Junior CA, Coelho de Souza FH, Stanislawczuk R, Loguercio AD. The Use of Warm Air Stream for Solvent Evaporation: Effects on the Durability of Resin-dentin Bonds. *Operative Dentistry*, 2010, 35(1): 29-36.

35 Saluja M, Grover HR, Pankaj C. Comparative Morphologic Evaluation and Occluding Effectiveness of Nd: YAG, CO2 and Diode Lasers on Exposed Human Dentinal Tubules: An Invitro SEM Study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2016 Jul, Vol-10(7): ZC66-ZC70.

36 Topçuoğlu HS, Köseoğlu M. Effect of Er:YAG and Nd:YAG lasers on the mineral content of root canal dentin. *Lasers Med Sci* (2015) 30:809–813.

37 Kuwana, ADS. Influência do laser de Nd:YAG na qualidade da hibridização da dentina bovina empregando sistema adesivo convencional e autocondicionante: análise em MEV. (Tese) UNESP - *São José dos Campos*; s.n; 2008. 189 p.

38 Chersoni S, Suppa P, Grandini S, Goracci C, Monticelli F, Yiu C, Huang C, Prati C, Breschi L, Ferrari M, Pashley DH, Tay FR. In vivo and in vitro permeability of one-step self-etch adhesives. *J Dent Res*. 2004 Jun;83(6):459-64.

39 Xiao S, Liang K, Liu H, Zhang H, Yang H, Guo S, Ding Y. Effect of Water-Cooled Nd:YAG Laser on Dentinal Tubule Occlusion In Vitro. *Photomed_Laser Surg*. Nov. 2016, 3.

REFERÊNCIAS GERAIS

- 1 Jena A, Shashirekha G. Comparison of efficacy of three different desensitizing agents for in-office relief of dentin hypersensitivity: A 4 weeks clinical study. *J Conserv Dent* 2015;18:389-93.
- 2 Haneet R K, Vandana L K. Prevalence of dentinal hypersensitivity and study of associated factors: a cross-sectional study based on the general dental population of Davangere, Karnataka, India. *International Dental Journal* 2016; 66: 49–57.
- 3 Lin P-Y, Cheng Y-W, Chu C-Y, Chien K-L, Lin C-P, Tu Y-K. In-office treatment for dentin hypersensitivity: a systematic review and network meta-analysis. *J Clin Periodontol* 2013; 40: 53–64. doi: 10.1111/jcpe.12011.
- 4 Patil SA, Naik BD, Suma R. Evaluation of three different agents for in-office treatment of dentinal hypersensitivity: A controlled clinical study. *Indian J Dent Res* 2015;26:38-42.
- 5 Palazon M T, Scaramucci T, Aranha A C C, Prates R A, Lachowsk K M, Hanashiro F S, Youssef M N. Immediate and Short-Term Effects of In-Office Desensitizing Treatments for Dentinal Tubule Occlusion. *Photomedicine and Laser Surgery* 2013; 31, 6:274–282.
- 6 Esteves S R M S, Huhtala M F R L, Gomes A P M, Ye G, Spencer P, Golçalves S E D P. Longitudinal Effect of Surface Treatments Modified by NaOCl-Induced Deproteinization and Nd:YAG Laser on Dentin Permeability. *Photomedicine and Laser Surgery* 2016, 34(2):68–75. DOI: 10.1089/pho.2015.3977.
- 7 Orucoglu, H. e Belli, S. Avaliação do efeito de quatro adesivos autocondicionantes sobre a permeabilidade da dentina. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* . 2009 ; 90 : 110-115.
- 8 Batista G R, Barcellos D C, Torres C R G, Damião Á J, Oliveira H P M, Gonçalves S E P. Effect of Nd:YAG laser on the solvent evaporation of adhesive systems. *THE INTERNATIONAL JOURNAL OF ESTHETIC DENTISTRY*. 2015. 10(4): 558-609.
- 9 Muñoz MA, Luque I, Hass V, Reis A, Loguercio AD, Bombarda NH. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. *J Dent*. v. 41, n. 5, p. 404-11, 2013.
- 10 Farmakis E T R, Beer F, Kozyrakis K, Pantazis N, Moritz A. The Influence of Different Power Settings of Nd:YAG Laser Irradiation, Bioglass and Combination to the Occlusion of Dentinal Tubules. *Photomedicine and Laser Surgery* 2013, 31(2): 54–58.
- 11 Lynch E, Brauer D S, Karpukhina N, Gillam DG, Hill R G. Multi-component bioactive glasses of varying fluoride content for treating dentin hypersensitivity. *dental materials* 2012, 28:168–178.
- 12 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*. N 26, V 05, pgs: 397-403. 2012.
- 13 Carvalho C N, Martinelli J R, Bauer J, Haapasalo m, Shen Y, Bradaschia-Correa V, Manso A P, Gavini G. Micropush-out dentine bond strength of a new gutta-percha and niobium phosphate glass composite. *International Endodontic Journal*, 2015, 48, 451–459.

- 14 Carvalho EM, Lima DM, Carvalho CN, Loguercio AD, Martinelli JR, Bauer J. Effect of airborne-particle abrasion on dentin with experimental niobophosphate bioactive glass on the microtensile bond strength of resin cements. *J Prosthodont Res*. Abril de 2015;59(2):129-35. doi: 10.1016/j.jpor.2015.01.001.
- 15 Elmadjian, T, Lopez T C C, Diniz I M A, Borges R, Marchi J, Marques M M. Hipersensibilidade dentinária: proposta de tratamento à base de pó biovidro em diferentes veículos para aplicação na dentina. Estudo morfológico in vitro. *Clin Lab Res Den* 2015; 21 (1): 19-28.
- 16 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 Apr 8. doi: 10.1002/sca.21309.
- 17 Al-Omari WM, Palamara JE. The effect of Nd:YAG and Er,Cr:YSGG lasers on the microhardness of human dentin. *Lasers Med Sci*. 2013 Jan;28(1):151-6. doi: 10.1007/s10103-012-1094-3.
- 18 Lopes A O, Aranha A C C. Comparative Evaluation of the Effects of Nd:YAG Laser and a Desensitizer Agent on the Treatment of Dentin Hypersensitivity: A Clinical Study. *Photomedicine and Laser Surgery*, 2013;31 (3): 132–138. DOI: 10.1089/pho.2012.3386.
- 19 Curtis AR, West NX, Su B. Synthesis of nanobioglass and formation of apatite rods to occlude exposed dentine tubules and eliminate hypersensitivity. *Acta Biomater*. 2010 Sep;6(9):3740-6. doi: 10.1016/j.actbio.2010.02.045.
- 20 Bakry AS, Takahashi H, Otsuki M, Sadr A, Yamashita K, Tagami J. CO2 laser improves 45S5 bioglass interaction with dentin. *J Dent Res*. 2011; 90(2):246-50. doi: 10.1177/0022034510387793.
- 21 Hench LL e Jones JR. Bioactive Glasses: Frontiers and Challenges. *Front. Bioeng. Biotechnol*. 2015. 3:194. doi: 10.3389/fbioe.2015.00194.
- 22 Silva T M, Gonçalves L L, Fonseca BM, Esteves S R M S, Barcellos D C, Damião A J, Gonçalves S E P. Influence of Nd:YAG laser on intrapulpal temperature and bond strength of human dentin under simulated pulpal pressure. *Lasers Med Sci* (2016) 31:49–56 DOI 10.1007/s10103-015-1827-1.

APÊNDICES

MATERIAL E MÉTODOS DO CAPÍTULO I

Cálculo Amostral:

Após a execução do teste piloto, o tamanho da amostra foi calculado adotando-se alfa igual a 5%, poder de teste do Kruskal Wallis 80%. Chegou-se a um tamanho (n) de 10 elementos dentais para cada grupo experimental (PASS 11. NCSS, LLC, Kaysville, Utah, USA).

Confecção dos espécimes

Cinquenta incisivos bovinos recém extraídos com idades entre 2 e 4 anos, foram selecionados. Os dentes foram limpos e armazenados em solução de timol a 0,1 % durante o preparo dos espécimes de dentina, período este que não ultrapassou 6 meses.

Os dentes foram seccionados transversalmente ao seu longo eixo, abaixo da junção cimento-esmalte para remoção das raízes, utilizando um disco diamantado (Dremel, Racine, Wisconsin, Estados Unidos), acoplado a um torno de alta rotação (Nevoni, São Paulo, Brasil). As polpas foram extirpadas com o auxílio de limas endodônticas e a câmara pulpar foi irrigada com água deionizada para remoção de detritos. (Figura 10)



Figura 10: Separação coroa-raiz em torno de alta rotação

As coroas dentais foram fixadas em uma base metálica posicionadora que possibilitou o corte de amostras circulares de esmalte e dentina utilizando a máquina (Micro Mill, Washington, EUA). O corte iniciou-se pela superfície vestibular, empregando-se uma broca trefina com 6 mm de diâmetro interno coberta por partículas de diamante, para a obtenção das amostras circulares. (Figura 11)

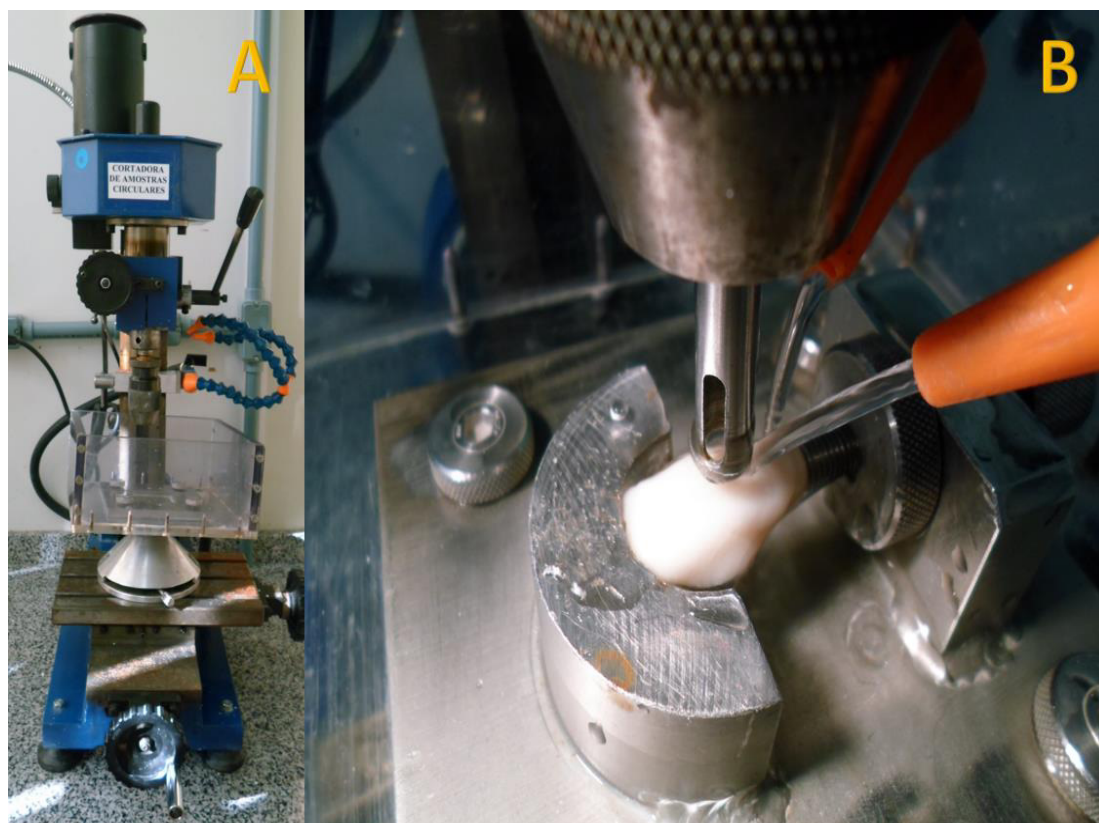


Figura 11: A- Máquina de corte circular (Micro Mill – Washington, EUA) e B - Obtenção da amostra circular através de uma broca trefina diamantada com irrigação.

Posteriormente, os espécimes foram posicionados em um dispositivo metálico, com uma abertura circular central de 6 mm de diâmetro, para realização do polimento. Inicialmente foi realizado o desgaste da base do espécime posicionando-o com o lado do esmalte voltado para dentro do dispositivo. O conjunto foi posicionado sobre a plataforma giratória da politriz circular (DP-10, Panambra, São Paulo, SP, Brasil), sendo utilizada lixa de P1200 (Extec Corp., Enfield, Connecticut, USA), para a remoção dos excessos da dentina pulpar e marcação desta face. Em seguida o espécime foi posicionado no mesmo dispositivo com a face de esmalte voltada para a superfície externa

do dispositivo, para realizar a remoção do esmalte, sendo adotado o limite de exposição da face de esmalte a interface dentina/esmalte, onde o conjunto foi novamente posicionado sobre a plataforma da politriz utilizando uma lixa d'água 120.

A espessura contida no orifício do dispositivo metálico foi padronizada à 1.10mm com o auxílio do paquímetro digital (absolute digimatic, modelo CD-6"CX-B, Mitutoyo Sul Americana Ltda. São Paulo, Brasil), onde o espécime foi polido utilizando a lixa P1200 durante 30 seg sob refrigeração constante com água até formar uma superfície plana visível composta pelo dispositivo e o espécime adaptado em seu orifício, em seguida realizou-se a marcação definitiva no dispositivo para 1mm onde foi utilizado as lixas de carbeto de silício de granulação P2400 e P4000 (Extec Corp., Enfield, Connecticut, USA), sob refrigeração com água por 60 s e 2 min, respectivamente, obtendo desta forma discos de dentina com 1mm de espessura (Figura 12).

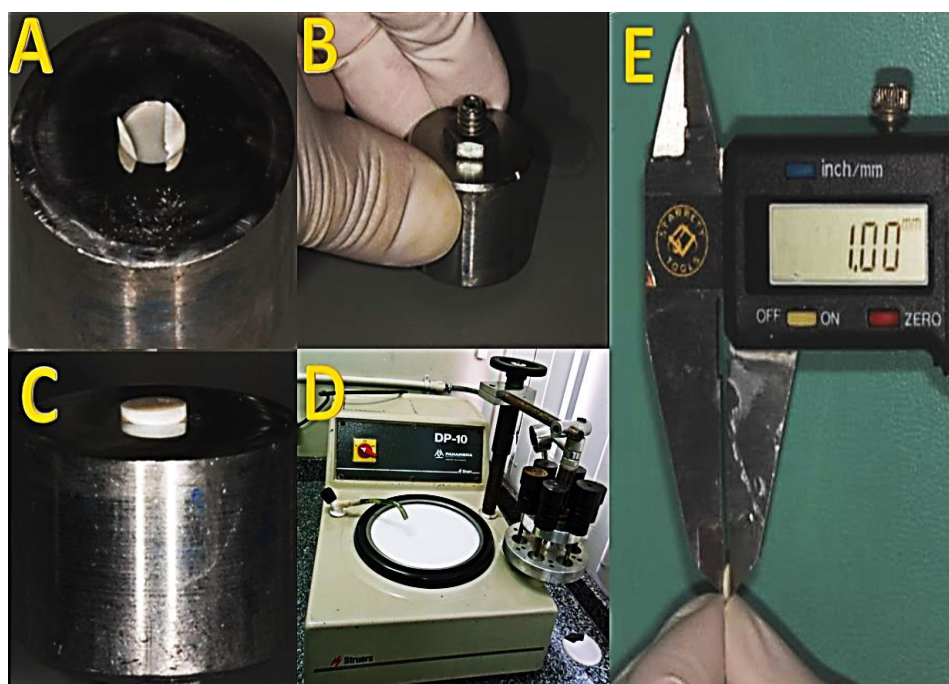


Figura 12: A - Dentina pulpar irregular para fora do orifício do dispositivo para ser desgastada. B - Dentina sendo desgastada com uma lixa acoplada a uma politriz circular. C - Após ajuste da profundidade a 1 mm amostra pronta para desgaste do esmalte. D - Politriz circular (DP-10, Panambra, São Paulo, SP, Brasil). E – Espessura final do espécime sendo medida por meio de um paquímetro digital (absolute digimatic, modelo CD-6"CX-B, Mitutoyo Sul Americana Ltda. São Paulo, Brasil)

Para a mensuração da permeabilidade com *smear layer*, foi aplicado ácido cítrico a 0,3% (pH natural) na face pulpar por 30 seg de cada espécime. Já para a leitura com permeabilidade máxima foi aplicado o mesmo ácido pelo mesmo tempo na face vestibular.

Permeabilidade dentinária

Foi utilizado o modelo de câmara dividida (*split chamber*), no qual o lado pulpar do disco de dentina foi colocado em contato com um fluido de perfusão sob pressão, e o outro lado em contato com o ambiente em pressão atmosférica (GREENHILL, PASHLEY, 1981; SANTIAGO et al., 2006; CARVALHO et al., 2012; THANATVARAKON et al., 2013; ESTEVES et al 2016).

Para medição da permeabilidade foi utilizado o aparelho THD-02b (Odeme Equipamentos Médicos e Odontológicos Ltda, Joaçaba, SC, Brasil). O fluido de perfusão que sai do reservatório e passa através de um tubo capilar, seguindo até a câmara de perfusão e após o preenchimento de todo o sistema com o fluido de perfusão, uma pequena bolha de ar foi inserida através da abertura da válvula da câmara de ar, penetrando no interior do tubo capilar. (Figura 04).



Figura 13: Máquina de permeabilidade

A taxa de movimento do fluido através do disco de dentina foi medida seguindo-se o deslocamento linear da bolha de ar dentro do tubo capilar, através do qual passa a água deionizada ultrapura, em um tempo pré-determinado de 2

min, utilizando um paquímetro digital adaptado na própria máquina. (THANATVARAKORN et al. 2013; ESTEVES et al 2016) (Figura 14).

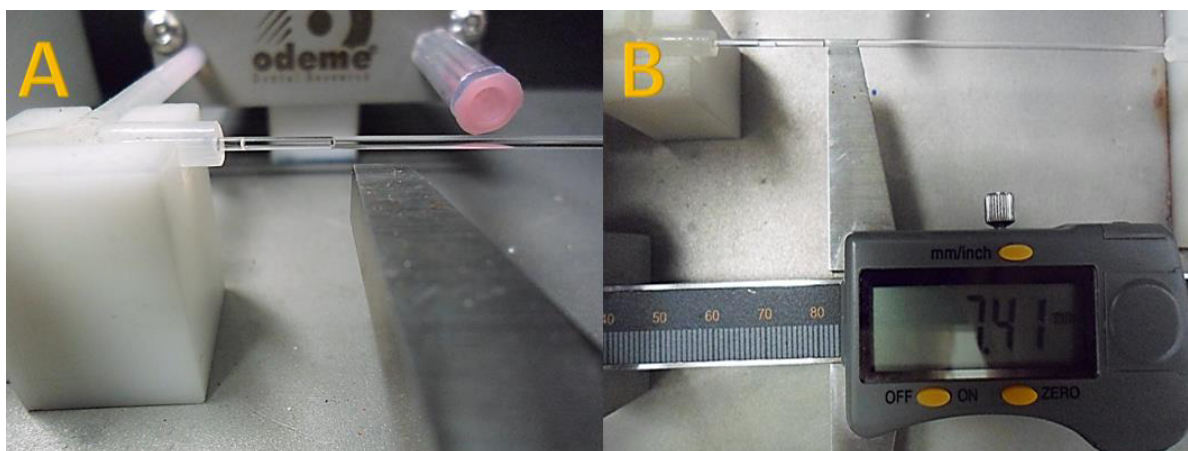


Figura 14: A- Bolha de ar inserida no capilar de vidro. B - Paquímetro digital, o qual mede a taxa de movimento do fluido através da dentina pelo deslocamento linear da bolha de ar

A solução de perfusão utilizada foi água ultrapura (THANATVARAKORN et al., 2013; ESTEVES et al 2016). Para o cálculo do fluxo de fluido através do disco da dentina, foi utilizado a taxa de filtração (**Q**) em mL / min que significa o volume da solução que flui através dos túbulos dentinários, representada pela equação:

$$Q = (LD \times PC) / T$$
, onde, **LD** corresponde ao deslocamento linear em mm da bolha, **PC** à constante de proporcionalidade calculadas pela divisão do volume interno de todo o seu comprimento capilar pelo **T** (tempo) (ESTEVES et al 2016; RIZZANTE et al 2016).

A pressão utilizada foi de 10psi (THANATVARAKORN et al., 2013; ESTEVES et al 2016), e, para cada leitura foi utilizado um tempo de filtração de 2 minutos (THANATVARAKORN et al., 2013; ESTEVES et al 2016). Quatro leituras foram realizadas em cada disco; 1º Inicial- com a presença da *smear layer*, 2º após o condicionamento da aplicação do ácido (permeabilidade máxima), 3º após a aplicação da técnica utilizada para obliteração dos túbulos dentinários e a 4º após o desafio erosivo. Obteve-se, assim, quatro valores de **LD** em que a média foi utilizada para calcular a taxa de filtração (**Q**) (Esteves et al 2016) (Figura 15).

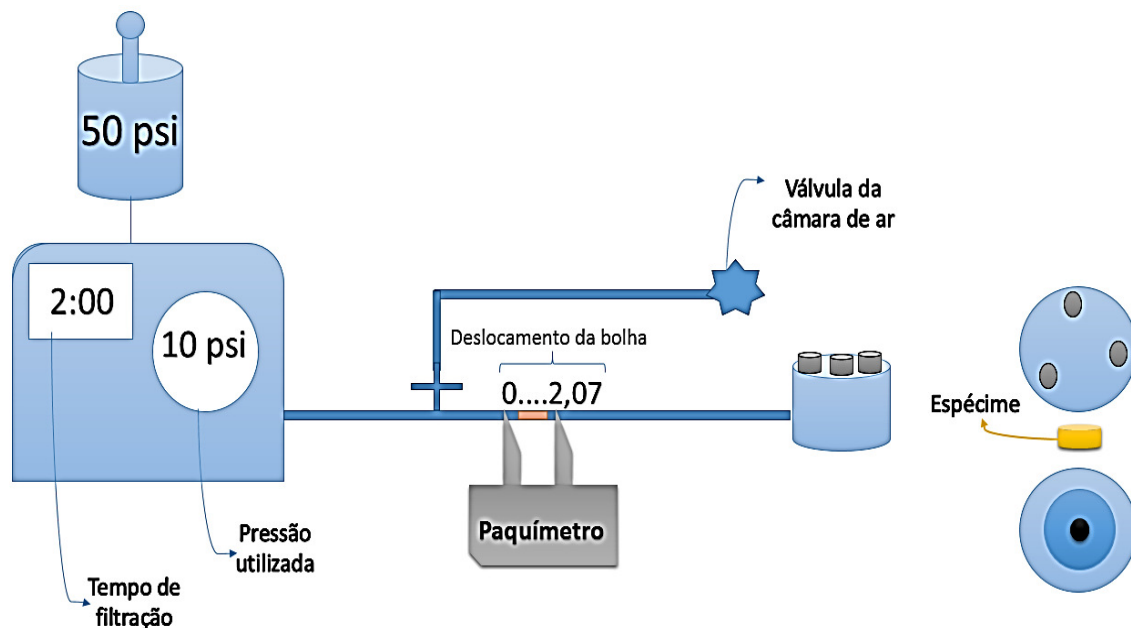


Figura 15: Esquema de funcionamento da máquina de permeabilidade

A permeabilidade dentinária é expressa em valores de condutância hidráulica (**Lp**) (CARVALHO et al., 2012; THANATVARAKORN et al., 2013), onde **Lp** = $Q / A (P1 - P2)$, sendo **Lp** expressa em $ul/cm^{-2}.min^{-1}, cmH_2O^{-1}$,

Q = taxa de filtração em mL/min^{-1} ,

A=área da superfície do espécime em cm^2 ,

P1 = pressão hidrostática da solução dentro da câmara em cmH_2O ,

P2 = pressão atmosférica em cmH_2O . O **LD** da bolha é variável, enquanto que o volume e o diâmetro interno do tubo capilar, a pressão hidrostática, área superficial e tempo são constantes (Esteves et al 2016).

Após a análise de permeabilidade máxima os espécimes foram distribuídos de acordo com os escores obtidos de forma a equiparar a disposição entre os grupos.

Permeabilidade dentinária inicial ou permeabilidade mínima

A medição da permeabilidade inicial foi realizada com a presença da *smear layer* do lado vestibular formada por meio do desgaste do lado pulpar com lixa P1200 por 30 seg sob constante refrigeração na politriz circular (ESTEVES et al 2016) e aplicação da solução de ácido cítrico a 0,3% por 30 seg (PALAZON

et al 2013). Para uma comparação futura dos tratamentos com as condições normais do substrato dental preparado.

O ácido cítrico foi escolhido pelo fato de ter promovido maior similaridade com a dentina sensível em estudo piloto realizado previamente ao início da fase experimental e também por ser a substância erosiva mais frequentemente encontrada nas dietas alimentares atuais.

Para garantir que o ácido cítrico permanecesse somente na superfície dentinária pulpar, o espécime foi posicionado em uma matriz de silicone com as dimensões exatas da amostra. A seguir foram lavados abundantemente com jatos de ar e água e a *smear layer* do lado externo foi mantida, permitindo assim o cálculo da condutância hidráulica inicial.

Permeabilidade máxima

Para simular a abertura total dos túbulos dentinários, a *smear layer* das superfícies dentinárias externas, voltadas para o esmalte, foi removida usando ácido cítrico a 0,3%.

Após a abertura dos túbulos da superfície vestibular, foi realizada a segunda leitura da permeabilidade dentinária em cada espécime por meio do aparelho de permeabilidade, conforme descrito anteriormente. Assim, foi obtido o valor da condutância hidráulica máxima para cada amostra, representando a abertura total dos túbulos dentinários.

Randomização e disposição dos espécimes

Após a leitura da permeabilidade máxima dos espécimes, estes foram organizados em ordem crescente de permeabilidade e assim foram randomizados entre os grupos, contrabalanceando os espécimes dentro dos grupos experimentais.

Considerando-se, que a permeabilidade é muito variável, pois os diâmetros dos túbulos dentinários variam de acordo com o dente e o extrato dentinário analisado.

Os espécimes foram divididos de forma estratificada em 5 grupos experimentais (n=10) de modo que os grupos tivessem médias semelhantes de

condutância hidráulica e fossem mais homogêneos em termos de permeabilidade dentinária.

Distribuição dos grupos experimentais:

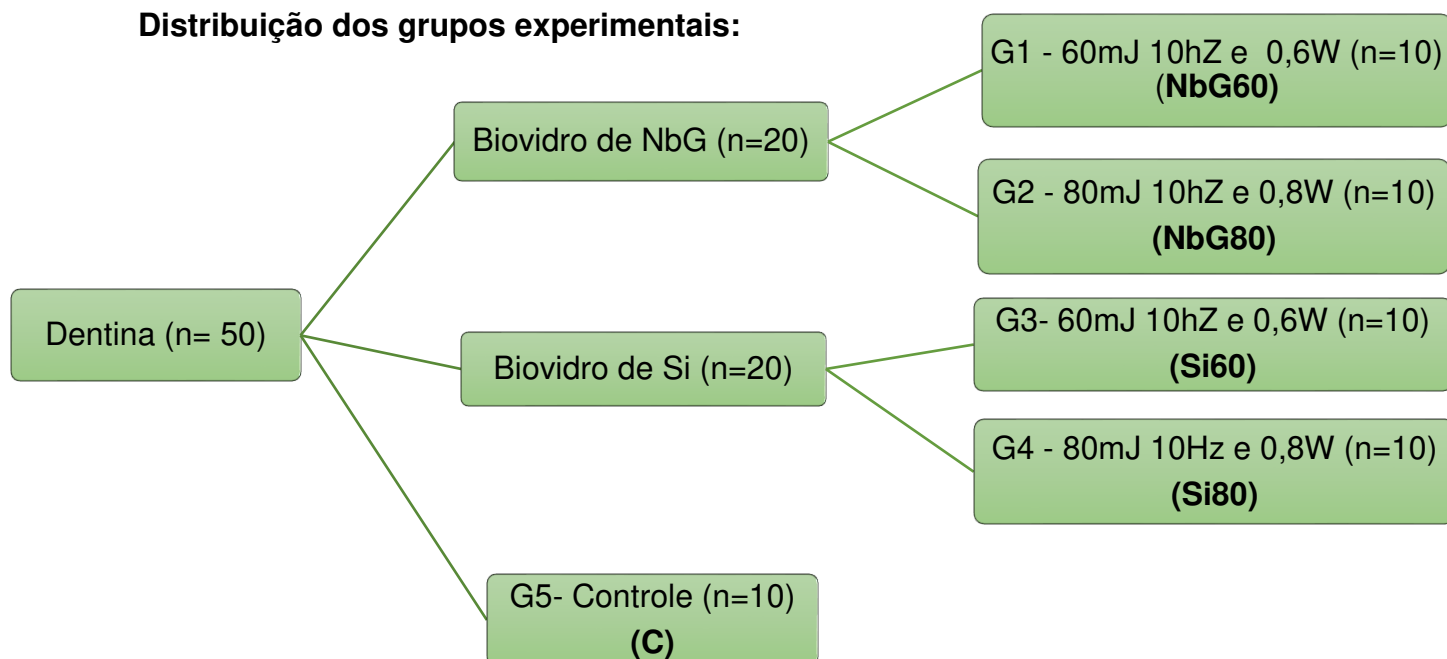


Figura 16: Delineamento experimental da pesquisa

Obtenção dos biovidros utilizados

Foram utilizados dois tipos de vidros bioativos: um comercial, chamado Bioglass 45S5 Sylc (OSspray Ltda, Londres, Reino Unido) e um experimental, denominado Niobofosfato (NbG), Descritos na Tabela 01, obtido por meio da fusão de misturas de hidróxido de amônia di-básico (PA- Casa Americana, São Paulo, SP, Brasil), óxido de nióbio (PA – Companhia Brasileira de Mineração e Metalurgia, Araxá, MG, Brasil), óxido de cálcio (PA- Casa Americana, São Paulo, SP, Brasil) e carbonato de sódio (PA- Casa Americana, São Paulo, SP, Brasil) em fornos elétricos.

Tabela 01 - Composição em peso (%) dos vidros 45S5 e Niobofosfato (NbG).

VIDROS	45S5	NbG
COMPOSIÇÃO	SiO ₂ : 45%	Nb ₂ O ₅ : 41.8%
	CaO: 24.4%	P ₂ O ₅ : 32.5%
	Na ₂ O: 24.6%	CaO: 18.8%
	P ₂ O ₅ : 6%	Al ₂ O ₃ : 2.7%
		Na ₂ O: 1.2%

Após a pesagem, os compostos químicos foram misturados a seco com um misturador tipo túrbula por 1h. em seguida, a mistura foi colocada em um cadinho de alumina e aquecida em forno elétrico (Lindberg, Blue M, I1, Estados Unidos). A taxa de aquecimento foi 10°C/min até atingir a temperatura de 500°C, mantendo-a constante por 30 min em ar para eliminação de produtos voláteis.

A temperatura foi então elevada a 1400°C para a completa fusão dos precursores, permanecendo nesta temperatura por 20 min para homogeneização e afinagem, um procedimento realizado para eliminação de bolhas provenientes da decomposição dos materiais precursores.

O líquido formado foi vertido em molde de aço inoxidável e resfriado à temperatura ambiente. Após o resfriamento completo, o vidro foi moído em sistema de moagem com bola de aço (Pulverisette, Fritsch, Alemanha) durante 2h. Amostras do pó foram submetidas à análise de espectroscopia de raio-X de energia dispersiva (EDX-720, Shimadzu, Tóquio, Japão) para verificar a composição do material e análise de granulometria via laser (CilasModel, 1064, Compagnie Industrielle des Lasers, Orleans, França).

A separação dessas partículas foi realizada pela passagem do pó por peneiras de Anelise granulométrica (Tamis) de tela metálica com auxílio de um agitador (Bertel, São Paulo, Brasil).

Tratamento da superfície

Antes da aplicação dos tratamentos nas superfícies dos espécimes, a área que não passava o fluido foi protegida utilizando-se um filme plástico adesivo de cor preta (Contact, Vulcan Irajá, Rio de Janeiro, Brasil), o qual recebeu um orifício com 2 mm de diâmetro empregando um alicate perfurador. Dessa forma, apenas a dentina a ser tratada ficou exposta, evitando as irregularidades na superfície do espécime decorrentes dos tratamentos.

Manipulação dos biovidros e forma de aplicação

As partículas tanto do 45S5 quanto do NbG foram misturadas na quantidade de 0,02 g com água destilada (10µL) antes da aplicação na superfície

do disco de dentina, dentro de um tubo de 1,5 mL (microtubos seguro-lock, Eppendorf, Brasil, São Paulo, SP, Brasil) com o auxílio de uma pipeta automática (LM10, Labmate soft, HTL Lab Solutions, Daniszew, Polônia) (Tirapelli et al 2011).

A suspensão foi aplicada sob a superfície vestibular do disco de dentina forma ativa com auxílio de micro-aplicador (KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil) por 20 segundos. (Figura 17)

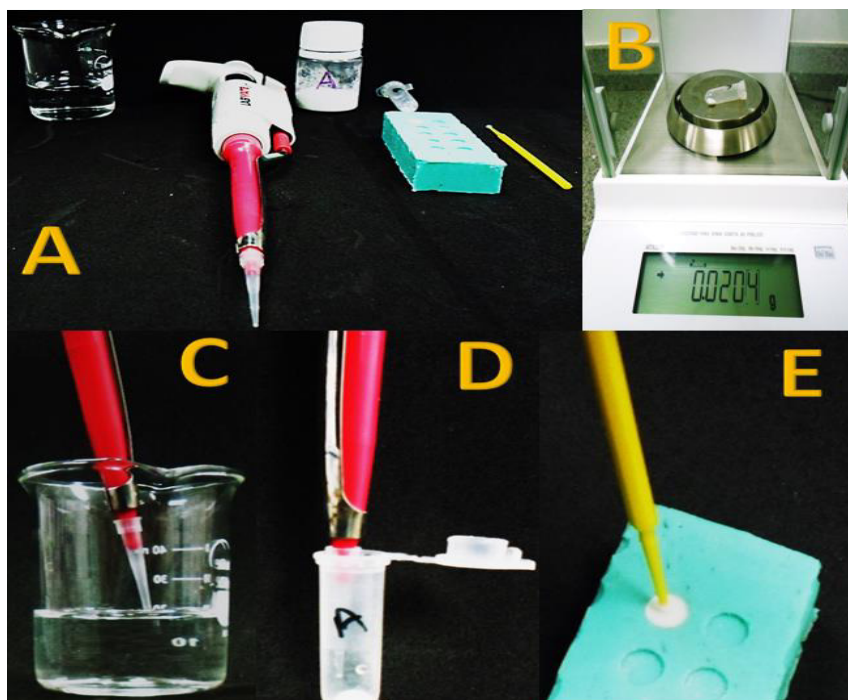


Figura 17: A - Materiais utilizados para a confecção e aplicação da suspensão dos biovidros. B – Pesagem de 0,02g do pó dos biovidros. C – Medição de 10 μ L com a pipeta automática. D – Confecção da suspensão dos biovidros. E – Aplicação da suspensão sob a superfície do disco de dentina

Irradiação com *laser* de Nd:YAG

As superfícies dos espécimes foram irradiadas com laser de Nd:YAG (*Neodymium: Yttrium-Aluminium- Garnet*), utilizando o aparelho Pulse Master 600 IQ (American Dental Technologies, EUA), emitindo um comprimento de onda de 1064nm, empregando uma fibra óptica de 400 μ m, após a aplicação dos biovidros.

Foi utilizada a frequência de 10 Hz, com parâmetros de energia de 60mJ/pulso, potência de 0,6 W e 80mJ/pulso, potência de 0,8 W, na forma contato. Foi executada uma varredura da superfície, em quatro direções espaçadas de 45° (vertical, horizontal e duas transversais), por 40s com a fibra óptica posicionada perpendicularmente à superfície de dentina, para promover uma irradiação homogênea (Figura 18).

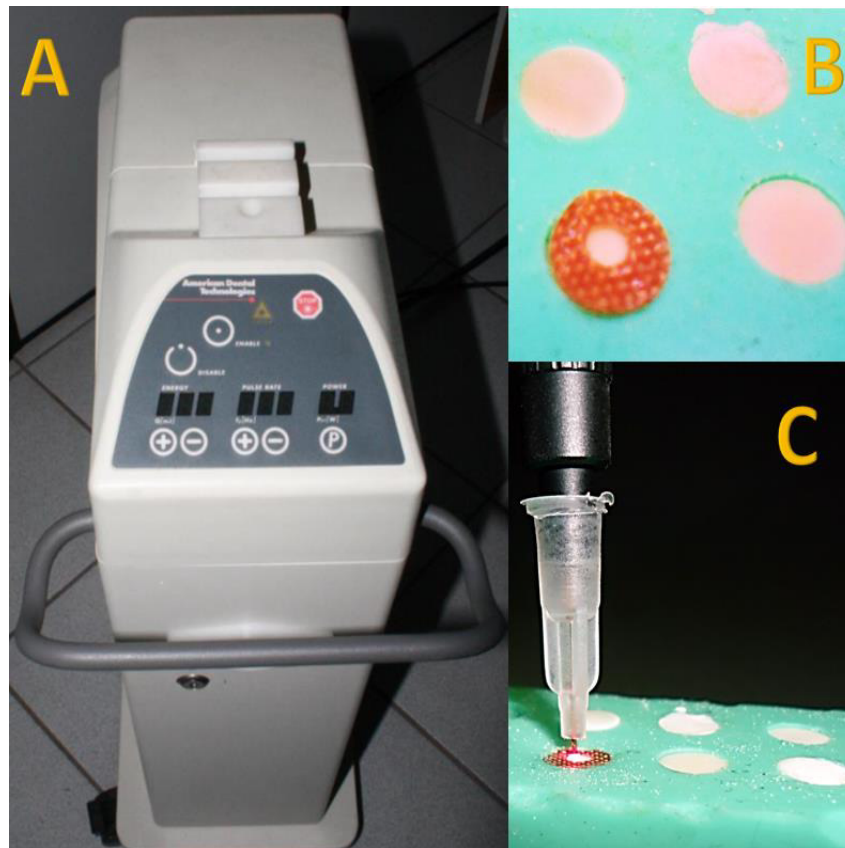


Figura 18: A – Laser de Nd:YAG; B – Aplicação da do filme plástico adesivo para seladoras (Contact, Vulcan Irajá, Rio de Janeiro, Brasil), que recebeu um orifício com 2 mm de diâmetro empregando um alicate perfurador. C – Aplicação do laser de Nd:YAG.

Calculo da permeabilidade em % após cada momento

A permeabilidade de cada amostra nos 4 momentos da leitura, foi calculada proporcionalmente como um percentual relacionado à condutância hidráulica máxima, obtida após a abertura dos túbulos (permeabilidade máxima), a qual foi considerada uma permeabilidade de 100% (CARVALHO et al., 2012; THANATVARAKORN et al., 2013; ESTEVES et al 2016). A seguinte fórmula foi

utilizada: $P\% = \frac{(Lp \cdot 100)}{Lp_{\text{Max}}}$ $P\%$ = Percentual de permeabilidade em relação ao valor máximo; Lp = Condutância hidráulica em cada momento (Lp_{min} = com a presença de *smear layer*; Lp_{trat} = após o tratamento; Lp_{acid} = após o desafio erosivo); Lp_{max} = condutância hidráulica máxima com os túbulos abertos. Assim calculou-se um $p\%$ para cada amostra. E com os valores foram realizados os testes estatísticos.

Desafio erosivo

Após o tratamento das amostras, foi realizado o desafio erosivo, por meio de quatro ciclos executados diariamente durante cinco dias. Sendo cada ciclo constituído pela imersão dos espécimes, colocados em matriz de silicone com a face vestibular voltada para superior, permitindo assim que apenas esta face fosse exposta ao desafio, em solução de ácido cítrico na concentração de 0,3%, com pH natural de 2,3 durante 2 minutos com posterior lavagem dos espécimes em água ultrapura e imersão dos mesmos em saliva artificial (pH=7) com formulação proposta por Gohring et. Al., 2004 durante 1 hora (Figura 19).

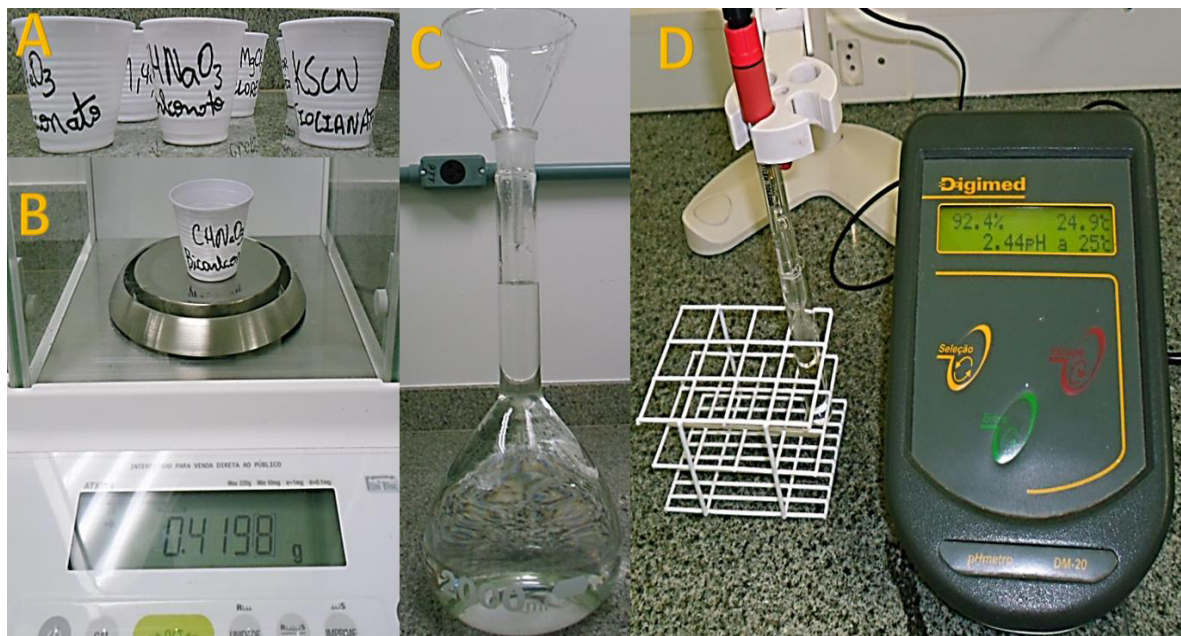


Figura 19: Obtenção da saliva artificial (Gohring et al 2004) e do ácido cítrico (0,3%) – A: Separação das substâncias utilizadas. B: Pesagem de acordo com as respectivas fórmulas de manipulação. C: Diluição das substâncias. D: Aferição do pH (pHmetro dm-20, Digimed, Digicrom Analítica Ltda, N° da série 32111, São Paulo-SP, BR)

Em seguida da imersão em saliva artificial os espécimes foram lavados com água ultrapura e novo ciclo foi começado. A solução de ácido cítrico e de saliva artificial foram trocadas a cada ciclo. Após a realização de quatro ciclos os espécimes permaneceram em saliva artificial, trocada diariamente, por 20 horas. A sequência de 4 ciclos de desafio ácido e 20 horas de imersão em saliva foi repetida por 5 dias consecutivos (Figura 20). Ao final do desafio ácido as amostras foram armazenadas em eppendorfs identificados contendo água ultrapura e mantidos em estufa a $37\pm 1^\circ$.

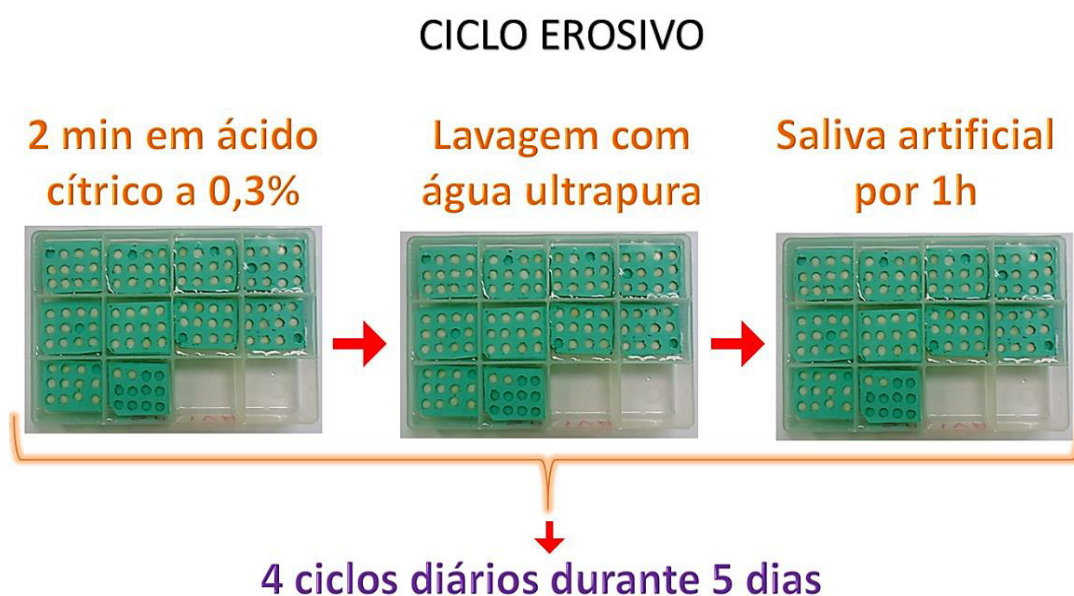


Figura 11: Esquema ilustrativo do desafio erosivo

Preparo para a microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Espectrometria de energia dispersiva de raios-x (ED/EDX)

Para fins ilustrativos das diferentes irradiações e tratamentos os espécimes mais representativos de cada grupo foram selecionados, após os tratamentos e desafio erosivo. Foram mantidos na campânula vítrea de sílica durante uma semana.

Após essa etapa, os espécimes foram montados em *stubs* de alumínio e metalizados com ouro-paládio pelo processo de sputter, por meio de um aparelho Desk II (Denton Vacuum, Moorestown, New Jersey, EUA) por 2 min que serviu de anteparo aos elétrons a fim de permitir a captação das imagens.

Após este procedimento, os espécimes foram observados em MEV, a captação das imagens foi realizada por meio de um *software* específico acoplado ao microscópio eletrônico de varredura (JMS 5310 – Jeol Brasil Instrumentos Científicos Ltda. – SP, BR), empregando aumento de 3000 e 1000 vezes (Figura 21).



Figura 21: Metalizadora utilizada para aplicação de ouro nos espécimes (Desk II - Denton Vacuum, Moorestown, New Jersey, EUA). E Microscópio eletrônico de varredura (JMS 5310 – Jeol Brasil Instrumentos Científicos Ltda. – SP, BR)

MATERIAL E MÉTODOS DO CAPÍTULO II

Cálculo amostral: O mesmo empregado no capítulo I.

Preparação dos corpos de prova: Seguiu os mesmos critérios descritos no item confecção dos espécimes do capítulo I. Exceto por terem sido utilizados 40 incisivos bovinos.

Permeabilidade dentinária

Utilizou-se os mesmos passos aplicados no estudo anterior, destacando-se apenas a quantidade de leituras de permeabilidade, que neste estudo foram 3 para cada disco de dentina: 1º Inicial- após o condicionamento da aplicação do ácido (permeabilidade máxima), 2º após a aplicação da técnica utilizada para obliteração dos túbulos dentinários e a 3º após o desafio erosivo.

Permeabilidade máxima ou inicial

Foi realizada adotando os valores obtidos após remoção da *smear layer*, como descrito no item permeabilidade máxima do capítulo I.

Randomização e organização dos corpos de prova:

Foi realizada após a leitura da permeabilidade máxima dos corpos de prova, assim como descrito no item Randomização e disposição dos espécimes do estudo I. Sendo que neste capítulo os corpos de prova foram divididos de forma estratificada em 4 grupos experimentais (n=10) de modo que os grupos tivessem médias semelhantes de condutância hidráulica e fossem mais homogêneos em termos de permeabilidade dentinária.

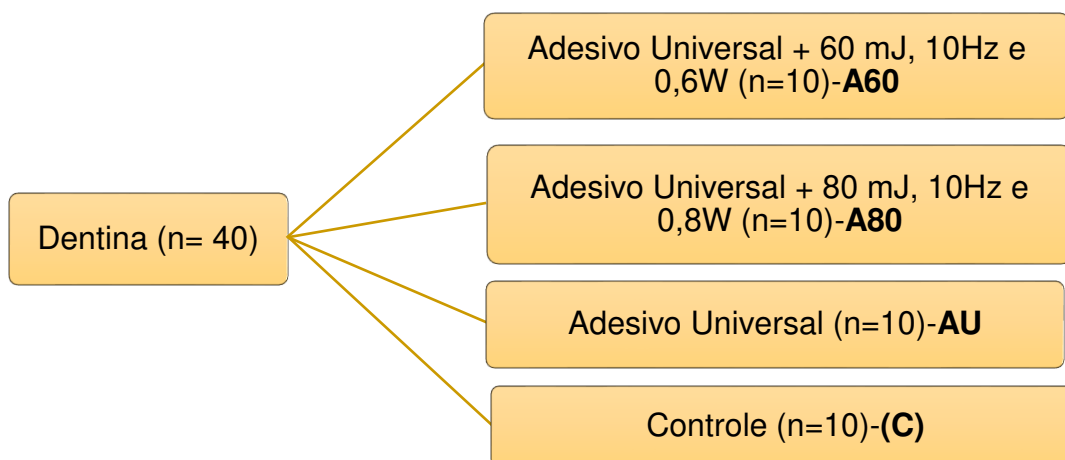


Figura 1: Delineamento experimental da pesquisa

Aplicação e descrição do adesivo universal

O adesivo foi aplicado de acordo com as instruções do fabricante e fotopolimerizado após a irradiação com laser de Nd:YAG (Tabela 1) (Figura 17A)

Tabela 1: Material usado nos grupos experimentais.

Material/Lote	Composição	Modo de aplicação
Single Bond Universal (3M ESPE, Seefeld- Alemanha) Lote1306600524	Bisfenol A diglicileter dimetacrilato (Bis-GMA), metacrilato de 2-hidroxietila, sílica tratada com silício, álcool etílico, decametileno dimetacrilato, água, 1,10-decanodiol fosfato metacrilato, copolímero de acrílico e ácido itacônico, canforoquinona, N, Ndimetilbenzocaína, metacrilato de 2-dimetilamonoetilo, metiletilcetona.	Secagem da superfície com papel absorvente Duas aplicações ativas do adesivo com um aplicador descartável durante 20 s; Leve jato de ar por 5 s; Fotopolimerização por 10 s após a aplicação do <i>laser</i> Nd:YAG*

Irradiação com *laser* de Nd:YAG

Antes da aplicação do adesivo, a área que não passava o fluido foi protegida utilizando-se um filme plástico adesivo de cor preta (Contact, Vulcan Irajá, Rio de Janeiro, Brasil), o qual recebeu um orifício com 2 mm de diâmetro empregando um alicate perfurador. Dessa forma, apenas a dentina a ser tratada ficou exposta, evitando as irregularidades na superfície do espécime decorrentes dos tratamentos (Figura 2B).

As superfícies dos espécimes foram irradiadas com *laser* de Nd:YAG (*Neodymium: Yttrium-Aluminium- Garnet*), utilizando o aparelho Pulse Master 600 IQ (American Dental Technologies, EUA), emitindo um comprimento de onda de 1064nm, empregando uma fibra óptica de 400 µm, após a aplicação dos biovidros (Figura 2D). Foi utilizada a frequência de 10 Hz, com parâmetros de energia de 60mJ/pulso, potência de 0,6 W e 80mJ/pulso, potência de 0,8 W, na forma contato. Foi executada uma varredura da superfície, em quatro direções espaçadas de 45° (vertical, horizontal e duas transversais), por 40s com a fibra óptica posicionada perpendicularmente à superfície de dentina, para promover uma irradiação homogênea (Figura 2C).

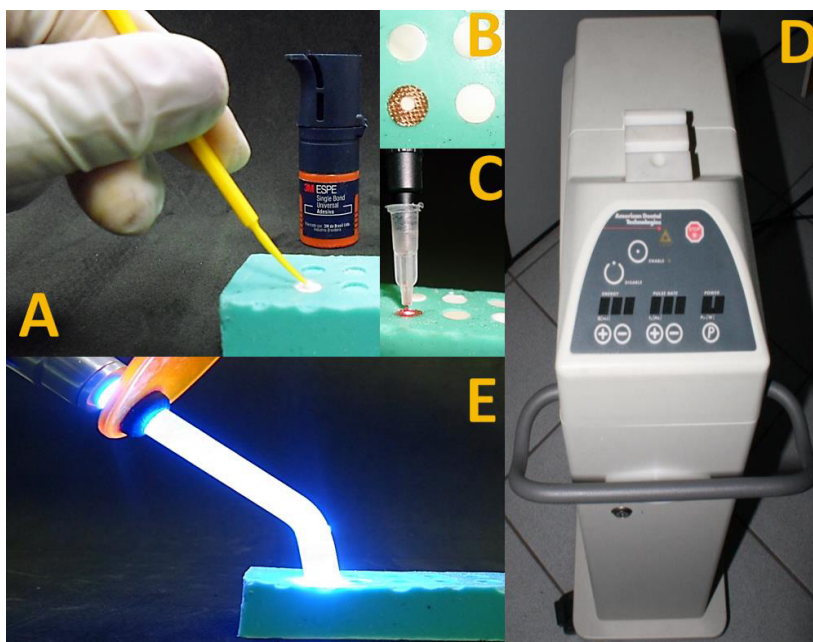


Figura 2: A – Aplicação do adesivo universal (3M); B – Aplicação da do filme plástico adesivo para seladoras (Contact, Vulcan Irajá, Rio de Janeiro, Brasil), que recebeu um orifício com 2 mm de diâmetro empregando um alicate perfurador. C – Aplicação do *laser* de Nd:YAG nos diferentes parâmetros. D – Laser de Nd:YAG (American Dental Technologies, EUA). E- Fotopolimerização por 10s

Determinação da permeabilidade em % depois de cada momento (P%)

Os valores de permeabilidade foram transformados em percentual seguindo os mesmos critérios descritos no item “Cálculo da permeabilidade em % após cada momento” do estudo dos biovidros e *laser*.

Desafio ácido

O desafio erosivo seguiu os mesmos passos descritos no item “desafio erosivo” do capítulo I.

Preparo dos corpos de prova para a microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Espectrometria de energia dispersiva de raios-x (ED/EDX)

Os corpos de prova foram submetidos aos mesmos processos para obtenção de imagens descritos no estudo dos biovidros e *laser* Nd:YAG.

ANEXOS

ANEXO A

NORMAS DA REVISTA

The AMERICAN JOURNAL OF DENTISTRY is published six times a year in February, April, June, August, October and December by Mosher & Linder, Inc.

The AJD invites submission of research manuscripts and reviews related to the clinical practice of dentistry. Manuscripts are considered for publication with the understanding that they have not been published elsewhere in any form or any language, are submitted solely to the AJD, and if accepted for publication in the AJD, they will not be published elsewhere in the same form or in any other language, without the consent of the Editor. Manuscripts are reviewed by at least two referees.

Statements and opinions expressed in the articles and communications herein are those of the author(s) and not necessarily those of the Editor, Managing Editor, Editorial Board members or publisher of the AMERICAN JOURNAL OF DENTISTRY.

All correspondence from the Editorial Office will be made with the designated Corresponding Author unless otherwise specified in a letter by the authors.

PREPARATION OF MANUSCRIPTS: Papers should be written in proper American English, double spaced, with liberal margins, and only submitted by E-mail to the Editor, with the text and tables in Microsoft Word files and illustrations in JPEG image format.

Papers reporting results of original research should be divided into Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements (if any), and References.

CLINICAL RESEARCH PAPERS. Need to follow the CONSORT Statement (Needleman I, et al. Am J Dent 2008;21: 7-12).

DISCLOSURE STATEMENT. The American Journal of Dentistry is instituting a policy to disclose conflicts of interest, as well as sponsorship of studies published in the Journal. Please provide information regarding any conflict of interest relationships of all authors, or state that each author has no conflict.

Examples of common financial relationships include: employment, consultancies, stock ownership, honoraria, and paid expert testimony. You can read more about other potential conflict of interests and the general policy at: <http://www.nlm.nih.gov/pubs/factsheets/supplements.html> and <http://www.icmje.org/#conflicts>

COPYRIGHT RELEASE. The following statement, signed by all authors, should accompany all manuscripts: "All manuscript's copyright ownership is transferred from the author(s) of the article (title of article), to the American Journal of Dentistry in the event the work is published. The manuscript has not been published in any form or any language and is only submitted to the American Journal of Dentistry".

TITLE PAGE should include the title of the manuscript, all authors' full names and degrees, affiliations to institution or private practice, designation and address of corresponding author, telephone and fax numbers and e-mail address. Disclosure statement.

ABSTRACT PAGE should follow the title page and only contain: the title of the manuscript, the abstract and the clinical significance sections. On the abstract page, the name(s) of the author(s) should not appear. The abstract should have the following sections: Purpose, Methods, and Results.

CLINICAL SIGNIFICANCE. As a separate sentence after the abstract, a short statement should highlight the clinical significance of the manuscript.

REFERENCES. All references and only those cited in the text should appear in the list of references. They should be numbered consecutively as they appear in the text of the paper. Reference formatting programs should not be used.

When a paper cited has three or more authors, it should appear in the text thus: Gwinnett et al. 1 In the Reference section, article references must include the names and initials of all the authors, the full title of the paper, the abbreviated title of the journal, year of publication, the volume number, and first and last page numbers, e.g.:

Journals:

1. Thornton JB, Retief DH, Bradley EA. Marginal leakage of two glass ionomer cements: Ketac-Fil and Ketac-Silver. *Am J Dent* 1988; 1: 35-38.

Abstracts:

2. Alpegiani M, Gagliani M, Re D. Operator influence using adhesive systems: One bottle vs. multi bottles. *J Dent Res* 1998;77: 942 (Abstr 2487).

Online abstracts:

3. Bayne SC, Wilder Jr AD, Perdigão J, Heymann HO, Swift EJ. 4-year wear and clinical performance of packable posterior composite. *J Dent Res* 2003;86 (Suppl A): (Abstr 0036).

Papers in the course of publication should only be entered in the references if they have been accepted for publication by a journal and then given in the standard manner in the text and in the list of references with the journal title, accompanied by "In press," e.g.:

4. Crim GA, Abbott LJ. Effect of curing time on marginal sealing by four dentin bonding agents. *Am J Dent*, In press. Book and monograph references should include author, title, city, publisher, year of publication, and page numbers, e.g.:

5. Malone WFP, Koth DL. Tylman's theory and practice of fixed prosthodontics. St. Louis: Ishiyaku Euro-America, 1989; 110-123.

6. Ripa LW, Finn SB. The care of injuries to the anterior teeth of children. In: Finn SB. *Clinical pedodontics*. 4th ed, Philadelphia: WB Saunders, 1973; 125. Personal communications should only appear in parentheses in the text and not in the list of references.

ILLUSTRATIONS. Illustrations should be numbered, provided with suitable legends, and kept to the minimum essential for proper presentation of the results. Color illustrations will be published at the authors' expense. Contact the Managing Editor at (954) 888-9101 or amjdent@amjdent.com.

Legends are required for all illustrations and should be typed as a group on a separate page. For photomicrographs, legends must specify original magnification and stain (if used).

TABLES should be logically organized and should supplement the information provided in the text. Each table should be typed on a separate page with the number, title and footnotes. Tables should be kept to the minimum essential for proper presentation of the results. Permissions from author and publisher must be obtained for the direct use of previously published material including text, photographs, drawings, etc. The original permission should be then included with the manuscript.

REPRINTS. For reprints contact the Business Office at (954) 888- 9101 or amjdent@amjdent.com

ADDRESS. All manuscripts should be sent to the Editor by e-mail only to: godoy@amjdent.com

ANEXO B

Fórmula da saliva artificial segundo Gohring ¹

Inicialmente deve-se preparar uma solução duplamente concentrada, a qual apresenta validade menor. Quando for necessário, ela deve ser diluída acrescentando-se água e uma solução de bicarbonato de sódio.

1) Preparo da solução 2x concentrada

Substância	Fórmula	Quantidade (gramas) – Para 1L
Cloreto de potássio	KCl	2,4
Cloreto de sódio	NaCl	1,7
Cloreto de magnésio hexahidratado	MgCl ₂ . 6H ₂ O	0,1
Cloreto de cálcio dihidratado	CaCl ₂ . 2H ₂ O	0,2
Tiocianato de potássio	KSCN	0,2
Fosfato de potássio monobásico anidro	H ₂ KPO ₄	0,7
Ácido bórico	H ₃ BO ₃	0,1

Pesar os sais e dissolver em 1L de água deionizada em balão volumétrico correspondente

2) Preparo da solução de bicarbonato de sódio a 1,62%

Substância	Fórmula	Quantidade
Bicarbonato de sódio	CHNaO ₃	0,4198 gramas
Água deionizada		Qsq 259,12 ml

Dissolver o bicarbonato de sódio em água dentro do balão volumétrico com volume de 259,12 ml.

3) Dissolver a solução 2x concentrada

Substância	Quantidade em ml
Solução 2x concentrada	1000 ml
Água deionizada	1000 ml
Solução de bicarbonato de sódio	259,12 ml

Medir 1000 ml da saliva 2x concentrada e a seguir 1000 ml de água usando uma proveta de 1000 ml e misturar com a solução de bicarbonato de sódio em um frasco Becker com capacidade para 259,12 ml. Se necessário ajustar o pH com solução concentrada de hidróxido de sódio.

¹Göhring TN, Zehnder M, Sener B, Schmidlin PR. In vitro microleakage of adhesive-sealed dentin with lactic acid and saliva exposure: a radio-isotope analysis. J Dent. 2004 Mar;32(3):235-40.