

POTENCIAL DO DIMETILSULFÓXIDO EM MELHORAR A
RESISTÊNCIA DE UNIÃO E A NANOINFILTRAÇÃO NA
DENTINA EROSIONADA

Lucila Cristina Rodrigues Araujo

2019

LUCILA CRISTINA RODRIGUES ARAUJO

POTENCIAL DO DIMETILSULFÓXIDO EM MELHORAR A
RESISTÊNCIA DE UNIÃO E A NANOINFILTRAÇÃO NA
DENTINA EROSIONADA

Trabalho de dissertação apresentado ao
Programa de Pós-Graduação em
Odontologia da Universidade CEUMA
como pré-requisito para obtenção do título
de Mestre em Odontologia.

Área de concentração: Odontologia
Integrada

Orientador: Prof. Dr. Andres Felipe Millan
Cardenas

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Fabiana Suelen
Figuerêdo de Siqueira

SÃO LUÍS – MA

2019

A658p

Araújo, Lucila Cristina Rodrigues.

Potencial do dimetilsulfóxido em melhorar a resistência de união e o nanoinfiltração na dentina erosionada. / Lucila Cristina Rodrigues Araújo. – São Luís: UNICEUMA, 2019.

67f.; 30 cm.

Monografia (Graduação) – Curso de Odontologia. Universidade CEUMA, 2019.

1. Erosão dentária. 2. Adesivos dentinários. 3. Dimetilsulfóxido. I. CARDENAS, Andres Felipe Millan. (Orientador). II. BANDÉCA, Matheus Coelho. (Coordenador). II. Título.

CDU: 616.314

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marina Carvalho CRB13/823

Proibida a reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio eletrônico ou mecânico, inclusive através de processos xerográficos, sem permissão expressa do Autor. (Artigo 184 do Código Penal Brasileiro, com a nova redação dada pela Lei n.8.635, de 16-03-1993).

Nome: Lucila Cristina Rodrigues Araujo

Título: Potencial do Dimetilsulfóxido em Melhorar as Propriedades Adesivas a Dentina Erosionada.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade CEUMA como pré-requisito para obtenção do título de Mestre.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. Andres Felipe Millan Cardenas

Instituição: Universidade Ceuma

Assinatura: _____

Prof. Dr. José Roberto de Oliveira Bauer

Instituição: Universidade Federal do Maranhão

Assinatura: _____

Prof. Dr. Rudys Rodolfo de Jesus Tavares

Instituição: Universidade Ceuma

Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

A Deus que me permitiu realizar tantos sonhos nessa existência. Por me levantar todas as vezes que fraquejei. Sem Ti nada seria.

À minha mãe Lorena por sempre acreditar em mim, me incentivar, me patrocinar, e acima de tudo, por me amar incondicionalmente. Meu sonho se realizando é o resultado de todo seu esforço e sacrifício. Toda a minha gratidão e meu amor eterno. E quantas vidas eu tiver, em todas quero ser sua filha.

Às minhas filhas Lara e Júlia, e ao meu marido Antonio José, pois vocês são sem dúvidas o motivo de me fazer sempre estudar mais e querer o melhor da vida para nossa família. Todo meu amor.

Aos meus avós Geni e Araujo que viabilizaram o que há de mais sagrado para que eu pudesse estudar: um lar. Sem vocês, jamais teria chegado onde cheguei. Esse mérito também é de vocês. Meu amor mais singelo.

À minha Cleidinha, meu anjo da guarda, minha amiga, que possibilita eu sair de casa todos os dias e saber que a minha família está bem cuidada.

Aos amigos que fiz ao longo desses anos que acreditaram e torceram por mim. Vocês estão no meu coração.

Aos meus amigos de Mestrado, Bruna, Camila, Claudio, Daniella, Daniel, Gustavo, Lucas, Paulo, Rosyara, Samuel, Silvana e Thiago. A nossa união, o apoio e o ombro amigo de cada um de vocês tornaram

essa jornada menos árdua e mais alegre. Terão sempre a minha amizade.

Ao Professor Andres que não mediu esforços, acreditou em mim, se doou, e com muita competência e maestria me mostrou o caminho a seguir, sendo paciente e incansável, me orientando não somente na pesquisa, mas sendo um amigo, exemplo de professor e ser humano. Muito obrigada sempre será pouco. Muita admiração.

À Professora Fabiana que sempre me contagiou com a sua alegria e inteligência. Sempre dedicada e sagaz, pessoa ímpar que me pegou pela mão e me ensinou o caminho das pedras. Todo meu carinho e gratidão.

À Veridiana que foi muito parceira, me ajudando e sendo essencial na minha pesquisa.

Ao Michel e Gabriel que participaram de algumas etapas da pesquisa e foram extremamente valiosos. Obrigada.

À Universidade Ceuma, bem como a direção, administração, à Erymonica e principalmente aos docentes que permitiram a realização de um sonho. Meu muito obrigada.

EPÍGRAFE

*“Que homem é sábio? O que estuda sem cessar. Que homem é forte?
O que sabe dar limites. Que homem é rico? O que é feliz com o que
tem”.*

Talmude

ARAUJO, LCR. Potencial do dimetilsufóxido em melhorar a resistência de união e a nanoinfiltração na dentina erosionada [dissertação]. São Luís. Universidade CEUMA; 2019.

RESUMO

Introdução: O mecanismo de adesão a dentina erosionada é extremamente complexo em virtude das alterações histológicas e estruturais desse substrato, portanto alternativas minimamente invasivas que favoreçam o sucesso das restaurações, devem ser pesquisadas.

Objetivo: Avaliar o efeito do dimetilsufóxido sobre a resistência de união (μ TBS), nanoinfiltração (NI) de sistemas adesivos universais nas estratégias com condicionamento total (ER) e auto-condicionante (SE) em dentina erosionada. **Materiais e métodos:** 80 dentes foram aleatoriamente divididos em 16 condições experimentais (n=5 dentes por grupo), de acordo com as variáveis independentes: Substrato dentinário (dentina sadia ou erosionada); Aplicação do Dimetilsufóxido (DMSO): Com ou sem aplicação, e estratégia adesiva: condicionamento total ou auto-condicionante de dois sistemas adesivos (Scotchbond Universal e Ibond Universal). Após restaurados, os espécimes foram seccionados em “palitos” de aproximadamente 0,8mm², e utilizados para testes de μ TBS e NI. O modo de falha foi avaliado e os dados de μ TBS e NI foram submetidos a ANOVA 3 fatores e teste de Tukey ($\alpha=0,05$). **Resultados:** 97% das falhas foram do tipo adesiva/mista. A

aplicação do DMSO resultou em médias de μ TBS estatisticamente superiores para ambos os sistemas adesivos, independente do substrato dentinário ($p < 0,01$). Quando o substrato dentinário foi comparado, a aplicação de cada adesivo na estratégia ER e SE mostrou valores de μ TBS estatisticamente semelhantes ($p > 0,52$). Dentina erodida mostrou os menores valores de resistência de união ($p < 0,01$). A aplicação do DMSO reduziu significativamente os valores de NI independente do substrato dentinário, para ambos os sistemas adesivos ($p < 0,01$). Os valores de NI foram estatisticamente semelhantes em ambas estratégias, independente do adesivo utilizado ($p > 0,05$). Em dentina erodida, os valores de NI foram maiores, independente da aplicação do DMSO e do sistema adesivo ($p < 0,004$). **Conclusão:** O DMSO aumenta significativamente os valores de resistência de união e reduz os valores de nanoinfiltração na adesão à dentina erodida, independente da estratégia adesiva e do sistema adesivo utilizado.

Palavras-chave: Erosão dentária; Adesivos dentinários; Dimetilsulfóxido.

ARAUJO, LCR. Dimethylsulfoxide potential in improve the bond strength and nanoleakage of eroded dentin [dissertation]. São Luís, CEUMA University; 2019

ABSTRACT

Introduction: Dental adhesion in eroded dentin is more complex due to the histological and structural modifications, therefore minimally invasive alternatives, to improve the success of the restorations, should be investigated.

Purpose: To evaluate the effect of dimethyl sulfoxide on bond strength, nanoleakage of universal adhesive systems in etch-&-rinse or self-etch strategies on eroded dentin. **Materials and Methods:** 80 teeth were randomly divided into 16 experimental conditions (n = 5 teeth per group), according to the independent variables: dentin substrate: sound or eroded dentin; Application of Dimethylsulfoxide (DMSO): With or without application, and adhesive strategy: etch-&-rinse or self-etch (Scotchbond Universal and Ibond Universal). After restoration, the specimens were sectioned into "sticks" of approximately 0.8mm² and used for bond strength tests (μ TBS) and nanoleakage (NI). Failure mode was evaluated and μ TBS and NI data were submitted to ANOVA 3 way and Tukey's test ($\alpha = 0.05$). Results: Self-etch adhesive systems and etch-&-rinse in sound and eroded dentin substrate, DMSO application showed statistically higher means of μ TBS (p <0.01). There were no significant differences when comparing sound and eroded dentin vs. acid etching and strategy (p >

0.52). In eroded dentin, independent of the application of DMSO and the adhesive system, the lowest values of μ TBS were found. The application of DMSO significantly reduced NI values for both adhesive systems used ($p < 0.01$). NI values were statistically similar in both strategies, regardless of the adhesive used ($p > 0.05$). In eroded dentin, NI values were higher, regardless of the application of DMSO and the adhesive system ($p < 0.004$). **Conclusion:** DMSO significantly increases bond strength values and reduces nanoleakage values on adhesion to eroded dentin, regardless of the adhesive strategy and adhesive system used.

Key words: dental erosion, dentin adhesives, dimethylsulfoxide.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1: Sistema adesivo (Lote), composição, grupos e modo de aplicação.....	22
Tabela 2: Número de espécimes de acordo com o modo de fratura.....	30
Tabela 3: Média e desvio padrão da resistência de união (μ TBS) em MPa dos diferentes grupos experimentais.....	30
Tabela 4: Média e desvio padrão da nanoinfiltração (%) dos diferentes grupos experimentais.....	31
Figura 1: Fotomicrografias representativas dos grupos controles em dentina sadia das imagens obtidas por MEV (1.0 kx) para cada tratamento em relação à NI.....	32
Figura 2: Imagens representativas (1.0kx) dos grupos experimentais em dentina erosionada.....	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μ TBS.....	Resistência de união à microtração
NI.....	Nanoinfiltração
DMSO.....	Dimetilsulfóxido
MMPs.....	Metaloproteinases
FP	Falhas prematuras
C.....	Falha coesiva
A/M.....	Falha adesiva/mista
MEV.....	Microscopia eletrônica de varredura

SUMÁRIO

1. Introdução	17
2. Metodologia	20
2.1 Seleção e preparo dos dentes.....	20
2.2 Desenho experimental.....	20
2.3 Modelo de ciclagem de PH.....	23
2.4 Procedimento restaurador e preparo dos espécimes.....	24
2.4.1 Pré-tratamento com DMSO.....	24
2.4.2 Preparo dos espécimes.....	25
2.4.3 Procedimento restaurador.....	25
2.5 Teste de resistência de união à microtração (μ TBS)	26
2.6 Análise da nanoinfiltração (NI) por microscopia eletrônica de Varredura.....	26
2.7 Análise estatística.....	28
3. Resultados	28
4. Discussão	34
5. Conclusão	37
Referências	39
Anexos.....	44
Anexo 1. Metodologia detalhada.....	45
Anexo 2. Parecer do comitê de ética.....	55
Anexo 3. Normas da revista: The Journal of Adhesive Dentistry.....	59
Apêndice.....	65

CAPÍTULO 1

POTENCIAL DO DIMETILSULFÓXIDO EM MELHORAR A
RESISTÊNCIA DE UNIÃO E A NANONFILTRAÇÃO NA DENTINA
EROSIONADA

RESUMO

Objetivo: Avaliar o efeito do dimetilsufóxido sobre a resistência de união (μ TBS), nanoinfiltração (NI) de sistemas adesivos universais nas estratégias com condicionamento total (ER) e auto-condicionante (SE) em dentina erosionada. **Materiais e métodos:** 80 dentes foram aleatoriamente divididos em 16 condições experimentais (n=5 dentes por grupo), de acordo com as variáveis independentes: Substrato dentinário (dentina sadia ou erosionada); Aplicação do Dimetilsufóxido (DMSO): Com ou sem aplicação, e estratégia adesiva: condicionamento total ou auto-condicionante de dois sistemas adesivos (Scotchbond Universal e Ibond Universal). Após restaurados, os espécimes foram seccionados em “palitos” de aproximadamente 0,8mm², e utilizados para testes de μ TBS e NI. O modo de falha foi avaliado e os dados de μ TBS e NI foram submetidos a ANOVA 3 fatores e teste de Tukey ($\alpha=0,05$). **Resultados:** 97% das falhas foram do tipo adesiva/mista. A aplicação do DMSO resultou em médias de μ TBS estatisticamente superiores para ambos os sistemas adesivos, independente do substrato dentinário ($p < 0,01$). Quando o substrato dentinário foi comparado, a aplicação de cada adesivo na estratégia ER e SE mostrou valores de μ TBS estatisticamente semelhantes ($p > 0,52$).

Dentina erosionada mostrou os menores valores de resistência de união ($p < 0,01$). A aplicação do DMSO reduziu significativamente os valores de NI independente do substrato dentinário, para ambos os sistemas adesivos ($p < 0,01$). Os valores de NI foram estatisticamente semelhantes em ambas estratégias, independente do adesivo utilizado ($p > 0,05$). Em dentina erosionada, os valores de NI foram maiores, independente da aplicação do DMSO e do sistema adesivo ($p < 0,004$). **Conclusão:** O DMSO aumenta significativamente os valores de resistência de união e reduz os valores de nanoinfiltração na adesão à dentina erosionada, independente da estratégia adesiva e do sistema adesivo utilizado.

Palavras-chave: Erosão dentária; Adesivos dentinários; Dimetilsulfóxido.

1. INTRODUÇÃO

Devido o aumento da prevalência, a erosão dentária tem atraído a atenção de clínicos e pesquisadores ao redor do mundo. Sabe-se que 30% da população com idade entre 10 a 35 anos que frequenta o cirurgião dentista tem pelo menos um dente com sinais de desgaste erosivo¹ decorrente do consumo de alimentos e bebidas ácidas que tem o potencial para causar significativos danos à integridade dos tecidos duros dos dentes. ^{19, 28, 32}

A erosão dental é caracterizada pela perda dos tecidos duros dentais devido a um processo químico causado por ácidos ou agentes quelantes, sem o envolvimento de micro-organismos. ¹⁷ Sua origem pode ser desencadeada por fatores intrínsecos (anorexia, xerostomia, etc.), fatores extrínsecos (alimentos, bebidas ácidas, etc.) ou idiopática cuja ação de ácidos é de origem desconhecida. ^{17, 21}

Devido à constante exposição à ácidos, a erosão diminui a microdureza do esmalte o que gera um amolecimento e aumento da rugosidade, deixando a superfície do dente mais suscetível à fratura quando exposto às forças mecânicas. ^{17, 29} Ao atingir a dentina, a erosão aumenta o diâmetro dos túbulos dentinários pela remoção dos “*plugs*” dentinários e da dentina intertubular orgânica.

Adicionalmente, as superfícies de dentina erosionada têm um teor mineral reduzido na camada mais externa junto com uma maior quantidade de fibras de colágeno desnaturadas expostas. ^{37, 52} Esta perda de estrutura dental e dissolução mineral constantemente

provoca comprometimento estético e funcional juntamente com hipersensibilidade dentinária.^{12, 49}

Uma opção para diminuir a progressão da erosão e os sintomas como a hipersensibilidade, além de restaurar a função e a estética é o procedimento restaurador.⁵ Entretanto, devido às grandes alterações que sofre a dentina exposta durante o desafio erosivo, a adesão à dentina erosionada pode ser comprometida,^{7, 52} especialmente devido à grande quantidade de fibras de colágeno expostas que dificultam a adequada infiltração dos monômeros resinosos durante o procedimento adesivo.⁵²

Outra dificuldade para alcançar uma adesão é o aumento da taxa de progressão da erosão e degradação devido a ativação das metaloproteinases (MMPs) e cisteínas catepsinas da saliva e dentina pela constante diminuição e neutralização do pH durante os ciclos erosivos.⁴⁵

Diferentes alternativas têm sido propostas para melhorar a adesão em dentina erosionada dentre elas o uso da clorexidina,¹⁰ irradiação a laser,³⁸ e até mesmo a remoção do tecido superficial para promover um aumento na rugosidade com pontas diamantadas e aumentar a estabilidade da interface resina-dentina erosionada.⁵² No entanto, algumas dessas alternativas não foram bem sucedidas na estabilidade da interface adesiva,¹⁰ ou exige a remoção de tecido sadio,^{38, 52} o que vai de encontro com o conceito de mínima intervenção.

Uma alternativa utilizada para melhorar a adesão dentária, porém apenas testada em dentina sadia foi a utilização do dimetilsulfóxido (DMSO).^{40,53,55} O DMSO é capaz de produzir camadas híbridas mais estáveis com capacidade superior de suportar a degradação hidrolítica ao longo do tempo^{42, 44} uma vez que ele é um solvente com um grupo S=O altamente polar e dois grupos C₃ hidrofóbicos com capacidade de dissolver os compostos polares e não polares. Em virtude de suas propriedades, o DMSO melhora e facilita a polimerização dos sistemas adesivos.^{13,24, 27} Adicionalmente, o DMSO tem a capacidade de desagregar o colágeno altamente reticulado em uma rede de fibras de colágeno soltas¹⁴ pela supressão das forças atrativas mediadas por pontes de hidrogênio no interior das fibras colágenas.³⁴

Outro ponto positivo do DMSO é que já foi corroborado que ele pode melhorar a preservação das interfaces adesivas da dentina tratadas com condicionamento total pela inibição das enzimas colagenolíticas^{46,44} e até mesmo aumentar a resistência de união imediata em dentina tratada com condicionamento total devido à penetração melhorada do sistema adesivo dentro da matriz de colágeno exposta.⁴³

Portanto, o objetivo deste estudo *in vitro* é avaliar o efeito do dimetilsulfóxido sobre a resistência de união, nanoinfiltração de sistemas adesivos universais nas estratégias com condicionamento total e autocondicionante em dentina erosionada. As hipóteses nulas

a serem testadas foram que a aplicação do DMSO na dentina erosionada: (1) não afeta a resistência de união e (2) não melhora a qualidade da interface adesiva em relação a nanoinfiltração.

2. METODOLOGIA

2.1 SELEÇÃO E PREPARO DOS DENTES

Esse trabalho foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade local sob o protocolo nº 2.851.586. Os dentes foram coletados após a obtenção do termo de consentimento livre e esclarecido dos pacientes. Um total de 80 molares humanos livres de cárie foram utilizados neste estudo. Os molares foram desinfetados com uma solução em timol a 0,1% e armazenados em água destilada em temperatura de 37 °C por até 6 meses após a extração.

A superfície do esmalte oclusal desses dentes foi removida seccionando-se o terço oclusal da coroa com uma máquina de corte de precisão (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA). A seguir, a *smear layer* e a rugosidade da superfície foram padronizadas utilizando lixas de carbetto de silício 600 (CarbiMet, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA) sob irrigação com água, por 60 s.

2.2 DESENHO EXPERIMENTAL

Os dentes foram distribuídos aleatoriamente em 16 condições experimentais (n = 5 dentes por grupo para os testes de resistência de união (μ TBS) e nanoinfiltração (NI) de acordo com as combinações das variáveis independentes: (1) Substrato dentinário: Dentina sadia ou dentina erosionada; (2) Aplicação do DMSO: com

ou sem aplicação; (3) Estratégia adesiva: condicionamento total (ER) ou auto-condicionante (SE). Para o presente trabalho, dois sistemas adesivos universais (Scotchbond Universal e Ibond Universal) foram utilizados (Tabela 1).

Tabela 1. Sistema adesivo (Lote), composição, grupos e modo de aplicação dos sistemas adesivos utilizados para os diferentes grupos experimentais.

Sistema adesivo (Marca/Lote)	Composição	Modo de aplicação	
		Condicionamento total (ER)	Autocondicionante (SE)
Scotchbond -Universal 3M ESPE (523652)	10-MDP, monômeros dimetacrilatos, HEMA, copolímero acrílico, ácido itacônico, nanopartículas, etanol, água, caforoquinona, silano	1-Aplicar o ácido por 15 s; 2-Enxaguar por 10s; 3-Remover o excesso de água por 2 s com leve jato de ar; 4- Aplicar o DMSO por 60* s; 5-Aplicar o adesivo da mesma forma que o auto-condicionante	1-Aplicar do DMSO por 60 s*; 2-Aplicar o adesivo ativamente por 20 s e se necessário, reaplique; 3-Secar cuidadosamente por 5 s com jato de ar, até que o adesivo não se mova e só o solvente evapore completamente; 4-Fotoativar por 20 s a 1200mW/cm ²
IBond Universal Heraeus Kulzer (010024)	UDMA, 4-META, glutaraldeído, acetona, água, foto-iniciadores, estabilizadores	1-Aplicar o ácido por 15 s; 2-Enxaguar por 10 s; 3-Jato de ar para remover excesso de água; 4- Aplicar o DMSO por 60 s*; 5-Aplicar da mesma forma que o auto-condicionante.	1-Aplicar o DMSO por 60 s*; 2-Aplicar o adesivo por 20s.Aguardar 30 s; 3-Jato de ar por 10 s; 4- Fotoativar por 20 s a 1200mW/cm ²

*De acordo com Stape et al ^{43,44}

2.3 MODELO DE CICLAGEM DE PH

Dos 80 molares sadios utilizados no presente estudo, 40 foram aleatoriamente selecionados. Previamente à ciclagem erosiva, as áreas laterais e radiculares foram recobertas com duas camadas de verniz para unha, permitindo a que a desmineralização erosiva ocorresse apenas na superfície oclusal. Os quarenta dentes foram expostos a um procedimento erosivo de des- e remineralização cíclica por imersão em refrigerante Coca-Cola, pH 2,6 (Coca-Cola Company, Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, Brasil) quatro vezes ao dia por 90 s cada (10 ml por amostra) por 5 dias. Protocolo adaptado de acordo com Magalhães *et al*, 2014^{22, 50} O refrigerante foi renovado a cada desafio erosivo e a solução de remineralização foi substituída diariamente.

Após cada desmineralização, os espécimes foram lavados com água deionizada (10s) e imersos em uma solução remineralizante (4,08 mM H₃PO₄; 20.10 mM KCl, 11,9 mM Na₂CO₃, e 1,98 mM CaCl₂, pH de 6,7, 10 ml por amostra) durante 60 min.⁸ Os níveis de pH de todas as soluções foram monitorados periodicamente usando um medidor de pH (E520, Metrohm; Herisau, Suíça).⁴⁰

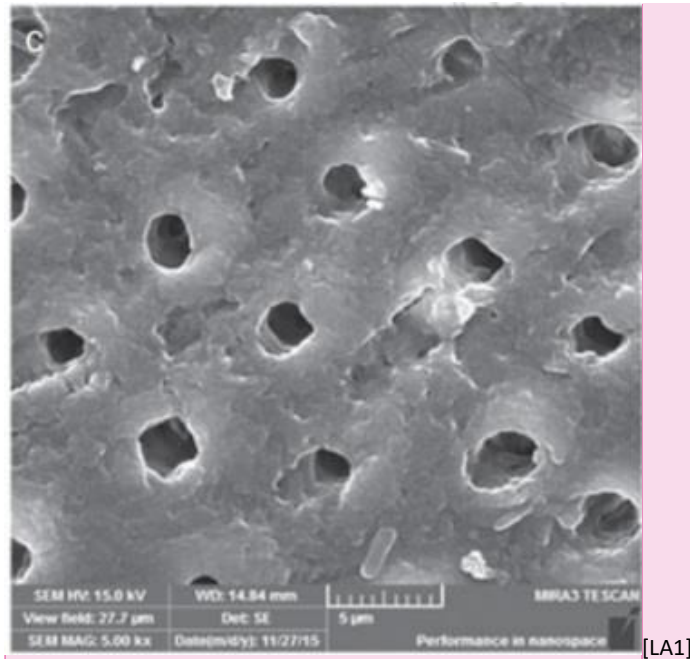


Fig.1 Fotomicrografia do aspecto da dentina imediatamente após a ciclagem erosiva.

2.4 PROCEDIMENTO RESTAURADOR E PREPARO DOS ESPÉCIMES

Os dentes foram distribuídos de acordo com as combinações das variáveis já citadas para o procedimento restaurador.

2.4.1 PRÉ-TRATAMENTO COM DMSO

Todos os *primers* contendo DMSO foram preparados de acordo com Stape et al, ⁴⁴. Para isto, 50 µL de DMSO (Dimetilsulfóxido, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) (pH 8,2) foram misturados à uma base de água 50% (v/v). Para a estratégia de condicionamento total (ER), os *primers* contendo DMSO foram sempre aplicados após o condicionamento ácido. Para a estratégia auto-condicionante, os *primers* foram aplicados antes da aplicação do sistema adesivo

(Tabela 1). Os *primers* contendo DMSO foram renovados diariamente e mantidos em ambiente natural.

2.4.2 PREPARO DOS ESPÉCIMES

Para a estratégia adesiva com condicionamento total os dentes foram condicionados com gel de ácido fosfórico 37% (FGM Dental Products, Joinville, SC, Brasil) durante 15 s, lavados com jatos de água (30 s), secas com ar (5 s) e mantidas ligeiramente úmidas. Para os grupos experimentais o quais os *primers* de DMSO foram utilizados, estes foram aplicados ativamente por 60 s com auxílio de um microbrush descartável, seguido da aplicação de um jato de ar 5 s. ^{43,44} Os sistemas adesivos foram aplicados segundo recomendações do fabricante e fotoativados com um aparelho fotopolimerizador com um dispositivo LED (Ratii, SDI; Bayswater, Victoria, Australia) em modo de alta potência (1200 mW/cm²). Para os adesivos na estratégia auto-condicionante, quando necessário o DMSO foi aplicado de maneira semelhante, previamente à aplicação do sistema adesivo.

2.4.3 PROCEDIMENTO RESTAURADOR

Os dentes foram restaurados com três incrementos de 2mm cada com a resina composta Llis, (FGM Dental Products, Joinville, SC, Brasil) e cada incremento fotopolimerizado por 40 s, com o mesmo aparelho fotopolimerizador. Todos os procedimentos foram realizados por um operador treinado e calibrado previamente.

Após o armazenamento em água destilada a 37° C por 24 h,

os dentes restaurados foram seccionados longitudinalmente no sentido mesio-distal e vestibulo-lingual através da interface de união, usando um disco diamantado em baixa velocidade para obtenção de palitos com uma área de secção transversal de aproximadamente 0,8 mm², medido com auxílio de um paquímetro digital. O número de palitos com falhas prematuras (FP) foi registrado durante o seccionamento.

2.5 TESTE DE RESISTÊNCIA DE UNIÃO À MICROTRAÇÃO (μ TBS)

Os palitos de resina-dentina foram fixados em garras de Geraldeli com cola de cianoacrilato em gel e testados em uma máquina de ensaio universal Instron (Instron, Norwood, MA, US) a 0,5 mm/min de tensão com uma célula de carga de 100N, até a ruptura da interface adesiva. Os valores de μ TBS foram obtidos em Newton(N) e depois convertidos em Megapascal (MPa) e, então³ anotados.

O modo de falha dos palitos foi classificado como coesiva ([C] falha exclusivamente na dentina ou resina composta) e falha adesiva ([A/M] na interface resina-dentina / falha coesiva parcial em substratos vizinhos). O modo de falha foi avaliado em um estereomicroscópio com aumento de 100x (Olympus SZ40, Tóquio, Japão). Espécimes com falhas prematuras (FP) foram incluídos na média por dente para análise estatístico.

2.6 ANÁLISE DA NANOINFILTRAÇÃO (NI) POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Três palitos randomizados de cada dente por grupo, que não foram testados para μ TBS, foram imersos em solução amoniacal de nitrato de prata a 50% em peso por 24 h em ambiente escuro protegido da luz. Então, os espécimes foram lavados em água destilada e armazenados em solução reveladora (Kodak, Rochester, Nova York, EUA) sob luz fluorescente por 8 h para que existisse redução dos íons de prata ao longo das microporosidades na interface de união.³⁹

Depois disso, os espécimes foram fixados em *stubs* de alumínio e polidos com lixas de SiC de granulação #600, #1000, #1200, #1500, #2000 e #2500 e pastas diamantadas granulação 1 e 0,25 μ m. Posteriormente, os *stubs* contendo os espécimes foram lavados em cuba ultrassônica por 30 min, desidratados em ambiente contendo sílica e cobertos com ouro-carbono. As interfaces foram observadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) *microscope JEOL JSM 5800, Tokyo, Japan OU Tabletop Microscope TM3030; Hitachi, Tokyo, Japan* [LA3]no modo de elétrons retroespalhados, na magnificação de 1000x.

Três microfotografias foram obtidas para cada espécime: a primeira ao centro, e as outras duas a 0,3 mm para a direita e esquerda a partir da primeira microfotografia.³⁹ E a porcentagem de nanoinfiltração dentro das camadas adesiva e híbrida foram mensuradas por um software específico de domínio público Image J software program.

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A resistência de união do Scotchbond Universal na dentina hígida, foi considerada para o cálculo amostral. De acordo com a literatura, a média de μ TBS é de $53,6 \pm 5,0$ MPa.^{30,36} Usando um alfa de 0,05, poder de 80% e teste bilateral, o tamanho mínimo da amostra foi de 5 dentes em cada grupo, a fim de detectar uma diferença de 10 MPa entre os grupos testados. O cálculo foi realizado utilizando o site www.sealedenvelope.com.

A média dos valores de resistência de união (μ TBS) e nanoinfiltração (NI) obtidos do mesmo dente foi realizada para fins estatísticos de modo que a unidade experimental neste estudo foi o dente. Antes de submeter os dados à análise estatística, todos os dados foram verificados quanto à distribuição normal por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov para determinar se a suposição de variâncias iguais era válida. Após a confirmação da distribuição normal, para cada adesivo, os dados de μ TBS (Mpa) e NI (%) foram analisados separadamente usando ANOVA três fatores (substrato dentinário vs. Aplicação do DMSO vs. Estratégia adesiva), e o pós-teste de Tukey com um nível de significância de 5%.

3.RESULTADOS

3.1 RESISTÊNCIA DE UNIÃO (μ TBS)

A maioria dos espécimes apresentaram falhas de tipo adesiva/mista (97% - 100%) (Tabela 2). A aplicação do DMSO resultou em médias de μ TBS estatisticamente superiores

independente do substrato dentinário, para ambos sistemas adesivos ($p < 0,01$). Quando o substrato dentinário (sadio e erosionado) foi comparado, a aplicação de cada adesivo universal na estratégia de condicionamento total resultou em médias de μ TBS estatisticamente semelhantes as obtidas quando aplicados em modo auto-condicionante. ($p > 0,52$; Tabela 3). Dentina erosionada apresentou os menores valores de μ TBS, mesmo após a aplicação do *primer* de DMSO, independentemente do sistema adesivo utilizado quando comparado com o substrato sadio ($p < 0,01$). A aplicação do DMSO aumentou significativamente os valores de μ TBS, independente do substrato dentinário, para ambos os sistemas adesivos utilizados.

3.2 NANOINFILTRAÇÃO (NI)

Microfotografias representativas das amostras com infiltração de nitrato de prata dos diferentes grupos experimentais estão representadas na Figura 1 e 2. A interação entre os fatores (Substrato dentinário vs. Aplicação do DMSO) foi significativa ($p < 0,01$).

A aplicação do DMSO reduziu significativamente os valores de NI independente do substrato dentinário, para ambos os sistemas adesivos utilizados ($p < 0,01$; Tabela 4). Independente do adesivo universal empregado para ambas as estratégias, os valores de NI foram estatisticamente semelhantes ($p > 0,05$; Tabela 3). Dentina erosionada resultou em maiores valores de NI (%), mesmo após a aplicação do DMSO para ambos sistemas adesivos empregados quando comparado com o substrato sadio ($p < 0,004$; Tabela 4).

Tabela 2. Número de espécimes (%) de acordo com o modo de fratura.

Sistema adesivo	SADIO												EROSÃO											
	Sem DMSO						Com DMSO						Sem DMSO						Com DMSO					
	ER			SE			ER			SE			ER			SE			ER			SE		
	A/M	C	FP	A/M	C	FP	A/M	C	FP	A/M	C	FP	A/M	C	FP	A/M	C	FP	A/M	C	FP	A/M	C	FP
IBU	80(99)	0(0)	1(1)	84(99)	0(0)	1(1)	80(98)	0(0)	2(2)	78(98)	0(0)	2(2)	70(95)	0(0)	4(5)	78(93)	0(0)	6(7)	84(98)	0(0)	2(2)	87(99)	0(0)	1(1)
SBU	86(99)	1(1)	0(0)	90(100)	0(0)	0(0)	85(97)	3(3)	0(0)	87(98)	2(2)	0(0)	76(94)	0(0)	5(6)	76(96)	0(0)	3(4)	81(96)	0(0)	3(4)	80(96)	0(0)	3(4)

Abreviaturas: A/M Falha de tipo adesiva/mista; C: Falha de tipo Coesiva; FP: Falha prematura.

Tabela 3. Média e desvio padrão da resistência de união (μ TBS) em MPa dos diferentes grupos experimentais.

Sistema Adesivo	SADIO				EROSÃO			
	Sem DMSO*		Com DMSO		Sem DMSO		Com DMSO	
	ER	SE	ER	SE	ER	SE	ER	SE
IBU	35,60 ± 2,5 B	35,55 ± 2,4 B	43,58 ± 2,7 A	41,20 ± 2,2 A	24,42 ± 3,4 D	22,29 ± 2,7 D	30,91 ± 2,4 C	30,77 ± 1,6 C
SBU	49,30 ± 3,2 b	48,78 ± 3,4 b	55,01 ± 2,8 a	55,65 ± 2,5 a	30,70 ± 2,5 d	27,54 ± 3,8 d	36,64 ± 2,9 c	36,98 ± 2,5 c

*Para cada adesivo, letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre os grupos ($p < 0,05$).

Tabela 4. Média e desvio padrão da nanoinfiltração (%) dos diferentes grupos experimentais.

Sistema Adesivo	SADIO				EROSIONADO			
	Sem DMSO*		Com DMSO		Sem DMSO		Com DMSO	
	ER	SE	ER	SE	ER	SE	ER	SE
IBU	12,25 ± 1,7 B	11,76 ± 2,2 B	7,04 ± 1,9 A	7,88 ± 1,4 A	24,19 ± 2,3 D	22,11 ± 1,8 D	18,44 ± 1,8 C	17,77 ± 1,4 C
SBU	8,75 ± 1,7 b	8,07 ± 1,2 b	5,24 ± 1,5 a	5,54 ± 1,4 a	16,03 ± 2,1 d	15,35 ± 1,5 d	12,58 ± 1,8 c	12,67 ± 1,8 c

*Para cada adesivo, letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre os grupos ($p < 0,05$).

SADIO

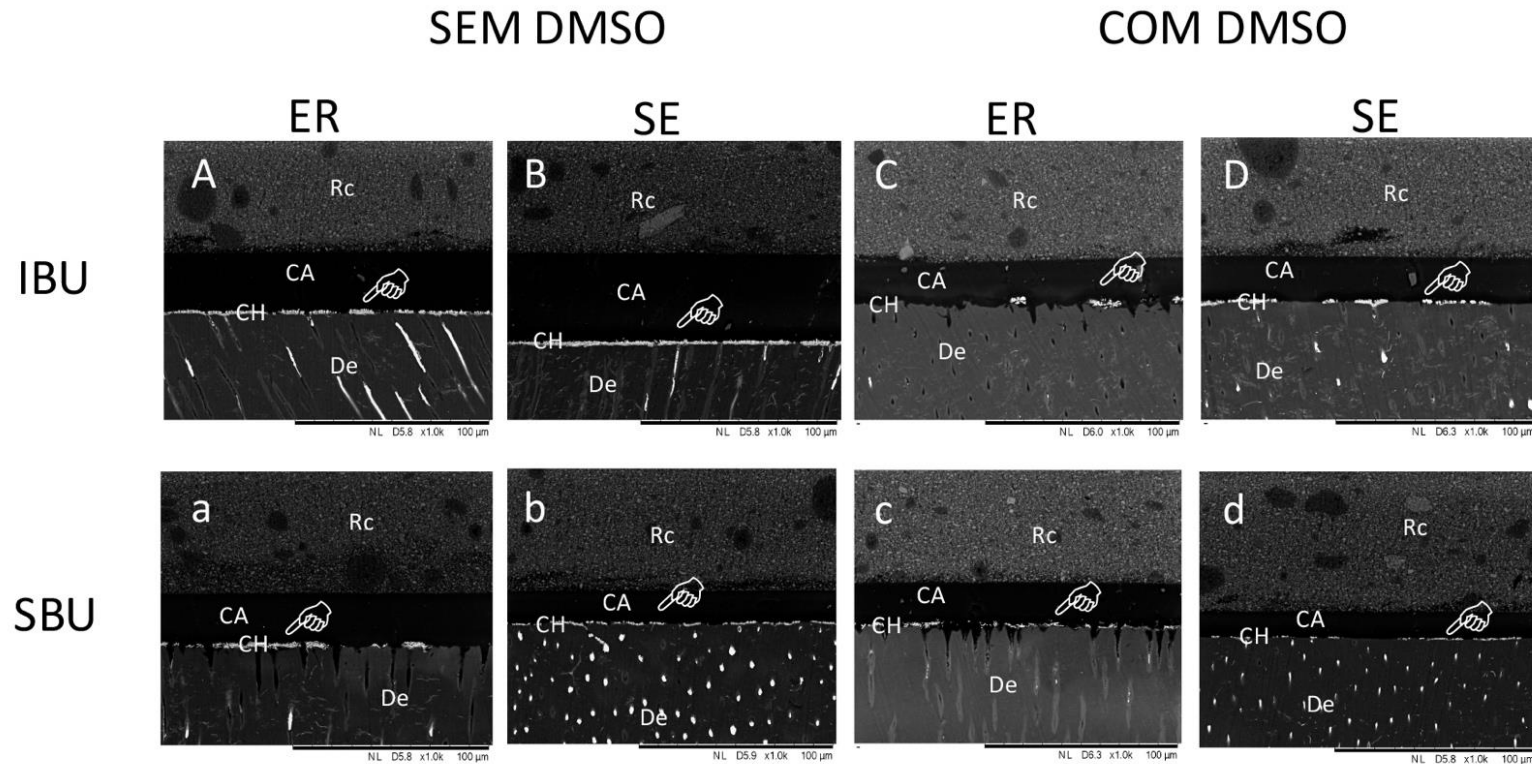


Figura 1. Fotomicrografias representativas das imagens obtidas por MEV (1.0 kx) para cada tratamento em relação à nanoinfiltração em dentina sadia. A deposição de nitrato de prata está indicada pelas setas. Grupos com aplicação de DMSO mostraram uma redução na deposição de prata na interface adesiva (C, D). RC: resina composta; CA: Camada Adesiva e De: Dentina; CH: Camada Híbrida.

EROSÃO

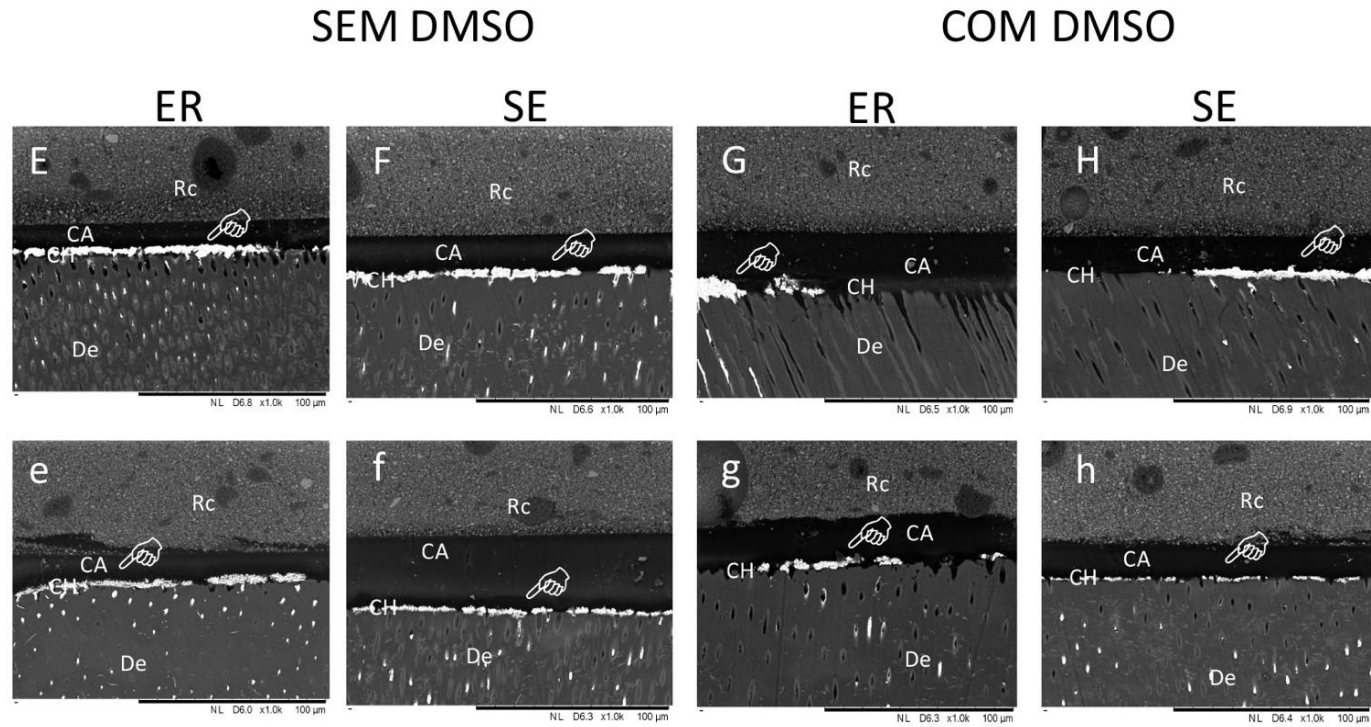


Figura 2. Imagens representativas (1.0kx) dos grupos experimentais em dentina erosionada. Os grupos sem aplicação do DMSO apresentaram uma maior infiltração de prata na interface adesiva, independente da estratégia adesiva utilizada (E, F,e,f). RC: resina composta; CA: Camada Adesiva e De: Dentina; CH: Camada Híbrida.

4. DISCUSSÃO

No presente estudo, a aplicação do DMSO resultou em médias de μ TBS estatisticamente superiores independente do substrato dentinário, para ambos os sistemas adesivos. O Dimetilsulfóxido (DMSO; [(CH₃)₂SO]) foi introduzido na odontologia adesiva por ser um novo solvente capaz de melhorar a adesão dentinária.^{42, 43, 46} O mesmo é um solvente polar aprótico que dissolve compostos tanto polares como não-polares, com um grupo S=O altamente polar e dois grupos metilo hidrófobos, totalmente miscíveis na maioria dos solventes e em monómeros hidrofílicos e hidrofóbicos utilizados na odontologia adesiva.¹¹ Devido ao seu tamanho pequeno e à natureza anfifílica, o DMSO penetra eficientemente nas superfícies biológicas.²³ Assim, uma melhor resistência de união na dentina sadia pode ser facilmente explicada.

Adicionalmente, como o DMSO tem a capacidade de dissociar o colágeno altamente reticulado em uma rede mais dispersa de fibrilas aparentes,⁵¹ quebrando a tendência auto-associativa da água⁴⁷ e conseqüentemente melhorando a molhabilidade na dentina desmineralizada.²⁶ Torna-se fácil entender o porquê da melhora estatisticamente significativa nos valores de μ TBS no substrato erodido tratado com DMSO em relação o substrato erodido sem tratamento com DMSO. Dentina erodida é caracterizada pela desmineralização da superfície e uma maior desorganização na sua disposição das fibras colágenas, que se encontram colabadas, podendo dessa forma, dificultar ainda mais a hibridização desse

substrato pelo sistema adesivo, o que compromete a qualidade da adesão.^{45, 52}

No substrato dentinário sadio a aplicação de cada adesivo universal nas estratégias de condicionamento total resultou em médias de μ TBS estatisticamente semelhantes as obtidas quando aplicados em modo auto-condicionante. Sabe-se que sistemas adesivos universais foram desenvolvidos sob o conceito de serem adesivos “Multi-modo”, permitindo ao cirurgião dentista a flexibilidade de adaptá-los as diferentes situações clínicas^{35, 48}, podendo ser utilizados sob diferentes modos de condicionamento.

Para a dentina erosionada as estratégias adesivas também apresentaram valores de μ TBS estatisticamente similares. Zimmertli *et al*,⁵² relataram que a presença de uma área não impregnada com sistemas adesivos no substrato erosionado devido ao condicionamento total poderia interferir na adesão a este substrato. Além disso, os mesmos autores relataram que os adesivos SE proporcionam uma melhor adesão porque reduz a discrepância entre a desmineralização e infiltração dos monômeros na dentina erosionada.⁵² Porém, no nosso estudo e similar ao que ocorreu no estudo de Siqueira *et al*,⁴¹ 2016, quando os adesivos universais foram utilizados tanto no modo autocondicionamento como com condicionamento total sob o substrato erosionado, foram encontradas médias de resistência de união de semelhantes bem como a outros estudos anteriores.^{6, 9, 18}

Acredita-se que a adesão ao substrato erodido é mais complexa do que em dentina sadia.^{40, 41} A dentina erodida exibe uma camada desmineralizada mais profunda e a presença de uma matriz de colágeno fibroso denso com capacidade tampão suficiente para proteger a dentina da desmineralização.² Segundo Siqueira *et al*,⁴¹ 2016 essas fibras de colágeno tem a capacidade tampão contra perda mineral durante o processo erosivo, o que também poderiam ter influenciado o desempenho dos adesivos universais quando usado com o condicionamento total. Essa mudança na dentina erodida também justifica a diminuição dos valores de resistência de união para este substrato quando comparado ao sadio, assim como os maiores valores de NI quando comparados com a dentina sadia.

Sabe-se que durante a adesão à dentina (procedimento restaurador), uma matriz colágena é exposta pela ação do condicionamento com ácido. A infiltração de monômeros nesta matriz, encapsula as fibrilas colágenas e promove um microembricamento mecânico após a fotopolimerização, formando a camada híbrida. Essa é a base que sustenta as restaurações adesivas. Assim, a estabilidade e manutenção das fibrilas colágenas são essenciais para que essa união seja eficaz e duradoura.

Infelizmente a infiltração completa de monômeros resinosos dentro da dentina desmineralizada com ácido fosfórico não ocorre em toda a extensão, gerando uma discrepância entre desmineralização e a profundidade de infiltração de monômeros.^{15, 16} Além disto, com o passar do tempo há também degradação do polímero dentro da

camada híbrida.^{3,20} Consequentemente, parte das fibrilas colágenas fica exposta e sujeita à degradação enzimática.^{25, 31, 33}

Esta problemática torna-se ainda mais acentuada durante a adesão em dentina erosionada, já que ela se apresenta biológica, mecânica e estruturalmente modificada, com uma maior desorganização na sua disposição colágena, podendo dessa forma, dificultar ainda mais a hibridização desse substrato pelo sistema adesivo, o que compromete a qualidade da adesão.^{45, 52}

Embora a aplicação do DMSO mostrou uma diminuição da deposição do nitrato de prata ao longo da interface adesiva, independente do substrato, nenhum grupo mostrou-se livre de infiltração. Sabe-se que mesmo a aplicação do DMSO tenha diminuído a infiltração, a natureza hidrofílica do adesivo não pode ser alterada apenas pela utilização desta substância.^{4, 16} Para isso, alternativas para melhorar a evaporação de água/solvente ou tentar produzir interfaces adesivas menos finas e menos permeáveis ainda precisam ser procuradas.^{4, 16} Quando comparamos substrato sadio e erosionado, com ou sem aplicação de DMSO e independente do sistema adesivo utilizado, os valores de NI foram maiores.

Mais estudos que avaliem a interface adesiva em dentina erosionada após aplicação do DMSO precisam ser desenvolvidos, principalmente sobre o seu desempenho ao longo do tempo. Pois essas informações são necessárias para a correta validação de técnicas realizadas *in vitro*.

5. CONCLUSÃO

O Dimetilsulfóxido melhora significativamente o os valores da resistência de união e diminui satisfatoriamente os valores de nanoinfiltração, na adesão à dentina erosionada, independente da estratégia adesiva e do sistema adesivo utilizado.

REFERÊNCIAS

1. Al-Ammar A, Drummond JL, Bedran-Russo AK. The use of collagen cross-linking agents to enhance dentin bond strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009;91:419-424.
2. Breschi L, Gobbi P, Mazzotti G, Falconi M, Ellis TH, Stangel I. High resolution sem evaluation of dentin etched with maleic and citric acid. *Dent Mater* 2002;18:26-35.
3. Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater* 2008;24:90-101.
4. Cadenaro M, Antonioli F, Sauro S, Tay FR, Di Lenarda R, Prati C, Biasotto M, Contardo L, Breschi L. Degree of conversion and permeability of dental adhesives. *Eur J Oral Sci* 2005;113:525-530.
5. Carvalho TS, Colon P, Ganss C, Huysmans MC, Lussi A, Schlueter N, Schmalz G, Shellis PR, Bjorg Tveit A, Wiegand A. Consensus report of the european federation of conservative dentistry: Erosive tooth wear diagnosis and management. *Swiss Dent J* 2016;126:342-346.
6. Cruz JB, Bonini G, Lenzi TL, Imparato JC, Raggio DP. Bonding stability of adhesive systems to eroded dentin. *Braz Oral Res* 2015;29.
7. Cruz JB LT, Tedesco TK, Guglielmi Cde A, Raggio DP. Eroded dentin does not jeopardize the bond strength of adhesive restorative materials. *Braz Oral Res* 2012;26:306 - 312.
8. Flury S, Koch T, Peutzfeldt A, Lussi A, Ganss C. The effect of a tin-containing fluoride mouth rinse on the bond between resin composite and erosively demineralised dentin. *Clin Oral Investig* 2013;17:217-225.
9. Forgerini TV, Ribeiro JF, Rocha RO, Soares FZ, Lenzi TL. Role of etching mode on bonding longevity of a universal adhesive to eroded dentin. *J Adhes Dent* 2017;19:69-75.

10. Francisconi-dos-Rios LF, Casas-Apayco LC, Calabria MP, Francisconi PA, Borges AF, Wang L. Role of chlorhexidine in bond strength to artificially eroded dentin over time. *J Adhes Dent* 2015;17:133-139.
11. Geurtsen W, Lehmann F, Spahl W, Leyhausen G. Cytotoxicity of 35 dental resin composite monomers/additives in permanent 3T3 and three human primary fibroblast cultures. *J Biomed Mater Res* 1998;41:474-480.
12. Gillam DG, Seo HS, Bulman JS, Newman HN. Perceptions of dentine hypersensitivity in a general practice population. *J Oral Rehabil* 1999;26:710-714.
13. Gregoire G, Dabsie F, Dieng-Sarr F, Akon B, Sharrock P. Solvent composition of one-step self-etch adhesives and dentine wettability. *J Dent Biomater* 2011;39:30-39.
14. Hashimoto M. A review--micromorphological evidence of degradation in resin-dentin bonds and potential preventional solutions. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2010;92:268-280.
15. Hashimoto M, Ohno H, Endo K, Kaga M, Sano H, Oguchi H. The effect of hybrid layer thickness on bond strength: demineralized dentin zone of the hybrid layer. *Dent Mater* 2000;16:406-411.
16. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Sano H, Tay FR, Oguchi H, Araki Y, Kubota M. Over-etching effects on micro-tensile bond strength and failure patterns for two dentin bonding systems. *J Dent* 2002;30:99-105.
17. Imfeld T. Dental erosion. Definition, classification and links. *Eur J Oral Sci* 1996;104:151-155.
18. Lenzi TL, Soares FZ, Raggio DP, Pereira GK, Rocha RO. Dry-bonding etch-and-rinse strategy improves bond longevity of a universal adhesive to sound and artificially-induced caries-affected primary dentin. *J Adhes Dent* 2016;18:475-482.
19. Lewis KJ, Smith BG. The relationship of erosion and attrition in extensive tooth tissue loss. Case reports. *Br Dent J* 1973;135:400-404.
20. Liu Y, Tjaderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Li N, Mao J, Pashley DH, Tay FR. Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. *J Dent Res* 2011;90:953-968.

21. Lussi A, Jaggi T, Scharer S. The influence of different factors on in vitro enamel erosion. *Caries Res* 1993;27:387-393.
22. Magalhaes AC, Levy FM, Souza BM, Cardoso CA, Cassiano LP, Pessan JP, Buzalaf MA. Inhibition of tooth erosion by milk containing different fluoride concentrations: an in vitro study. *J Dent* 2014;42:498-502.
23. Marren K. Dimethyl sulfoxide: an effective penetration enhancer for topical administration of nsaid. *J Phys Fit Sportsmed* 2011;39:75-82.
24. Martin D, Weise A, Niclas HJ. The solvent dimethyl sulfoxide. *Angew Chem Int Ed Engl* 1967;6:318-334.
25. Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, Breschi L, Mannello F, Tjaderhane L, Toledano M, Pashley EL, Tay FR. Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. *Biomaterials* 2006;27:4470-4476.
26. Mehtälä P, Agee K, Breschi L, Pashley DH, Tjäderhane L. Proprietary solvent enhances dentin wettability. *Dent Mater*;26:e12-e13.
27. Mehtala P, Pashley DH, Tjaderhane L. Effect of dimethyl sulfoxide on dentin collagen. *Dent Mater* 2017;33:915-922.
28. Miller GD, Jarvis JK, McBean LD. The importance of meeting calcium needs with foods. *J Am Coll Nutr* 2001;20:168S-185S.
29. Moss SJ. Dental erosion. *Int Dent J* 1998;48:529-539.
30. Munoz MA, Luque I, Hass V, Reis A, Loguercio AD, Bombarda NH. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. *J Dent* 2013;41:404-411.
31. Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, Breschi L, Mannello F, Mazzoni A, Carvalho RM, Tjaderhane L, Tay FR, Pashley DH. Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. *Eur J Oral Sci* 2006;114:160-166.
32. Nunn JH, Gordon PH, Morris AJ, Pine CM, Walker A. Dental erosion - changing prevalence? A review of British National childrens' surveys. *Int J Paediatr Dent* 2003;13:98-105.

33. Osorio R, Yamauti M, Osorio E, Ruiz-Requena ME, Pashley D, Tay F, Toledano M. Effect of dentin etching and chlorhexidine application on metalloproteinase-mediated collagen degradation. *Eur J Oral Sci* 2011;119:79-85.
34. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, Ito S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res* 2004;83:216-221.
35. Perdigao J, Munoz MA, Sezinando A, Luque-Martinez IV, Staichak R, Reis A, Loguercio AD. Immediate adhesive properties to dentin and enamel of a universal adhesive associated with a hydrophobic resin coat. *Oper Dent* 2014;39:489-499.
36. Perdigao J, Swift EJ, Jr. Universal Adhesives. *J Esthet Restor Dent* 2015;27:331-334.
37. Prati C, Montebugnoli L, Suppa P, Valdre G, Mongiorgi R. Permeability and morphology of dentin after erosion induced by acidic drinks. *J Periodontol* 2003;74:428-436.
38. Ramos TM, Ramos-Oliveira TM, de Freitas PM, Azambuja N, Jr., Esteves-Oliveira M, Gutknecht N, de Paula Eduardo C. Effects of Er:YAG and Er,Cr:YSGG laser irradiation on the adhesion to eroded dentin. *J Lasers Med Sci* 2015;30:17-26.
39. Reis A, Grande RH, Oliveira GM, Lopes GC, Loguercio AD. A 2-year evaluation of moisture on microtensile bond strength and nanoleakage. *Dent Mater* 2007;23:862-870.
40. Siqueira F, Cardenas A, Gomes GM, Chibinski AC, Gomes O, Bandeca MC, Loguercio AD, Gomes JC. Three-year effects of deproteinization on the in vitro durability of resin/dentin-eroded interfaces. *Oper Dent* 2018;43:60-70.
41. Siqueira F, Cardenas AM, Gutierrez MF, Malaquias P, Hass V, Reis A, Loguercio AD, Perdigao J. Laboratory performance of universal adhesive systems for luting CAD/CAM restorative materials. *J Adhes Dent* 2016;18:331-340.
42. Stape TH, Tezvergil-Mutluay A, Mutluay MM, Martins LR, do Prado RL, Pizi EC, Tjaderhane L. Influence of dimethyl sulfoxide used as a solvent on the physical properties and long-term dentin bonding of hydrophilic resins. *J Mech Behav Biomed Mater* 2016;64:220-228.

43. Stape TH, Tjaderhane L, Marques MR, Aguiar FH, Martins LR. Effect of dimethyl sulfoxide wet-bonding technique on hybrid layer quality and dentin bond strength. *Dent Mater* 2015;31:676-683.
44. Stape TH, Tjaderhane L, Tezvergil-Mutluay A, Yanikian CR, Szesz AL, Loguercio AD, Martins LR. Dentin bond optimization using the dimethyl sulfoxide-wet bonding strategy: A 2-year in vitro study. *Dent Mater* 2016;32:1472-1481.
45. Tjaderhane L, Buzalaf MA, Carrilho M, Chaussain C. Matrix metalloproteinases and other matrix proteinases in relation to cariology: the era of 'dentin degradomics'. *Caries Res* 2015;49:193-208.
46. Tjaderhane L, Mehtala P, Scaffa P, Vidal C, Paakkonen V, Breschi L, Hebling J, Tay FR, Nascimento FD, Pashley DH, Carrilho MR. The effect of dimethyl sulfoxide (DMSO) on dentin bonding and nanoleakage of etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater* 2013;29:1055-1062.
47. Vishnyakov A, Lyubartsev AP, Laaksonen A. Molecular dynamics simulations of dimethyl sulfoxide and dimethyl sulfoxide-water mixture. *Open J of Phys Chem* 2001;105:1702-1710.
48. Wagner A, Wendler M, Petschelt A, Belli R, Lohbauer U. Bonding performance of universal adhesives in different etching modes. *J Dent* 2014;42:800-807.
49. West NX, Sanz M, Lussi A, Bartlett D, Bouchard P, Bourgeois D. Prevalence of dentine hypersensitivity and study of associated factors: a European population-based cross-sectional study. *J Dent* 2013;41:841-851.
50. Zarella BL, Cardoso CA, Pela VT, Kato MT, Tjaderhane L, Buzalaf MA. The role of matrix metalloproteinases and cysteine-cathepsins on the progression of dentine erosion. *Arch Oral Biol* 2015;60:1340-1345.
51. Zimmerley M, McClure RA, Choi B, Potma EO. Following dimethyl sulfoxide skin optical clearing dynamics with quantitative nonlinear multimodal microscopy. *Appl Opt* 2009;48:D79-87.
52. Zimmerli B, De Munck J, Lussi A, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Long-term bonding to eroded dentin requires superficial bur preparation. *Clin Oral Investig* 2012;16:1451-1461.

ANEXOS

1.METODOLOGIA DETALHADA

1.1 SELEÇÃO E PREPARO DOS DENTES

Esse trabalho foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade local sob o protocolo nº 2.851.586. Os dentes foram coletados após a obtenção do termo de consentimento livre e esclarecido dos pacientes. Um total de 80 molares humanos livres de cárie foram utilizados neste estudo. Os molares foram desinfetados com uma solução em timol a 1% e armazenados em água destilada em temperatura de 37 °C por até 6 meses após a extração.

A superfície do esmalte oclusal desses dentes foi removida seccionando-se o terço oclusal da coroa com uma máquina de corte de precisão (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA). A seguir, a *smear layer* e a rugosidade da superfície foram padronizadas utilizando lixas de carbeto de silício 600 (CarbiMet, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA) sob irrigação com água, por 60 s (Figura 1).



Figura 1. Sequência de seleção e preparo dos dentes

1.2 DESENHO EXPERIMENTAL

Os dentes foram distribuídos aleatoriamente em 16 condições experimentais (n = 5 dentes por grupo para os testes de resistência de união (μ TBS) e nanoinfiltração (NI) de acordo com as combinações das variáveis independentes: (1) Substrato dentinário: Dentina sadia ou dentina erosionada; (2) Aplicação do DMSO: com ou sem aplicação; (3) Estratégia adesiva: condicionamento total (ER) ou auto-condicionante (SE). Para o presente trabalho, dois sistemas adesivos universais (Scotchbond Universal e Ibond Universal) foram utilizados (Tabela 1).

Tabela 1. Sistema adesivo (Lote), composição, grupos e modo de aplicação dos sistemas adesivos utilizados para os diferentes grupos experimentais.

Sistema adesivo (Marca/Lote)	Composição	Modo de aplicação	
		Condicionamento total (ER)	Autocondicionante (SE)
Scotchbond -Universal 3M ESPE (523652)	10-MDP, monômeros dimetacrilatos, HEMA, copolímero de acrílico, ácido itacônico, nanopartículas, etanol, água, caforoquinona, silano	1-Aplicar o ácido por 15 s; 2-Enxaguar por 10s; 3-Aplicar o DMSO por 60 s; 4-Remover o excesso de água por 2 s com jato de ar; 5-Aplicar o adesivo da mesma forma que o auto-condicionante	1-Aplicar do DMSO por 60 s; 2-Aplicar o adesivo ativamente por 20 s e se necessário, reaplique; 3-Secar cuidadosamente por 5 s com jato de ar, até que o adesivo não se mova e só o solvente evapore completamente; 4-Fotoativar por 40 s a 1200mW/cm ²
IBond Universal Heraeus Kulzer (010024)	UDMA, 4-META, glutaraldeído, acetona, água, foto-iniciadores, estabilizadores	1-Aplicar o ácido por 15 s; 2-Enxaguar por 10 s; 3-Aplicar o DMSO por 60s; 4-Jato de ar para remover excesso de água; 5-Aplicar da mesma forma que o auto-condicionante.	1-Aplicar o DMSO por 60 s; 2-Aplicar o adesivo por 20s e caso necessário, reaplicar. Aguardar 30 s; 3-Jato de ar por 10 s; 4- Fotoativar por 40 s a 1200mW/cm ²

1.3 MODELO DE CICLAGEM DE PH

Dos 80 molares sadios utilizados no presente estudo, 40 foram aleatoriamente selecionados para a realização da erosão por meio da ciclagem erosiva. Previamente à ciclagem erosiva, as áreas laterais e radiculares foram recobertas com duas camadas de verniz para unha,

permitindo a que a desmineralização erosiva ocorresse apenas na superfície oclusal. Os quarenta dentes foram expostos a um procedimento erosivo de des- e remineralização cíclica por imersão em refrigerante Coca-Cola, pH 2,6 (Coca-Cola Company, Atlanta, Geórgia, Estados Unidos) quatro vezes ao dia por 90 s cada (10 ml por amostra) por 5 dias.^{22,50} O refrigerante foi renovado a cada desafio erosivo e a solução de remineralização foi substituída diariamente (Figura 2).

Após cada desmineralização, os espécimes foram lavados com água deionizada (10s) e imersos em uma solução remineralizante (4,08 mM H₃PO₄;20.10 mM KCl , 11,9 mM Na₂CO₃, e 1,98 mM CaCl₂, pH de 6,7, 10 ml por amostra) durante 60 min.⁸ Os níveis de pH de todas as soluções foram monitorados periodicamente usando um medidor de pH (E520, Metrohm; Herisau, Suíça).

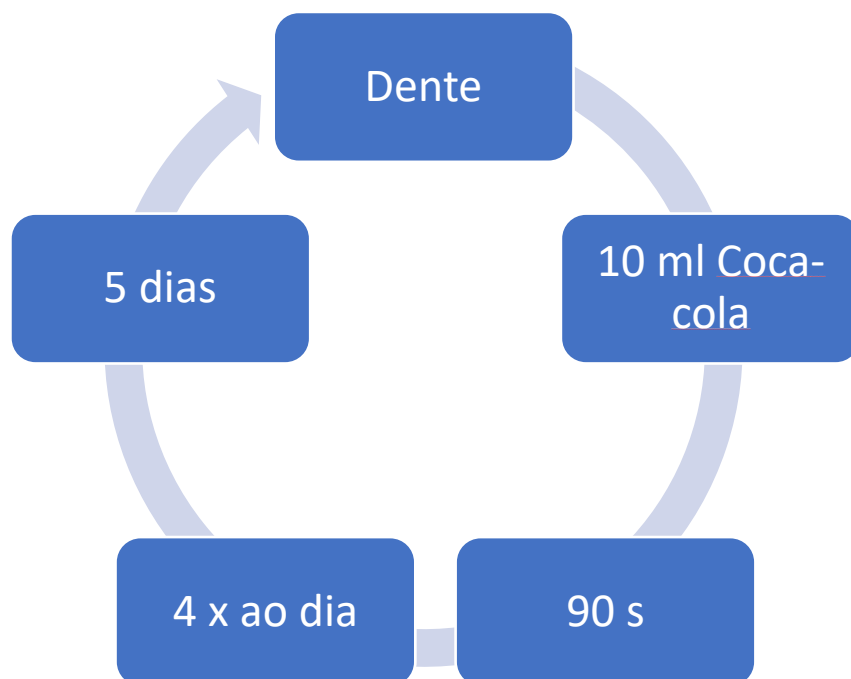


Figura 2. Fluxograma com a sequência do ciclo de erosão

1.4 PROCEDIMENTO RESTAURADOR E PREPARO DOS ESPÉCIMES

Os dentes foram distribuídos de acordo com as combinações das variáveis já citadas para o procedimento restaurador.

1.4.1 PRÉ-TRATAMENTO COM DMSO

Todos os *primers* contendo DMSO foram preparados de acordo com Stape et al, ⁴⁴. Para isto, 50 µL de DMSO (Dimetilsulfóxido, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) (pH 8,2) foram misturados à uma base de água 50% (v/v). Para a estratégia de condicionamento total (ER), os *primers* contendo DMSO foram sempre aplicados após o condicionamento com ácido e em seguida o sistema adesivo foi aplicado segundo a recomendação do fabricante. Para a estratégia auto-condicionante, os *primers* foram aplicados antes da aplicação do sistema adesivo (Tabela 1). Os *primers* contendo DMSO foram renovados diariamente e mantidos em ambiente natural.

1.4.2 PREPARO DOS ESPÉCIMES

Para a estratégia adesiva com condicionamento total os dentes foram condicionados com gel de ácido fosfórico 37% (FGM Dental Products, Joinville, SC, Brasil) durante 15 s, lavados com jatos de água (30 s), secas com ar (5 s) e mantidas ligeiramente úmidas. Para os grupos experimentais o quais os *primers* de DMSO foram utilizados, estes foram aplicados ativamente por 60 s com auxílio de um microbrush descartável, seguido da aplicação de um jato de ar 5 s. ^{43, 44} Os sistemas adesivos foram aplicados segundo

recomendações do fabricante e fotoativados com um aparelho fotopolimerizador com um dispositivo LED (Radii, SDI; Bayswater, Victoria, Australia) em modo de alta potência (1200 mW/cm²). Para os adesivos na estratégia auto-condicionante, quando necessário o DMSO foi aplicado de maneira

semelhante, previamente à aplicação do sistema adesivo (Figura 3).

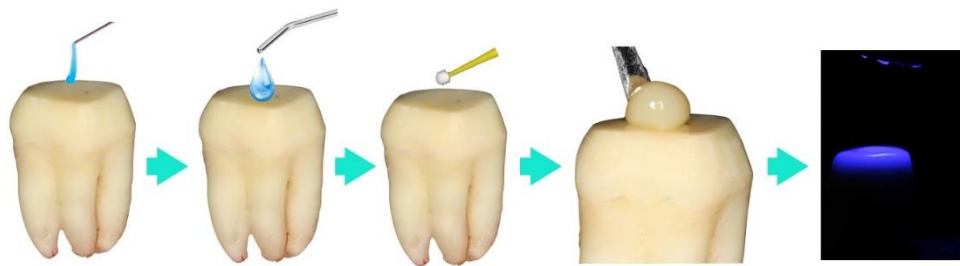


Figura 3. Aplicação do sistema adesivo e procedimento restaurador

1.4.3 PROCEDIMENTO RESTAURADOR

Os dentes foram restaurados com três incrementos de 2mm cada com a resina composta Llis, (FGM Dental Products, Joinville, SC, Brasil) e cada incremento fotopolimerizado por 40 s, com o mesmo aparelho fotopolimerizador. Todos os procedimentos foram realizados por um operador treinado e calibrado previamente (Figura 3).

Após o armazenamento em água destilada a 37° C por 24 h, os dentes restaurados foram seccionados longitudinalmente no sentido

mesio-distal e vestibulo-lingual através da interface de união, usando um disco diamantado em baixa velocidade para obtenção de palitos com uma área de secção transversal de aproximadamente 0,8 mm², medido com auxílio de um paquímetro digital. O número de palitos com falhas prematuras (FP) foi registrado durante o seccionamento.

1.5 TESTE DE RESISTÊNCIA DE UNIÃO À MICROTRAÇÃO (μ TBS)

Os palitos de resina-dentina foram fixados em garras de Geraldeli com cola de cianoacrilato em gel e testados em uma máquina de ensaio universal Instron (Instron, Norwood, MA, US) a 0,5 mm/min de tensão com uma carga de 100N, até a ruptura da interface adesiva. Os valores de μ TBS em (MPa) foram anotados.

O modo de falha dos palitos foi classificado como coesiva ([C] falha exclusivamente na dentina ou resina composta) e falha adesiva ([A/M] na interface resina-dentina / falha coesiva parcial em substratos vizinhos). O modo de falha foi avaliado em um estereomicroscópio com aumento de 100x (Olympus SZ40, Tóquio, Japão). Espécimes com falhas prematuras (FP) foram incluídos na média por dente para análise estatístico. (Fig.4)

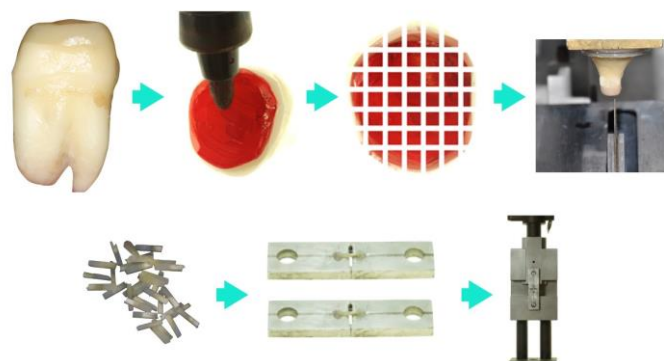


Figura 4. Sequência do teste de resistência de união

1.6 ANÁLISE DA NANOINFILTRAÇÃO (NI) POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Três palitos randomizados de cada dente, que não foram testados por μ TBS, foram imersos em solução amoniacal de nitrato de prata a 50% em peso por 24 h em ambiente escuro protegido da luz. Então, os espécimes foram lavados em água destilada e armazenados em solução reveladora (Kodak, Rochester, Nova York, EUA) sob luz fluorescente por 8 h para que existisse redução dos íons de prata ao longo das microporosidades na interface de união.

Depois disso, os espécimes foram fixados em *stubs* de alumínio e polidos com lixas de SiC de granulação #600, #1000, #1200, #1500, #2000 e #2500 e pastas diamantadas granulação 1 e 0,25 μ m. Posteriormente, os *stubs* contendo os espécimes foram lavados em cuba ultrassônica por 30 min, desidratados em ambiente contendo sílica e cobertos com ouro-carbono. As interfaces foram observadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) no modo de elétrons retroespalhados, na magnificação de 1000x.

Três microfotografias foram obtidas para cada espécime: a primeira ao centro, e as outras duas a 0,3 mm para a direita e esquerda a partir da primeira microfotografia.³⁹ E a porcentagem de nanoinfiltração dentro das camadas adesiva e híbrida foram

mensuradas por um software específico de domínio público Image J software program. (Fig.5)



Figura 5. Sequência da nanoinfiltração

1.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A resistência de união do Scotchbond Universal na dentina hígida, foi considerada para o cálculo amostral. De acordo com a literatura, a média de μ TBS é de $53,6 \pm 5,0$ MPa.^{30,36} Usando um alfa de 0,05, poder de 80% e teste bilateral, o tamanho mínimo da amostra foi de 5 dentes em cada grupo, a fim de detectar uma diferença de 10 MPa entre os grupos testados. O cálculo foi realizado utilizando o site www.sealedenvelope.com.

Média dos valores de resistência de união (μ TBS) e nanoinfiltração (NI) obtidos do mesmo dente foi realizada para fins estatísticos de modo que a unidade experimental neste estudo foi o dente. Antes de submeter os dados à análise estatística, todos os dados foram verificados quanto à distribuição normal por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov para determinar se a suposição de variâncias iguais era válida. Após a confirmação da distribuição

normal, para cada adesivo, os dados de μ TBS (Mpa) e NI (%) foram analisados separadamente usando ANOVA três fatores (substrato dentinário vs. Aplicação do DMSO vs. Estratégia adesiva), e o pós-teste de Tukey com um nível de significância de 5%.

Anexo 2: PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ALTERNATIVAS PARA MELHORAR A ADESÃO À DENTINA EROSIONADA

Pesquisador: Andrés Felipe Millan Cardenas

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 92088618.8.0000.5084

Instituição Proponente: CEUMA-ASSOCIACAO DE ENSINO SUPERIOR

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.851.586

Apresentação do Projeto:

O objetivo do presente trabalho será avaliar o efeito da aplicação de primers com agentes reticuladores de colágeno na biomodificação da dentina erosionada, em relação as propriedades adesivas, químicas e mecânicas. 54 dentes serão distribuídos de acordo com 6 condições experimentais ($n = 54$ espécimes de dentina para resistência de união (TBS), nanoinfiltração (NI) e grau de conversão in situ (GC). As superfícies oclusais dos dentes serão cortadas $3 \text{ mm} \pm 1 \text{ mm}$, em seguida, serão lixadas com lixas de granulação 600 para padronizar o smear layer. Após isto, o protocolo erosivo será realizado e então os dentes serão distribuídos de acordo com a combinação das variáveis independentes: (1) dois diferentes sistemas adesivos e (2) Agentes de tratamento: Controle (apenas erosionado), primer contendo proantocianidina e primer contendo riboflavina. Todos os primers contendo os agentes reticuladores de colágeno serão preparados em DMSO. Os sistemas adesivos serão aplicados de acordo com as especificações do fabricante após aplicação dos primers e em seguida serão restaurados de forma incremental. A seguir, os dentes serão seccionados e testados para obtenção de espécimes em formato de "palito" para a análise da TBS. Para a análise de NI, palitos que não foram utilizados no teste de TBS serão imersos em uma solução de nitrato de prata por 24 h em ambiente escuro. Após este período, serão revelados sob luz fluorescente por 8 h e fixados em stubs metálicos para avaliação da interface por microscopia eletrônica de varredura no modo retroespalhados. Para avaliação do GC, dois palitos por cada condição experimental serão limpos e lixados. Após isto, eles serão avaliados por espectroscopia

Endereço: DCS CASTANHEIROS
Bairro: JARDIM RENASCENÇA
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)3214-4212 **CEP:** 65.075-120
E-mail: cep@ceuma.br



Continuação do Parecer: 2.851.585

de Raman. Para a análise estatística, a unidade experimental será o dente e os dados serão submetidos à análise de variância e teste de Tukey para comparação das médias ($\alpha = 0,05$).

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar o efeito da aplicação de primers contendo agentes reticuladores de colágeno na biomodificação da dentina erosionada, em relação as propriedades adesivas, químicas e mecânicas.

Objetivo Secundário:

Avaliar o efeito do uso de primers contendo agentes reticuladores de colágeno nas propriedades da interface resina-dentina erosionada por meio de resistência de união, nanoinfiltração e grau de conversão.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Riscos do paciente:

Como esta pesquisa será realizada em dentes extraídos por indicação terapêutica, os riscos a sua saúde, são os mesmos que você teria se não consentisse com a participação/doação do elemento dental, ou seja os mesmos riscos da exodontia terapêutica (Utilização de anestésico local e infecção localizada).

Riscos e benefícios do pesquisador: Por se tratar de um estudo laboratorial, os riscos seriam oriundos das etapas laboratoriais durante manipulação dos dentes e confecção dos espécimes. No entanto, medidas como a utilização de equipamentos de proteção individual como gorro, máscara, luvas e óculos são importantes e serão utilizadas em todas as etapas.

Benefícios:

Além de da contribuição a ciência pela procura de novos materiais e técnicas que melhorem a adesão na dentina erosionada, a realização do procedimento cirúrgico do paciente, eliminará a formação de cistos, tumores ou surgimento de infecções decorrentes do acúmulo de bactérias nos dentes que estão com indicação prévia para extração.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo experimental a ser realizado utilizando dentes extraídos. A pesquisa tem relevância científica e tem metodologia bem estruturada que responde aos objetivos propostos.

Endereço: DCS CASTANHEIROS
Bairro: JARDIM RENASCENÇA **CEP:** 65.075-120
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)3214-4212 **E-mail:** cep@ceuma.br



CENTRO UNIVERSITÁRIO DO
MARANHÃO - UNICEUMA



Continuação do Parecer: 2.851.585

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Trata-se de uma reapresentação do projeto de pesquisa, onde todas as pendências solicitadas no parecer anterior foram apresentadas. As adequações realizadas nos documentos respeitam a resolução 466/12 CNS

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências

Considerações Finais a critério do CEP:

O PESQUISADOR DEVERÁ APRESENTAR A ESTE CEP RELATÓRIO PARCIAL E FINAL DA PESQUISA

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1106970.pdf	05/08/2018 14:26:24		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Lucila.docx	05/08/2018 14:25:50	Andrés Felipe Millan Cardenas	Aceito
Outros	Carta_respos.pdf	05/08/2018 14:24:29	Andrés Felipe Millan Cardenas	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_CONSENTIMENTO_LIVRE_E_ESCLARECIDO.pdf	05/08/2018 14:23:52	Andrés Felipe Millan Cardenas	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	infradinic.pdf	05/08/2018 14:23:35	Andrés Felipe Millan Cardenas	Aceito
Declaração de Pesquisadores	carta_anuencia_lucila.pdf	05/08/2018 14:23:22	Andrés Felipe Millan Cardenas	Aceito
Declaração de Pesquisadores	carta_anuencia_andres.pdf	05/08/2018 14:23:09	Andrés Felipe Millan Cardenas	Aceito
Folha de Rosto	fohaderostro.pdf	13/04/2018 08:32:03	Andrés Felipe Millan Cardenas	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não



CENTRO UNIVERSITÁRIO DO
MARANHÃO - UNICEUMA



Continuação do Processo: 2.851.585

SAO LUIS, 29 de Agosto de 2018

Assinado por:

RUDYS RODOLFO DE JESUS TAVAREZ
(Coordenador)

Anexo 3 – NORMAS DA REVISTA: JOURNAL OF ADHESIVE DENTISTRY

PREPARAÇÃO DO MANUSCRITO

- O Jornal seguirá o máximo possível recomendações do Comitê Internacional de

Editores de Revistas Médicas (Vancouver Group) em relação a preparação de manuscritos e autoria (Uniformes requisitos para manuscritos submetidos à biomedicina revistas. Ann Intern Med 1997; 126: 36-47).

- Folha de rosto. A primeira página deve incluir o título de o artigo (descritivo, mas o mais conciso possível) e o nome, graduação, cargo, afiliação profissional, contribuição para o artigo (por exemplo, idéia, hipótese, projeto experimental, realizou os experimentos em cumprimento parcial dos requisitos para um diploma, escreveu o manuscrito, revisou o manuscrito, realizou um determinado teste, consultado e realizado avaliação, contribuiu substancialmente para a discussão, etc.) e endereço completo de todos os autores. Telefone, fax e e-mail endereço também deve ser fornecido para o correspondente autor, que será considerado o primeiro autor listado salvo indicação em contrário. Se o papel foi apresentado antes de um grupo organizado, o nome da organização, localização e data devem ser incluídos.
- 3-8 palavras-chave.

- **Resumo estruturado.** Inclua no máximo 250 palavras. Resumo estruturado (com cabeçalhos Finalidade, Materiais e Métodos, Resultados, Conclusão).
- **Introdução.** Resumir a lógica e propósito de o estudo, dando apenas referências pertinentes. Claramente declarar a hipótese de trabalho.
- **Materiais e métodos.** Apresentar materiais e métodos com detalhes suficientes para permitir a confirmação da observações. Métodos publicados devem ser referenciados e discutido apenas brevemente, a menos que as modificações tenham foi feito. Indique os métodos estatísticos utilizados, se aplicável.
- **Resultados.** Apresentar resultados em uma seqüência lógica no texto, tabelas e ilustrações. Não repita no texto todos os dados nas tabelas ou ilustrações; enfatizar apenas observações importantes.
- **Discussão.** Enfatize os aspectos novos e importantes do estudo e as conclusões que se seguem. Não repita em detalhes dados ou outros materiais dados na Introdução ou seção de resultados. Relacione as observações para outros estudos relevantes e apontam as implicações da as descobertas e suas limitações.
- **Agradecimentos** Reconheça pessoas que têm fez contribuições substanciais para o estudo. Especificamos concessão ou outro apoio financeiro, citando o nome do organização de apoio e número de concessão.

- Abreviações O termo completo para o qual uma abreviatura estandes devem preceder seu primeiro uso no texto, a menos que é uma unidade padrão de medição.
- nomes comerciais. Termos genéricos devem ser usados sempre que possível, mas nomes comerciais e fabricantes devem ser incluído entre parênteses na primeira menção.
- Relevância clinica. Por favor, inclua um breve (2 frases ou 3 linhas) declaração de relevância clínica.

REFERÊNCIAS

- Todas as referências devem ser citadas no texto, de acordo com a lista de referências alfabética e numérica.
- A lista de referências deve aparecer no final do artigo, em seqüência alfabética e numérica.
- Não inclua dados não publicados ou comunicações pessoais na lista de referências. Citar essas referências entre parênteses no texto e inclua uma data.
- Evite usar resumos como referências.
- Fornecer informações completas para cada referência, incluindo nomes de todos os autores. Se a referência é parte de um livro, também incluem o título do capítulo e nomes do (s) editor (es) do livro.

Estilo de referência do diário:

1. Turp JC, Kowalski CJ, Stohler CS. Tratamento-buscando padrões de pacientes com dor facial: muitas possibilidades, satisfação limitada. J Orofacial Pain 1998; 12: 61-66.

Estilo de referência do livro:

1. Hannam AG, Langenbach GEJ, Peck CC. Computador simulações de biomecânica mandibular. Em: McNeill C (ed).Ciência e Prática da Oclusão. Chicago: Quintessence, 1997: 187-194.

ILUSTRAÇÕES

- Todas as ilustrações devem ser numeradas e citadas no texto em ordem de aparição.
- Os valores apresentados devem atender ao seguinte mínimo requisitos:
 - Imagens de alta resolução devem ter uma largura de 83 mm e 300 dpi (para tamanho de coluna).
 - Gráficos (diagramas de barras, representações esquemáticas, desenhos), sempre que possível, devem ser produzidos em Adobe Illustrator e salvo como arquivos AI ou EPS.
 - Todas as figuras e gráficos devem ser arquivos separados - não incorporado em documentos do Word ou Power Point.

Após a aceitação do artigo, imagem digital de alta resolução. Os arquivos devem ser enviados por uma das seguintes formas:

1. Como anexo de e-mail, se os arquivos não estiverem excessivamente grande (não mais de 10 MB), para a nossa produção departamento: Steinbrueck@quintessenz.de
2. Ferramenta de troca de arquivos on-line: envie seus dados com nossa ferramenta de troca de arquivos online. Esta ferramenta web permite para fazer upload de arquivos grandes (<350,0 MB) para o nosso servidor. Por favor archive suas figuras com um tamanho

máximo de 350 MB primeiro. Em seguida, faça o upload desses arquivos com o seguinte link: <http://files.qvnet.de/JAD/>, senha: IAAD. Por favor nomeie o arquivo com o seu nome e número do artigo para que possamos identificar os números.

Desenhos de linhas - Figuras, gráficos e gráficos devem ser profissionalmente desenhado e rotulado grande o suficiente para ser lido após a redução. Laser de boa qualidade gerado por computador ,impressões são aceitáveis (sem fotocópias); Também fornecemarquivos eletrônicos (eps, ai) se possível. Linhas dentro de gráficos deve ser de um único peso, a menos que a ênfase especial seja necessário.

Legendas - Legendas de figuras devem ser agrupadas em uma folha separada e digitadas em espaço duplo.

TABELAS

- Cada mesa deve ser logicamente organizada, em uma folha e numerados consecutivamente.
- O título e as notas de rodapé devem ser digitados no mesmo folha como a tabela.

FORMULÁRIO DE APRESENTAÇÃO OBRIGATÓRIA

O Formulário de Submissão Obrigatória, assinado por todos os autores, deve acompanhar todos os manuscritos antes que possam ser revisados para publicação.

Envio eletrônico: digitalize o formulário assinado e envie como arquivo JPG ou TIF.

PERMISSÕES E RENÚNCIAS

- Permissão do autor e editor deve ser obtida para o uso direto de material (texto, fotos, desenhos) sob direitos autorais que não pertencem ao autor.
- Renúncias devem ser obtidas para fotografias mostrando pessoas. Quando tais dispensas não são fornecidas, será mascarado para evitar a identificação. Para clínica estuda a aprovação do comitê de ética deve ser apresentado

APÊNDICE

APÊNDICE – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



Universidade do CEUMA – UNICEUMA 1
Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Ceuma
Rua Josué Montello 1, São Luís, MA 65075-120
(98) 3214-4212

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Título da Pesquisa: Alternativas para melhorar a adesão à dentina erosionada

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa que tem o objetivo de encontrar novos materiais que promovam uma maior adesão na dentina erosionada. Para isto, precisamos de dentes humanos extraídos para o desenvolvimento do estudo. No entanto, serão utilizados **APENAS** os dentes que já tem uma indicação prévia para extração de pacientes da Clínica dental BUCAL CLINIC, ou seja, não serão extraídos dentes exclusivamente para essa pesquisa. Nesse caso, você tem total liberdade se deseja doar para realização desse estudo ou não.

Como esta pesquisa será realizada em dentes extraídos por indicação terapêutica na Clínica dental BUCAL CLINIC, os riscos a sua saúde, são os mesmos que você teria se não consentisse sua participação, ou seja os mesmos riscos da exodontia terapêutica (Utilização de anestésico local e infecção localizada).

Os benefícios que você terá pela sua participação serão a da contribuição a ciência pela procura de novos materiais e técnicas que melhorem a adesão na dentina erosionada, além de ajudar no seu tratamento e diminuir a possibilidade da formação de cistos, tumores ou surgimento de infecções decorrentes do acúmulo de bactérias nos dentes que estão com indicação prévia para extração.

No decorrer da pesquisa e na publicação dos resultados sua identidade será mantida em sigilo absoluto através da omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo (a).

O prazo máximo de armazenamento deste material biológico será de 6 meses. Caso queira, o participante da pesquisa, ou seu representante legal, a qualquer tempo e sem quaisquer ônus ou prejuízos, podem retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico (nesse caso seus dentes).

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Universidade Ceuma, pelo Programa de Mestrado em Odontologia, podendo ser publicados posteriormente em revistas da área de



Odontologia. Os dentes utilizados na pesquisa ficarão sob a guarda do pesquisador e após a conclusão da pesquisa serão descartados conforme as normas de descarte de materiais biológicos da instituição acima citada.

Ressaltamos também que a não concordância em doar os dentes para este estudo não implica em qualquer modificação no tratamento estabelecido.

Caso tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, ou aos seus resultados, poderá entrar em contato com os pesquisadores Prof. Dr. Andres Felipe Millan Cardenas (98) 98507-4270 e Lucila Cristina Rodrigues Araújo (98) 98117-5400. Ou entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Ceuma pelo telefone (98) 3214-4212.

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o sujeito da pesquisa.

Você será indenizado por qualquer dano que venha a ocorrer pela sua participação na pesquisa.

São Luís, 02 de agosto de 2018

Assinatura do participante ou seu representante legal

Pesquisador Responsável
Prof. Dr. Andres Felipe Millan Cardenas
CRO: 25938
Rua Perdizes 22, São Luís, MA 65075-340
(98) 3214-4212 - (98) 98507-4270
andresfelipemillancardenas@hotmail.com

Pesquisador Responsável
Lucila Cristina Rodrigues Araujo
CRO: 2469
Avenida dos Holandeses 222, apto 1401. São Luís, MA 65077-357
(98) 3214-4212 - (98) 98117-5400
lucilarodriguesaraujo@hotmail.com