

RICARDO MAIO GAGLIARDI

**INFLUÊNCIA DO DESSENSIBILIZANTE NA PERMEABILIDADE DE
SISTEMAS ADESIVOS APÓS 12 MESES**

BRASÍLIA, 2014

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

RICARDO MAIO GAGLIARDI

**INFLUÊNCIA DO DESSENSIBILIZANTE NA PERMEABILIDADE DE
SISTEMAS ADESIVOS APÓS 12 MESES**

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Orientador: Prof. Dr. Orlando Ayrton de Toledo

BRASÍLIA

2014

RICARDO MAIO GAGLIARDI

**INFLUÊNCIA DO DESSENSIBILIZANTE NA PERMEABILIDADE DE SISTEMAS
ADESIVOS APÓS 12 MESES**

Tese apresentada como requisito parcial para a
obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde
pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Saúde da Universidade de Brasília.

Aprovado em ____ / _____ / ____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Orlando Ayrton de Toledo (Presidente)

Universidade de Brasília (UnB)

Prof. Dr. Arlindo Abreu de Castro Filho

Centro Universitário Euro-Americano (UNIEURO)

Profa. Dra. Fernanda Cristina Pimentel Garcia

Universidade de Brasília (UnB)

Profa. Dra. Silvia Lustosa de Castro

Centro Universitário Euro-Americano (UNIEURO)

Profa. Dra. Maria do Carmo Machado Guimarães

Universidade de Brasília (UnB)

Profa. Dra. Ana Cristina Barreto Bezerra (Suplente)

Universidade de Brasília (UnB)

*Dedico este trabalho à minha querida mãe Maria Herminia (in memorian),
ao meu pai Antônio Ricardo e as minhas irmãs Cláudia e Ligia,
aos amores da minha vida: Eneida, Marina e Luana,
aos meus familiares, em especial Arnaldo e Célia, e amigos.*

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao estimado Prof. Dr. ORLANDO AYRTON DE TOLEDO, agradeço não só pela paciência e confiança na orientação deste trabalho, mas acima de tudo pela pessoa exemplar na dedicação à profissão e aos ensinamentos acadêmicos, por sua simplicidade e humildade, por sua postura e sinceridade. Exemplo de vida e inspiração, como um dos profissionais mais importantes da odontologia brasileira, agradeço a oportunidade de ter sido seu orientando.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À Deus, pela vida e bênçãos nesta caminhada.

Ao amor da minha vida, ENEIDA, por todos esses felizes anos de convivência, pela linda família, pelo carinho, apoio, incentivo, amor infinito.

Às minhas amadas filhas, MARINA e LUANA, por mostrarem a beleza da paternidade e o significado da família.

À querida mãe MARIA HERMINIA, pela dedicação, compreensão, amor, apoio e conforto em todos os momentos (*in memoriam*).

Ao pai ANTÔNIO RICARDO, pelo amor, apoio e por despertar a paixão pela pesquisa científica.

Às irmãs CLAUDIA e LIGIA, cunhados ANDREW e JOÃO, e sobrinhos BIA, LUCAS, ISABELLA e SOFIA, pelo carinho, fraternidade e amizade.

Aos tios ARNALDO e CÉLIA, pelo carinho especial que sempre me deram, por todo apoio, por tudo.

Aos tios ARNALDO e CÉLIA, PAULO e IONE, MARCOS VINÍCIUS, DIVA, e aos primos CÉLIA REGINA, VERIDIANA, LUCIANA, DANIEL, TIAGO, ANDRÉA e ADRIANA, e filhos, pela atenção e carinho.

Ao SÉRGIO, CIDA, POLYANA e MARCO AURÉLIO, ÉRICA e LUIZ HENRIQUE, pela convivência fraternal.

Aos amigos CAETANO e CAMILE, MARCELÃO e ADRIANA, BRUNÃO e LAURA, KERLEY e SAYURI, AURÉLIO e FRAN, MARCELO BASSAN (*in memoriam*), RODRIGO e ÉRICA, IVAN e KELLY, HAN e SIL, RICARDO VERALDI e JULIANA, ÊNIO e MARISTELA, RICARDO VILELA e ANA PAULA, QUIANE, FILIPE e STONES, pelo companheirismo, pela amizade sincera.

Aos colegas de magistério, ARLINDO, JOSÉ MARIANO, GUSTAVO e SILVIA, pela amizade, confiança, parceria e troca de conhecimentos.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Helena Luna, Laboratório de *Genética* - UnB, por ter sido minha primeira orientadora científica, pelo apoio e incentivo, fatores que continuaram norteando a paixão pela vida acadêmica.

Ao Prof. Dr. Rander Avelar, Odontologia - UnB, pelas orientações científicas e incentivo.

À Profa. Dra. Sônia Nair Bão, Laboratório de *Microscopia Eletrônica* - UnB, pelos ensinamentos e ajuda na área de microscopia.

Aos colegas CDs Paulo Sérgio e Bruno Aragão pela ajuda na coleta dos dentes para esse trabalho.

À representante da FGM, Neiva, pelo grande apoio que tem prestado e pelos materiais cedidos para esse trabalho.

À Comissão de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, pelo trabalho dedicado a esse programa.

Aos professores da banca, AYRTON, ARLINDO, FERNANDA, SILVIA, MARIA DO CARMO e ANA CRISTINA por contribuírem com este trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências da Saúde - UnB, sempre prestativos.

Ao aluno Marcos do Laboratório de Ensaio Mecânicos, pela ajuda e orientação nos equipamentos.

**"Não apenas faça seu ofício, mas abra seu
caminho aos segredos Dele, isso e seu
conhecimento poderão te elevar ao Divino"**

Ludwig van Beethoven (1770-1827)

Compositor

RESUMO

O presente estudo tem o objetivo de avaliar *in vitro* a influência do gel Desensibilize[®] (FGM) na permeabilidade de quatro sistemas adesivos, submetidos à termociclagem, e restaurados sob pressão intrapulpar de 20 cm de soro fisiológico, em 80 dentes humanos íntegros e hígidos. Cavidades Classe V profundas foram preparadas com ponta diamantada, os grupos (n=10) foram randomizados, e os materiais restauradores utilizados da seguinte forma: G1 - Natural Bond DE[®] (DFL); G2 - Adper ScotchBond Multiuso[®] (3M/ESPE); G3 - Ambar[®] (FGM); G4 - AdheSE[®] (Ivoclar/Vivadent); G5 - Natural Bond DE (DFL) + Desensibilize (FGM); G6 - Adper ScotchBond Multiuso (3M/ESPE) + Desensibilize (FGM); G7 - Ambar (FGM) + Desensibilize (FGM); G8 - AdheSE (Ivoclar/Vivadent) + Desensibilize (FGM). Em seguida, os dentes foram restaurados com resina composta Opallis[®] (FGM) e feito o acabamento e polimento com discos de lixa. A permeabilidade foi aferida pelo sistema de filtração de fluidos logo após o término da restauração (*baseline*), e após 6 e 12 meses de armazenamento das amostras em soro fisiológico e termociclagem de 3000 vezes (5-55°C). Após a análise estatística com os testes Kruskal-Wallis, Duncan e Dunnett, foi verificado que houve diferença significativa ($p = 0.041$) entre os sistemas adesivos Natural Bond DE e Ambar, sem associação com o Desensibilize, quando comparado aos demais grupos na medida de referência. Eles apresentaram volume médio de fluido de 0,118 μL e permeabilidade de 0,0123 $\mu\text{Lcm}^{-2}\text{min}^{-1}\text{cmH}_2\text{O}^{-1}$. Na comparação intragrupos, em relação ao tempo (0M x 6M x 12M), não houve diferença significativa ($p = 0.159$), tampouco para os adesivos Natural Bond DE e Ambar. Após 12 meses de armazenamento em soro fisiológico nenhuma amostra apresentou permeabilidade dentinária. Conclui-se que o agente dessensibilizante Desensibilize foi eficaz na redução da permeabilidade apenas dos sistemas adesivos convencionais de 2 passos no período de 0 a 6 meses. Tanto os adesivos convencionais de 3 e 2 passos quanto o autocondicionante não apresentaram permeabilidade após 12 meses armazenados em soro fisiológico e termociclagem. Essa nova metodologia utilizando dentes íntegros mostrou-se simples, eficaz e reproduzível para a restauração de dentes humanos sob pressão intrapulpar de forma semelhante ao feito clinicamente, possibilitando a aferição da permeabilidade ao longo do tempo.

Palavras-chave: permeabilidade dentinária; dessensibilizantes; sistemas adesivos; termociclagem; dentes humanos íntegros.

ABSTRACT

The aim of this *in vitro* study was to evaluate the influence of the gel Desensibilize[®] (FGM) on dentin permeability of four adhesive systems restored with composite resin on Class V deep cavities, under pulpal pressure of 20 cm of physiological serum. Eight whole human teeth were randomized into 8 groups (n=10) and the adhesives applied of the following form: G1 - Natural Bond DE[®] (DFL); G2 - Adper ScotchBond Multipurpose[®] (3M/ESPE); G3 - Ambar[®] (FGM); G4 - AdheSE[®] (Ivoclar/Vivadent); G5 - Natural Bond DE (DFL) + Desensibilize; G6 - Adper ScotchBond Multipurpose (3M/ESPE) + Desensibilize; G7 - Ambar (FGM) + Desensibilize; G8 - AdheSE (Ivoclar/Vivadent) + Desensibilize. Afterwards they were restored with composite resin Opallis[®] (FGM) and finish and scouring with disks of sandpaper. The permeability was checked by hydraulic conductance system soon after finished the restoration (baseline), and after 6 and 12 months of storage in physiological serum and thermocycled 3000 times (5-55°C). After statistical analysis with the tests Kruskal-Wallis, Duncan and Dunnett, was verified that had significant difference (p=0,041) between the Natural Bond and Ambar adhesive systems compared to the others groups measured at baseline. They presented medium volume of fluid of 0.118 μL and permeability of 0.0123 $\mu\text{Lcm}^{-2}\text{min}^{-1}\text{cmH}_2\text{O}^{-1}$. In the comparison between groups, they were not significant (p=0,159) different, regarding the time (0M x 6M x 12M), even for the Natural Bond and Ambar adhesives. After 12 months of storage in physiological serum no sample presented dentin permeability. It was concluded that the agent desensitizing Desensibilize was efficient in the reduction of the permeability barely of the 2 steps etch-and-rinse adhesive systems at baseline. The 3 and 2 steps etch-and-rinse adhesives and the 2 step self-etch adhesive did not present permeability after 12 months stored in physiological serum and thermocycling. That new methodology with whole teeth showed itself simple, efficient and reproducible for the restoration of human teeth under pulpal pressure, similar of those made clinically, and to the measurement of the permeability over time.

Keywords: dentin permeability; desensitizing; adhesive systems; thermocycling; whole human teeth.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ponta diamantada FG1016.....	28
Figura 2 - Acesso feito com ponta FG1016, abaixo da coroa clínica do dente.....	28
Figura 3 - Superbonder® (Henkel).....	28
Figura 4 - Sonda uretral nº 6 (cânula).....	28
Figura 5 - Selamento apical e impermeabilização com esmalte, exceto na área a ser restaurada (papel adesivo).....	28
Figura 6 - Desenho esquemático do sistema hidráulico.....	29
Figura 7 - Ponta diamantada FG1090.....	30
Figura 8 - Preparo cavitário Classe V (3 x 4 x 2,5 mm) sob pressão pulpar.....	30
Figura 9 - Gel Desensibilize® (FGM).....	31
Figura 10 - Aplicação do gel Desensibilize® por 4 minutos.....	31
Figura 11 - Técnica incremental da resina composta.....	32
Figura 12 - Resina Composta Opallis® (FGM).....	32
Figura 13 – Fotopolimerizador Optilux 500® (Demetron-Kerr).....	33
Figura 14 – Discos de acabamento e polimento DiamondPro® (FGM).....	33
Gráfico 1 - Mensuração média do volume de fluido ao longo do tempo (µL).....	35
Gráfico 2 - Mensuração média da permeabilidade entre 0 e 12 meses (µLcm ⁻² min ⁻¹ cmH ₂ O ⁻¹).....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Materiais utilizados (classificação, composição e modo de aplicação)...	26
Tabela 2 - Teste de Duncan aplicado nas médias dos 8 Grupos em 0M.....	36
Tabela 3 - Teste de Duncan aplicado nas médias do G1 ao G4 em 0M.....	36
Tabela 4 - Teste de Dunnett aplicado para comparar as médias do G1xG5 e G3xG7 (intragrupos) ao longo do tempo.....	37
Tabela 5 - Todas as mensurações da permeabilidade dos Grupos G1 ao G4 (sem Desensibilize [®]).....	59
Tabela 6 - Todas as mensurações da permeabilidade dos Grupos G5 ao G8 (com Desensibilize [®]).....	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BIS-GMA: Bisphenilglicidil Dimetacrilato

HEMA: Hidroxietila de Metacrilato

PHFA: Hexafluorantimoniato de Potássio

PMGDM: Dimetacrilato de Glicerila e Dianídrido Pirometílico em Propanona

TEGDMA: Trietileno Glicol Dimetacrilato

UDMA: Uretano Dimetacrilato

4-EDAMB: Etil-4-Dimetilaminobenzoato

10-MDP: 10-Metacrilóiloxidecil Dihidrogênio Fosfato

μL: microlitros

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
3. OBJETIVOS.....	25
4. MÉTODOS.....	26
4.1. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	27
4.2. PROCEDIMENTOS RESTAURADORES SOB PRESSÃO PULPAR.....	29
4.3. TEMPO DE ARMAZENAMENTO E CICLAGEM TÉRMICA.....	33
4.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
5. RESULTADOS.....	35
6. DISCUSSÃO.....	38
7. CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIAS.....	46
APÊNDICE A.....	56
ANEXO A.....	58
APÊNDICE B.....	59

INTRODUÇÃO

Os sistemas adesivos são materiais que promovem a adesão das restaurações de resina composta, pinos pré-fabricados, facetas e coroas livres de metal ao substrato dentário, possibilitando procedimentos mais conservadores e estéticos. Essa união é essencialmente micro-mecânica, exigindo excelente selamento para que não haja percolação na interface adesiva. Quando os sistemas adesivos são aplicados sobre o esmalte dentário sua adesão é estável, apresentando grande resistência adesiva, nenhuma permeabilidade e maior longevidade. Contudo o grande desafio continua sendo a adesão à dentina, devido a sua estrutura de túbulos composta por fibras colágenas e a presença dos fluidos dentinários, impedindo a promoção de uma adesão hermética e estável ao longo do tempo (1, 2).

A melhora dos sistemas adesivos permitiu o aumento da força de retenção e da durabilidade dos materiais resinosos que, somados à crescente demanda estética da sociedade, levou ao grande interesse no desenvolvimento de resinas compostas melhores para as restaurações diretas. Seu desempenho clínico depende da correlação com os estudos feitos previamente em laboratório, os quais permitirão o desenvolvimento de novos materiais. Há pouco investimento em pesquisas clínicas, por elas serem mais onerosas e demandarem mais tempo (3). Contudo, algumas dessas pesquisas têm demonstrado que as falhas clínicas observadas nas restaurações geralmente são atribuídas à hidrólise do sistema adesivo (4). A ADA (American Dental Association) tem recomendado a utilização de cavidades de Classe V (lesões não cariosas) para a realização dos estudos clínicos randomizados, pelas seguintes razões: a) facilidade de observar o sucesso/fracasso da restauração, b) simples acesso para o preparo cavitário, minimizando os efeitos do operador e da técnica, e c) eliminarem os riscos para o paciente, caso a restauração se solte (5). Mesmo sendo consenso de que esse ensaio clínico avaliando os sistemas adesivos é o melhor estudo para se verificar a efetividade e longevidade desses materiais, poucos trabalhos com pelo menos dez anos de acompanhamento clínico foram publicados (6). Por outro lado, muito do que se sabe hoje sobre os materiais adesivos advém dos estudos laboratoriais, que são

extremamente importantes, mas precisam evoluir ainda mais no sentido de reproduzir de forma mais fiel a realidade clínica.

Alguns estudos mostram que não há uma forte correlação entre o estudo laboratorial e o desempenho clínico dos materiais restauradores, tanto em trabalhos de curta duração, 2-5 anos, quanto os de longa duração, 10-20 anos (7, 8). Nas últimas duas décadas, os testes laboratoriais tentaram simular os procedimentos e situações clínicos mais relevantes. Sempre houve um forte consenso de que o estresse mecânico produzido na cavidade bucal seria o principal fator para contestar a durabilidade da restauração. Inúmeros trabalhos foram feitos com testes mecânicos e apesar disso, nenhuma forte correlação foi demonstrada com os eventos clínicos (3). Esse mesmo autor identificou na revisão de literatura as correlações fortes e fracas entre os testes laboratoriais e o desempenho clínico. Os testes de microinfiltração, avaliação de lesões de cárie secundárias, efeitos preventivos do flúor, resistência adesiva (microtração), solubilidade e alteração de cor demonstraram fraca correlação. Os testes que avaliam a deterioração da resina composta, a durabilidade do adesivo e as margens das restaurações mostraram forte correlação. Ainda não há um método eficaz de aferir a resistência adesiva e suas variações na interface restaurada de um dente íntegro, nem um protocolo padrão para avaliar *in vitro* dentes íntegros restaurados. Nesse contexto, é importante identificar uma metodologia que possa prever um evento clínico relevante. De Munck, et al., 2005, considerou o armazenamento laboratorial dos dentes em água por pelo menos 6 meses como o método que melhor estimaria a degradação clínica dos adesivos (9). A redução da efetividade adesiva pode ser causada pela degradação da interface pela hidrólise e do colágeno pelas metaloproteinases. A água também pode infiltrar e reduzir as propriedades mecânicas da matriz polimérica através da sua absorção, seguida da quebra da corrente polimérica, em um processo chamado plastificação (10).

Outra técnica amplamente utilizada é a ciclagem térmica. O seu envelhecimento artificial ocorre de duas maneiras: a água quente acelera a hidrólise dos componentes poliméricos da interface, permitindo a entrada da água e a quebra desses polímeros (11). Os extremos de temperatura fria e quente causam altos graus de coeficiente de contração/expansão térmicos do material restaurador,

podendo levar a falhas na interface adesiva que podem se propagar e formar gaps. Eles permitem a passagem de fluidos em um processo chamado percolação. A termociclagem deve ser aplicada de forma similar a situação clínica, além de ser o mais relevante estresse bucal de dentes restaurados (9).

Com a evolução dos sistemas adesivos a frequência de fendas nas restaurações diminuiu, apesar de ainda existirem e serem maiores em cavidades com um número maior de paredes circundantes (12), isto é, um fator C (configuração cavitária) maior. Após inúmeros trabalhos sobre microinfiltração verificou-se que mesmo em restaurações ausentes de fendas havia corante na interface adesiva, inclusive na camada híbrida. A melhora na microscopia eletrônica possibilitou sua identificação, classificando-a como nanoinfiltração (partículas entre 20-100 nm). Ela é caracterizada pela presença do traçador através da camada híbrida, ou seja, o sistema adesivo se comporta como uma membrana permeável (13). A nanoinfiltração demonstra ser responsável pela degradação da adesão resina/dentina, através da hidrólise e/ou ação enzimática das proteases (14), podendo ser avaliada pelo microscópio eletrônico ou pelo sistema de filtração de fluidos em condições semelhante às fisiológicas (15, 16, 17).

A dentina, por ser permeável, sofre ação da pressão pulpar, variando entre 15-20 cm de H₂O, sendo diretamente proporcional à profundidade da cavidade. Dessa forma, em cavidades mais profundas os sistemas adesivos têm maior dificuldade em atingir um bom desempenho, porque a união dos sistemas adesivos a essa dentina é mais difícil de ser obtida devido à ação dos fluidos dentinários (18, 19). Agentes dessensibilizantes, contendo oxalatos /cloretos e/ou flúor na composição, têm sido testados para reduzir a permeabilidade dentinária e melhorar o desempenho dos adesivos com resultados positivos, sem ainda conseguirem selar hermeticamente a dentina (17, 20).

Até o momento, não foi encontrado um trabalho que avalie a permeabilidade de sistemas adesivos em dentes humanos íntegros restaurados conforme os protocolos clínicos. Diante dessa realidade, o presente estudo tem como objetivo avaliar *in vitro* a permeabilidade dos sistemas adesivos, com e sem a associação com um dessensibilizante, restaurados em dentes humanos íntegros e hígidos sob

pressão intrapulpar, armazenados em soro fisiológico por 12 meses e submetidos à termociclagem.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O entendimento da morfologia e características das estruturas dentárias é importante para o desenvolvimento de sistemas adesivos que a elas se unirão. Nesse contexto, devemos lembrar que o dente humano é formado pelo esmalte e pelo complexo dentino-pulpar. O esmalte é composto por, aproximadamente, 96% de substância inorgânica (hidroxiapatita) e 4% de substância orgânica e água. Esta composição lhe confere as características de friabilidade, dureza, resistência ao desgaste, semipermeabilidade e de bom isolante elétrico (21). A dentina é composta por, aproximadamente, 68% de substância inorgânica, 22% de substância orgânica e 10% de água. Tem a característica de ser resiliente, ter baixa resistência ao desgaste, ser permeável e boa condutora de eletricidade (21). Ela tem a mesma origem embrionária da polpa. Ambas estão intimamente relacionadas morfológica e fisiologicamente (22). Na região próxima à polpa existem 45.000 túbulos dentinários por mm^2 com, aproximadamente, $2,37 \mu\text{m}$ de diâmetro e ocupando uma área entre 22-28% do total da dentina. Já próximo ao esmalte há 20.000 túbulos por mm^2 , com aproximadamente, $0,63 \mu\text{m}$ de diâmetro e ocupando de 1-4% da área total (22, 23). A dentina peritubular altamente mineralizada alinha-se aos túbulos e seus ramos. Eles são formados durante a dentinogênese como parte principal da dentina coronária. Basicamente dois mecanismos fisiológicos diferentes para a oclusão dos túbulos dentinários podem ser reconhecidos. Um mecanismo envolve o crescimento gradual da dentina peritubular ao longo de todo o comprimento dos túbulos e uma mineralização intratubular que ocupa os túbulos de quase toda polpa dentinária. Esses tipos de obturação dos túbulos estão sob o controle dos odontoblastos. O outro mecanismo para oclusão dos túbulos dentinários é uma precipitação físico-química dos depósitos minerais dentro dos túbulos que não está sob o controle de odontoblastos. Independentemente do mecanismo de oclusão ou obturação dos túbulos dentinários por depósitos mineralizados, o resultado será a redução da permeabilidade da dentina, a qual poderá se tornar impermeável (24).

No início da década de 90, foram desenvolvidos sistemas adesivos mais eficazes onde as fibrilas de colágeno da dentina expostas pelo condicionamento ácido, são preenchidas pelo *primer* (agente hidrofílico, resinoso, que promove a união entre a superfície dentária e o adesivo) e, em seguida, pelo próprio adesivo

(agente resinoso hidrofóbico). Essa região formada por fibrilas de colágeno (dentina) e adesivo (resina fluida) foi chamada de camada híbrida (25). Ela é o principal mecanismo de retenção (micromecânica) desses sistemas adesivos e tem sido avaliada em diversos trabalhos por meio da microscopia eletrônica de varredura (26) e transmissão (20, 26).

Durante os preparos dentários com brocas ou outros instrumentos cortantes há a formação de uma lama dentária, sobre o substrato dentário, composta por resíduos orgânicos (colágeno desnaturado) e inorgânicos (hidroxiapatita) (27). A adesão da lama ao substrato é muito pequena, da ordem de 5 MPa, porém é capaz de reduzir a permeabilidade dentinária em até 86% (28). Os sistemas adesivos interagem com o substrato de duas formas diferentes, uma removendo totalmente a lama dentinária inter e intratubular (*smear layer* e *smear plug*) e outra a mantendo durante as etapas de sua aplicação clínica. A diferença está no uso do ácido fosfórico a 35-37% por alguns segundos que em seguida é lavado com água, como o primeiro passo dos sistemas chamados convencionais, ocasionando a remoção total da lama. Os próximos passos fundamentais no uso dos sistemas convencionais são a aplicação do *primer* e do adesivo que podem ser juntos ou separados, dependendo do tipo de sistema. No caso dos autocondicionantes um *primer* ácido é aplicado e depois secado, de forma que a lama seja parcialmente mantida ou até totalmente removida, dependendo da agressividade do *primer* (29). Em seguida o adesivo é aplicado. Os sistemas autocondicionantes são menos afetados pela permeabilidade dentinária (30). Atualmente os sistemas adesivos são classificados segundo suas etapas clínicas de aplicação em (31):

1- Convencionais:

Sistema Adesivo de 3 passos (ácido + *primer* + adesivo)

Sistema Adesivo de 2 passos (ácido + *primer*/adesivo)

2- Autocondicionantes:

Sistema Adesivo de 2 passos (*primer* ácido + adesivo)

Sistema Adesivo de 1 passo (*primer* ácido/adesivo)

Os autocondicionantes podem ser ainda divididos em fraco, moderado ou agressivo, quanto a sua capacidade de manter a lama dentinária intra e intertubular,

removê-la parcialmente ou removê-la totalmente, respectivamente (32).

A remoção parcial e, principalmente, a total da lama dentária resulta no aumento da permeabilidade na região onde há dentina exposta, interferindo na adesão, porque o adesivo hidrofóbico não se polimeriza completamente em um substrato hidrofílico, mesmo com a formação dos prolongamentos de adesivo (*tags*) nos túbulos dentinários (33). Uma das formas de se tentar controlar esse aumento da permeabilidade através de dentina é a aplicação de um dessensibilizante antes do sistema adesivo. Eles têm se mostrado eficientes em reocluir os túbulos dentinários abertos pela remoção da lama inter e intratubulares (34). Quando são utilizados os sistemas adesivos convencionais, a aplicação deste dessensibilizante deve ser feita após o condicionamento ácido.

No processo de simplificação dos sistemas adesivos o ácido foi incorporado ao *primer*, reduzindo um passo da aplicação clínica. Por último, a geração mais nova dos sistemas adesivos apresenta um único passo de aplicação associando ácido, *primer* e adesivo. São os autocondicionantes, ou seja, o *primer* ácido vai desmineralizando e removendo total ou parcialmente a lama dentinária e ao mesmo tempo o adesivo vai se infiltrando. O *primer* ácido é autolimitante, pois conforme vai reagindo vai se neutralizando. Um dos grandes problemas atuais da simplificação dos sistemas que misturam o *primer* e o adesivo, agentes bem distintos, no mesmo frasco, é a perda de propriedades químicas importantes. Os sistemas que associam o *primer* e o adesivo têm se mostrado inferiores em quase todos os trabalhos de pesquisa, e mesmo quando apresentam valores maiores de resistência adesiva, exibem também mais falhas adesivas e maiores valores de nanoinfiltração (14, 35, 36, 37, 38).

A nanoinfiltração na interface das restaurações produzidas pelos sistemas adesivos é difícil de ser evitada. Nos estudos laboratoriais, os padrões de nanoinfiltração variam consideravelmente, dependendo, principalmente, da composição, do modo de aplicação dos materiais utilizados e do tempo de armazenamento dos espécimes. Inicialmente, o conceito de nanoinfiltração foi atribuído às regiões da camada híbrida as quais não haviam sido completamente infiltradas pelo adesivo. Assim, não era esperado que a nanoinfiltração fosse

observada em interfaces de união produzidas por sistemas adesivos autocondicionantes, que desmineralizam e se infiltram na dentina simultaneamente. Os trabalhos demonstram sua ocorrência em interfaces produzidas tanto com a técnica do condicionamento ácido total quanto com autocondicionante (39). A grande maioria dos trabalhos que tem demonstrado a permeabilidade dos sistemas adesivos *in vitro*, utilizou fatias de dentina ou parte da coroa dental, sem os demais fatores presentes na cavidade oral, divergindo dos trabalhos *in vivo* (3).

Constantes pesquisas vêm sendo realizadas com o objetivo de avaliar a permeabilidade dos sistemas adesivos, bem como reduzir a nanoinfiltração para evitar a degradação da camada híbrida, seja pela hidrólise dos monômeros resinosos ou por degradação enzimática (12, 40). Um estudo mostrou que houve nanoinfiltração e redução significativa da resistência adesiva após dez anos de restaurações feitas em condições experimentais (41). Outro trabalho comparou a aplicação de uma segunda camada do próprio sistema adesivo com uma camada de um adesivo hidrofóbico (Adper Scotchbond Multi-Purpose Adhesive), onde esse apresentou redução significativa para os adesivos Adper Single Bond, Excite e Prime & Bond NT (42). Utilizando discos de dentina de 0.3 mm de espessura sob PIP (Pressão Intrapulpar), outra pesquisa mostrou que os adesivos convencionais de dois passos Single Bond (3M/ESPE, EUA) e Prime&Bond NT (Dentsply, Alemanha) apresentaram maior permeabilidade do que o autocondicionante de um passo Adper Prompt L-Pop (3M/ESPE, EUA). Comparado aos demais sistemas, o autocondicionante de dois passos Clearfil Protect Bond foi significativamente o menos permeável (Kuraray, Japão) (43).

Diversos fatores podem contribuir para a movimentação do líquido intratubular como a falha na camada híbrida, a degradação hidrolítica do sistema adesivo, além da contração de polimerização (44). Uma das formas de reduzir essa movimentação, ou seja, a permeabilidade dos sistemas adesivos, especialmente dos monocomponentes, é seu uso associado com um dessensibilizante. Esse material pode ser classificado pelo seu mecanismo de ação: os que atuam através da oclusão dos túbulos dentinários com resina, por precipitação de proteínas ou ainda por precipitação de cristais (45). A depleção dos íons cálcio da superfície da dentina faz os oxalatos descerem nos túbulos dentinários até encontrarem esses íons para

reagirem. Os cristais de oxalato formados ocluem a subsuperfície dos túbulos e reduzem a condutância hidráulica da dentina, sem interferir na formação da camada híbrida (46). Dessensibilizantes à base de HEMA, glutaraldeído e água, que desencadeiam a precipitação de proteínas e a oclusão simultânea por resina atuam de uma maneira diferente quando comparados aos oxalatos (47). O glutaraldeído é o responsável pela oclusão dos túbulos dentinários, agindo como um fixador e coagulando as proteínas presentes no líquido intratubular, formando assim septos a uma profundidade de até 200µm, que podem ser visualizados pelo microscópio eletrônico de varredura. Os septos mais profundos encontrados nos túbulos dentinários podem ser explicados pela presença do HEMA, que tem a função de infiltrar o glutaraldeído para o interior dos túbulos (47) e podem consistir apenas de HEMA, do precipitado de proteínas ou uma combinação de ambos (45). Outro trabalho mostrou que o Gluma Desensitizer não interferiu nos valores de resistência adesiva do Single Bond (48). Após um ano de armazenamento a 37° C em água, esse adesivo e o One Step também não apresentaram diferença significativa associado ao Gluma (40). Assim, a utilização dos dessensibilizantes continua sendo uma boa alternativa, uma vez que vários trabalhos têm comprovado sua eficiência na redução da permeabilidade dentinária (45, 46, 49).

Mais recentemente, um trabalho *in vitro* e *in vivo*, com ratos, avaliando a influência dos dessensibilizantes na permeabilidade verificou que o nitrato de potássio 2% com gel de fluoreto de sódio 2% e o verniz de flúor 5% foram os mais eficazes na redução da permeabilidade dentinária. A redução dos túbulos dentinários foi parcial, mesmo com a metodologia *in vitro* não tendo sido feita sob pressão intrapulpar (50). Um estudo *in vitro* com 1 mm de dente humano, usando pressão intrapulpar de 703 cm de água, bem maior do que a fisiológica, demonstrou que o gel de sulfato de ferro reduziu a permeabilidade de forma semelhante ao Oxa-Gel e ao gel de flúor fosfato acidulado 1,23% (51). Outro trabalho *in vitro*, mas utilizando dentes humanos parcialmente íntegros sob pressão pulpar de 20 cm de água, verificou que o Seal&Protect não diferiu significativamente do SuperSeal e do BisBlock e foi superior estatisticamente na redução da permeabilidade que o Gluma Desensitizer e o Bi-Fluoride 12 (52).

OBJETIVOS

A hipótese nula e as hipóteses alternativas testadas foram:

H_0 = a aplicação dos sistemas adesivos com o Desensibilize[®] apresentam menores valores de permeabilidade, após armazenamento em soro fisiológico por até 12 meses e termociclagem;

H_1 = os sistemas adesivos convencionais de 2 passos apresentam maiores valores de permeabilidade após 12 meses;

H_2 = essa metodologia com dentes humanos íntegros possibilita o procedimento restaurador sob pressão intrapulpar e é eficaz em medir a permeabilidade ao longo do tempo.

MÉTODOS

Tabela 1 – Materiais utilizados (classificação, composição e modo de aplicação)

Sistema Adesivo (Fabricante)	Classificação dos Adesivos	Composição (Lote)	Modo de Aplicação
Condac 37[®] (FGM, Joinville-SC)	-----	Ácido fosfórico 37% (120313)	30' no esmalte e 15' na dentina*.
Natural Bond DE[®] (DFL, Rio de Janeiro-RJ)	Convencional de 2 passos	PMGDGM; TEGDMA; HEMA; PHFA; 4-EDAMB; Butil hidroxitolueno e solução etanol (11060847)	Aplicar condicionador*; lavar por 15'; papel absorvente; esfregar <i>primer</i> /adesivo por 5'; aguardar 20'; papel absorvente; repetir aplicação; aguardar 20'; polimerizar 20'.
Adper ScotchBond MultiUso[®] (3M/ESPE, Sumaré-SP): <i>Primer</i> Adesivo	Convencional de 3 passos	HEMA; ácido polialcenóico; água (9AL) BIS-GMA; HEMA (86V)	Aplicar condicionador*; lavar por 15'; papel absorvente; aplicar <i>primer</i> dentina; aguardar 10'; papel absorvente; aplicar adesivo; polimerizar 10'.
Ambar[®] (FGM, Joinville-SC)	Convencional de 2 passos	10-MDP; monômeros metacrílicos; nanopartículas de sílica; etanol (121212)	Aplicar condicionador*; lavar por 15'; papel absorvente; esfregar <i>primer</i> /adesivo por 10'; repetir aplicação; aguardar 20'; polimerizar 10'.
AdheSE[®] (Ivoclar-Vivadent, Barueri-SP): <i>Primer</i> Adesivo	Autocondicionante de 2 passos	Dimetacrilato; acrilato do ácido fosfônico; água (S02201) HEMA; dimetacrilato; dióxido de silício (S07242)	Aplicar <i>primer</i> 1º no esmalte e depois demais superfícies; esfregá-lo por 15'; papel absorvente; aplicar adesivo 1º na dentina e depois demais áreas; papel absorvente; polimerizar 10'.
Opallis[®] – Cor DB1 (FGM, Joinville-SC)	-----	Bis-GMA; Bis-HEMA; TEGDMA; UDMA; canforoquinona; silano; vidro de bário-alumínio silicato; sílica (231111)	Após aplicação dos sistemas adesivos, a resina foi aplicada em 2 camadas pela técnica incremental; cada uma delas polimerizada por 40'.
Desensibilize[®] (FGM, Joinville-SC)	-----	Gel de Cloreto de Estrôncio 10% e Nitrato de Potássio 5% (071211)	Aplicação passiva; aguardar 4 min.; enxaguar 30' com água.

Siglas: PMGDGM, Dimetacrilato de Glicerila e Dianídrido Pirometílico em Propanona; TEGDMA, Trietileno Glicol Dimetacrilato; HEMA, Hidroxietila de Metacrilato; PHFA, Hexafluorantimoniato de Potássio; 4-EDAMB, Etil-4-Dimetilaminobenzoato; BIS-GMA, Bisphenilglicidil Dimetacrilato; 10-MDP, 10-Metacrilóiloxidecil Dihidrogênio Fosfato; UDMA, Uretano Dimetacrilato.

Preparação das Amostras

Oitenta dentes humanos, terceiros molares, íntegros e hígidos, recém extraídos por indicação ortodôntica ou cirúrgica (com Consentimento Livre e Esclarecido – Apêndice A), foram divididos aleatoriamente em 08 grupos (n = 10). Os critérios de exclusão foram: dentes com lesões de cárie, qualquer restauração e/ou selante, qualquer trinca no esmalte devido à ação de fórceps e/ou alavancas e raízes incompletas.

No momento da coleta, os dentes foram armazenados em soro fisiológico, depois foram limpos com curetas periodontais, reavaliados quanto aos critérios de exclusão e mantidos em solução salina de Timol 0,05% (Farmacotécnica, Brasília-DF) a 5°C. Os dentes foram randomizados em blocos de 20 amostras no Programa Excel (Microsoft Office 2007) para que sua utilização acontecesse em até 90 dias.

Em cada dente fez-se uma perfuração padronizada na câmara pulpar, logo abaixo da coroa clínica na raiz mais volumosa, com uma ponta diamantada esférica FG1016 (KG Sorensen, Cotia-SP), com diâmetro de 1,8 mm, em alta rotação e sob refrigeração (Figuras 1 e 2). Utilizou-se uma nova broca a cada 10 preparos. Todas as amostras tiveram seus tecidos pulparem removidos e suas câmaras limpas através desse orifício, utilizando-se limas endodônticas Maillefer da série K nº 10, 15 e 20 (Dentsply, Petrópolis-RJ), com o objetivo de deixá-las livres para passagem do fluido (soro fisiológico) e mantendo o dente íntegro. Então foi fixado uma cânula capilar com 1,8 mm de diâmetro externo, utilizado como sonda uretral tamanho nº 6 (Mark Med, Bragança Paulista-SP), cortando sua ponta verde de adaptação e usando apenas a cânula, com cola adesiva a base de cianocrilato - Loctite Super Bonder (Henkel, São Paulo-SP) (Figuras 3 e 4). Dessa forma cada amostra pôde ser adaptada ao sistema hidráulico para que o procedimento restaurador pudesse ser feito sob pressão intrapulpar de 20 cm de soro fisiológico.

Os ápices radiculares de todos os dentes foram selados com Loctite Super Bonder e, após 10 minutos, impermeabilizados com uma camada de cola epóxi - Araldite Rápido (Brascola, Joinville-SC). Depois de 10 minutos, toda a superfície externa dos dentes foi isolada com duas camadas de esmalte de unha (uma cor

diferente para cada grupo) até deixar um perímetro de 1,0 mm do preparo cavitário (com o auxílio de um papel adesivo com perímetro 1,0 mm maior) (Figura 5). Após a secagem do esmalte de unha, todos os dentes ficaram pelo menos 48 horas na solução armazenadora de Timol 0,05% e a 5° C para que houvesse a reidratação.



Figura 1 – Ponta diamantada FG1016.



Figura 2 – Acesso feito com ponta diamantada FG1016.



Figura 3 – Superbonder.



Figura 4 – Sonda uretral 6 (cânula).

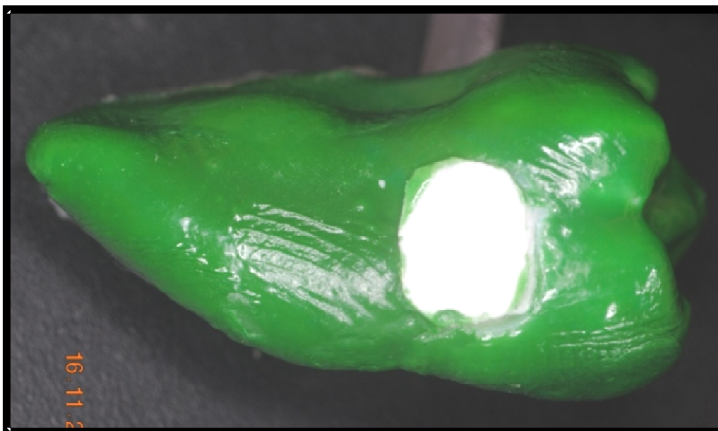


Figura 5 – Impermeabilização com esmalte, exceto na área a ser restaurada (papel adesivo).

Procedimentos Restauradores sob Pressão Intrapulpar

A simulação da pressão intrapulpar foi feita por um sistema hidráulico (Figura 6). Depois de hidratados, cada dente foi conectado a esse aparelho hidráulico que contém um tubo plástico com diâmetro de 3,0 mm e 20 cm de altura da base onde fica cada amostra acoplada, exercendo uma pressão hidrostática de 20 cm de soro fisiológico, semelhante à pressão pulpar (17). Esse tubo está unido a um dos lados de uma torneira de 3 vias (Mark Med, Bragança Paulista-SP), onde no meio fica conectado uma seringa descartável de 10 mL, usada para que as trocas das amostras pudessem ser feitas mantendo-se a pressão constante e o dispositivo fechado. E do outro lado um cateter intravascular periférico Jelco 14G (Smiths Medical Internacional, Inglaterra-UK). Cada dente com o tubo capilar instalado é conectado ao dispositivo hidráulico através desse cateter (Figura 6).

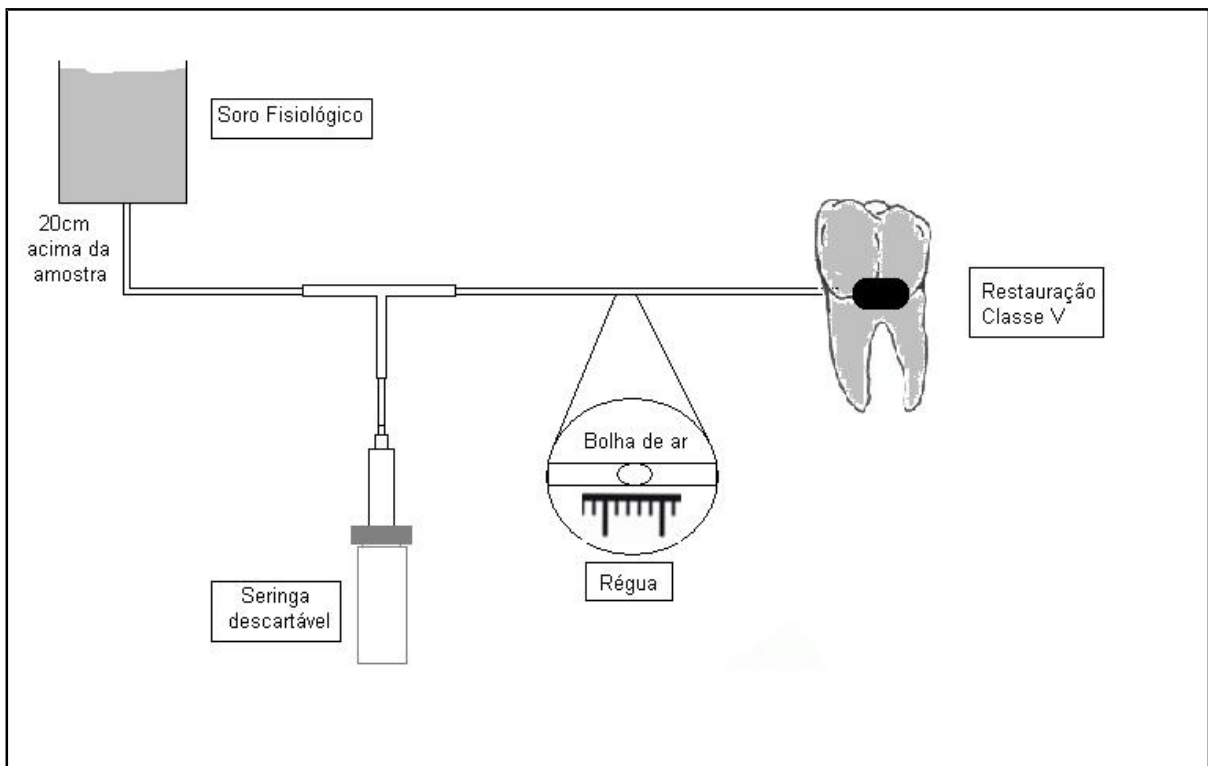


Figura 6 – Desenho esquemático do sistema hidráulico usado na aferição da permeabilidade com o dente íntegro acoplado e a restauração Classe V (em negrito) feita sob pressão.

Após a conexão da amostra, o sistema é aberto e o soro fisiológico desce por pressão hidrostática até a câmara pulpar. Com o auxílio da seringa, insere-se uma bolha de ar no tubo capilar. A distância percorrida pela bolha de ar é mensurada por

uma régua milimetrada. Considerando-se que a cânula tem 1,0 mm de diâmetro interno, o volume de fluido que passa pela régua pode ser calculado pela equação:

$$V_c = \pi \cdot r^2 \cdot h$$

onde V_c = volume do cilindro; π é a constante; r é o raio da circunferência interna da cânula; e h a altura ou a distância medida na régua. Dessa forma, sabe-se que cada 1 mm de fluido percorrido na régua é igual a $0,785 \text{ mm}^3$ ($V_c = 3,14 \cdot 0,5^2 \cdot 1 = 0,785$). Como 1 mm^3 corresponde a $1 \mu\text{L}$, então temos $0,785 \mu\text{L}$.

A mensuração da condutância hidráulica foi feita pela equação da Lei de Darcy (17):

$$L_p = J_v / A \cdot \Delta P \cdot t$$

onde L_p é a condutância hidráulica em $\mu\text{Lcm}^{-2}\text{min}^{-1}\text{cmH}_2\text{O}^{-1}$; J_v é o volume de fluido que passa pela régua em μL ; A é a área de dentina em cm^2 (igual a área da cavidade); ΔP é a pressão hidrostática de solução salina em cm; e t é o tempo em minutos. Todos os procedimentos restauradores foram feitos sob pressão intrapulpar para simular o processo fisiológico.

Os preparos cavitários Classe V foram feitos na face vestibular de cada dente (3 mm de altura x 4 mm de largura x 2,5 mm de profundidade), com a margem cervical localizada em dentina, utilizando-se a ponta diamantada cilíndrica FG1090 (KG Sorensen, Cotia-SP), em alta rotação e sob refrigeração (Figuras 7 e 8). Foi usada uma broca nova a cada 5 preparos.



Figura 7 – Ponta diamantada
FG1090

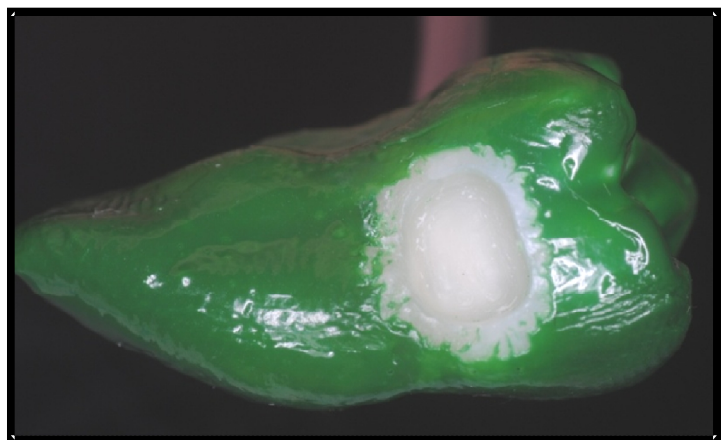


Figura 8 – Preparo cavitário Classe V (3 x 4 x 2,5 mm).

Foram utilizados os seguintes sistemas adesivos, convencionais e autocondicionante, conforme instruções dos fabricantes, mas com a seguinte adaptação: onde o fabricante recomenda jogar um jato de ar para remoção dos excessos, foi utilizado o papel absorvente, conforme instrução da ISO 11405 (53), e descrito na Tabela 1. No caso do Desensibilize[®] sua aplicação foi adaptada para o procedimento restaurador, conforme metodologia utilizada pelos autores Sales-Peres, et al., 2011 (51), que preconiza a aplicação passiva por 4 minutos seguida por lavagem com água por 30 segundos. Uma vez que a indicação do fabricante é para dessensibilização clínica de dentes sensíveis (Figura 9 e 10).



Figura 9 - Gel Desensibilize[®] (Cloreto de Estrôncio 10% e Nitrato de Potássio 5%)



Figura 10 – Aplicação do gel Desensibilize por 4 minutos.

Os grupos randomizados foram formados conforme descrito abaixo:

G1 - Natural Bond DE (DFL)

G2 - Adper ScotchBond Multiuso (3M/ESPE)

G3 - Ambar (FGM)

G4 - AdheSE (Ivoclar/Vivadent)

G5 - Natural Bond DE (DFL) + Desensibilize (FGM)

G6 - Adper ScotchBond Multiuso (3M/ESPE) + Desensibilize (FGM)

G7 - Ambar (FGM) + Desensibilize (FGM)

G8 - AdheSE (Ivoclar/Vivadent) + Desensibilize (FGM)

A polimerização dos adesivos foi feita com intensidade de 540 mW/cm² usando o aparelho Optilux 500 (Demetron/Kerr, Danbury, Connecticut - USA), com radiômetro incluso (Figura 13). A ponta do aparelho ficou encostada no esmalte ao

redor da cavidade durante as polimerizações. Em metade dos grupos, foi aplicado o gel dessensibilizante Desensibilize[®] (FGM, Joinville-SC) de forma passiva, colocado na cavidade por 4 minutos e em seguida lavado por 30 segundos com água. A ordem da aplicação variou conforme o tipo de sistema adesivo da seguinte forma: após o condicionamento com ácido fosfórico 37%, Condac 37[®] (FGM, Joinville-SC), nos adesivos convencionais, e antes da aplicação do *primer* no autocondicionante. Após a aplicação de cada sistema adesivo, as cavidades foram restauradas com a resina composta Opallis[®] da cor DB1 (FGM, Joinville-SC) (Figura 12) com a técnica incremental de 2 incrementos oblíquos na seguinte ordem: 1- preenchendo do término cavo-superficial cervical ao ângulo áxio-oclusal, incluindo o ângulo áxio-gengival; 2- preenchendo do ângulo áxio-oclusal ao término cavo-superficial cervical, incluindo o término cavo-superficial oclusal (Figura 11). Cada incremento foi polimerizado com o mesmo aparelho por 40 segundos, da mesma forma que o adesivo. Os términos de todas as restaurações acabaram justapostos (“término em zero”) por todos os ângulos cavo-superficiais, verificados por uma lupa com aumento de 5x. Após a conclusão da restauração foi feito o acabamento e polimento com os discos de lixa DiamondPro[®] (FGM, Joinville-SC) sob refrigeração (Figura 14).

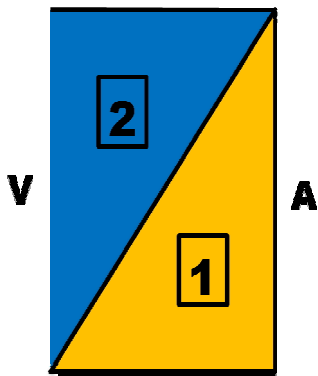


Figura 11 – Técnica incremental da resina (V=face vestibular; A=parede axial).



Figura 12 – Resina Opallis (DB1)



Figura 13 – Fotopolimerizador Optilux 500 (Demetron-Kerr)



Figura 14 – Discos DiamondPro (FGM)

Um minuto após o término da restauração, ou seja, após a finalização do polimento com o último disco da série, fez-se a primeira medição da permeabilidade, estabelecendo-se a medida de referência (*baseline*). Todas as amostras foram medidas duas vezes com intervalo de dois minutos. Considerou-se como resultado final de cada medida a média entre elas.

Tempo de Armazenamento e Ciclagem Térmica

Todas as amostras foram armazenadas a 5°C em solução salina de Timol 0,05%. A solução foi trocada quinzenalmente. Foi feita a segunda mensuração da permeabilidade após 6 meses de armazenamento nessa solução. Uma terceira mensuração foi feita após 12 meses, antecedida pela ciclagem térmica de 3000 ciclos de 10 segundos, sendo: 2 segundos em água 5°C ($\pm 2^\circ\text{C}$), 6 segundos de descanso à temperatura ambiente (transição) e 2 segundos a 55°C ($\pm 2^\circ\text{C}$). As temperaturas foram controladas com termômetro de vidro. Esse protocolo de ciclagem foi estabelecido por ser mais próximo da situação clínica de ingestão de alimentos frios e quentes. Após 24 horas do término da termociclagem, fizeram-se as últimas mensurações da permeabilidade.

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília (Anexo A).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

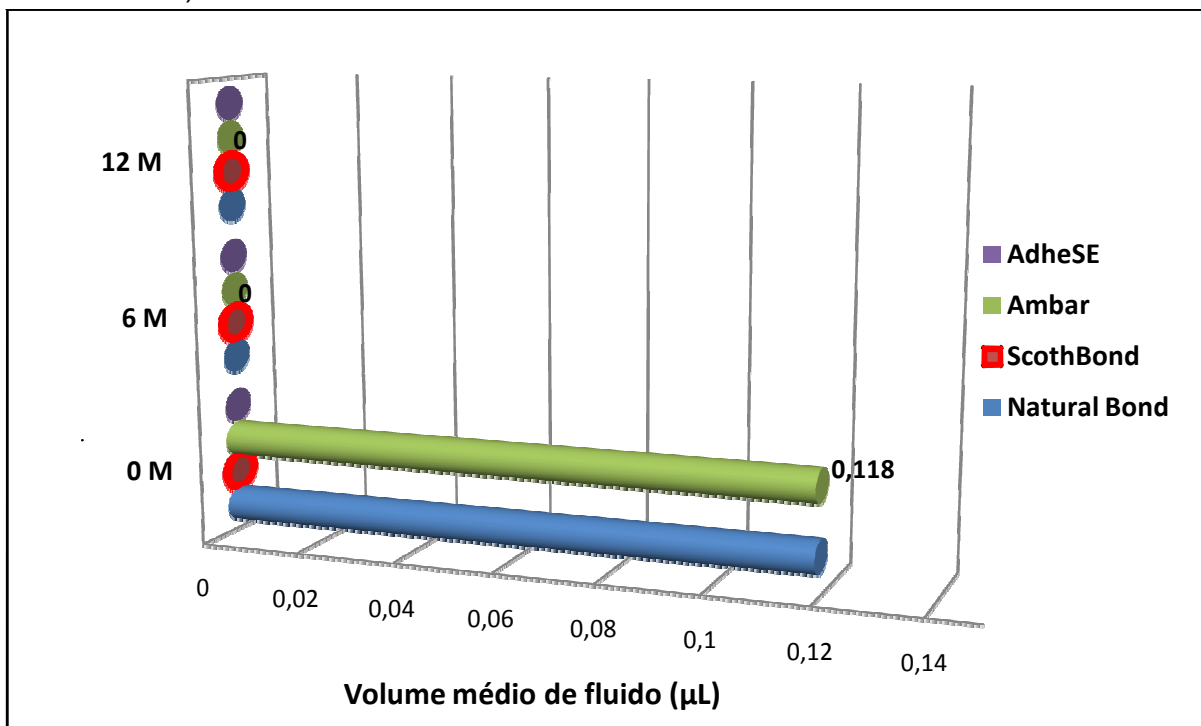
A estimativa do número de dentes necessários para esse delineamento foi feita baseando-se no tamanho da amostra para o Teste de Hipótese. O poder do Teste é dado pela fórmula: $1 - \beta$, onde β é a probabilidade de aceitar H_0 e estar errado. Esse valor é estimado em 20%, ou seja, $1 - 20\% = 80\%$. E o α fixado em 5% (α é a probabilidade de aceitar H_1 e estar errado). Então, para cada grupo de 10 dentes, pelo menos 8 amostras devem terminar o experimento para que o poder do teste seja de 80%. Como esse estudo preconizou um acompanhamento de pelo menos 12 meses, grupos com 10 dentes foram randomizados para evitar uma redução do poder do Teste caso se perdesse alguma amostra.

O teste de Normalidade, usando vários testes estatísticos por meio do Programa Assistat 7.7, verificou que as amostras não apresentaram valores normais. Então foi feita a estatística não-paramétrica dos grupos com os testes de Kruskal-Walis, Duncan e Dunnett, com nível de significância de $p < 0.05$. Utilizou-se o teste de Duncan para comparações entre todas as amostras nos três diferentes tempos, e o teste de Dunnett para as comparações intragrupos. O Programa Assistat 7.7 *beta* (2014) foi usado para a realização de todos os testes.

RESULTADOS

Todas as mensurações da permeabilidade dos sistemas adesivos (condutância hidráulica) de todos os grupos estão nas Tabelas 5 e 6 (Apêndice B). Os valores médios do volume de fluido dos grupos G1 ao G4 (sem associação com o Desensibilize) aferidos ao longo do tempo estão no Gráfico 1.

Gráfico 1 – Mensuração média do volume de fluido ao longo do tempo em μL (G1 ao G4)



A análise dos grupos demonstrou que houve diferença significativa ($p = 0.041$) dos sistemas adesivos Natural Bond DE e Ambar sem associação com o Desensibilize, quando comparados aos demais grupos, na medida de referência (*baseline*), isto é, imediatamente após a conclusão da restauração (Tabela 2). Ambos adesivos apresentaram volume médio de fluido de $0,118 \mu\text{L}$ e permeabilidade de $0,0123 \mu\text{Lcm}^{-2}\text{min}^{-1}\text{cmH}_2\text{O}^{-1}$ (Gráficos 1 e 2). Essa mesma análise permite afirmar que a redução da permeabilidade dos grupos G1 e G3, comparando *baseline* com 6 meses em relação a todos os grupos, também foi significativa ($p = 0.041$). Quando consideramos apenas os sistemas adesivos dos grupos de 1 a 4, sem o Desensibilize, nesse mesmo tempo (0 M), não houve diferença significativa ($p = 0.177$), conforme demonstrado na Tabela 3.

Gráfico 2 – Mensuração média da permeabilidade dos grupos G1 ao G4 ao longo de tempo ($\mu\text{Lcm}^{-2}\text{min}^{-1}\text{cmH}_2\text{O}^{-1}$)

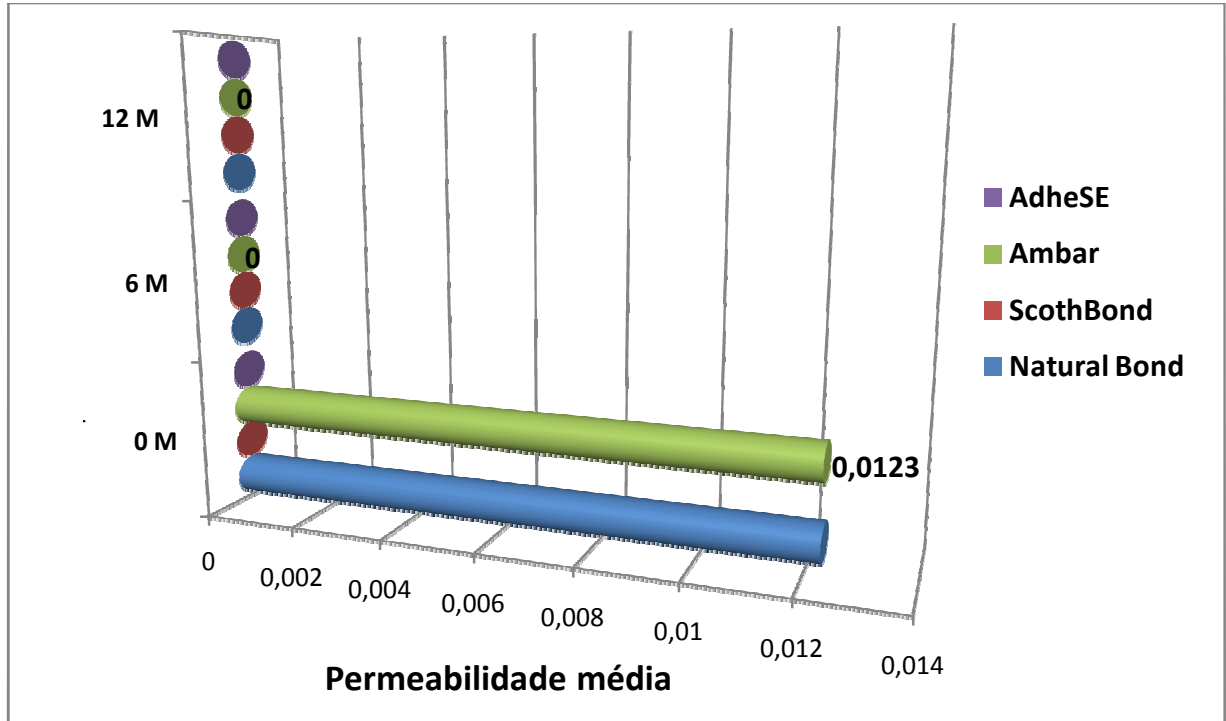


Tabela 2 – Teste de Duncan aplicado nas médias dos 8 Grupos em 0M (*baseline*)

Varição	Graus Liberdade	Soma Quadrado	Quadrado Médio	F-crítico	F	P
Tratamentos	7	0.00229	0.00033	2.1399	2.2279	0.0415*
Resíduos	72	0.01056	0.00015			
Total	79	0.01285				

* significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Os grupos associados ao Desensibilize (G5 ao G8) não apresentaram permeabilidade em nenhuma das aferições ao longo do tempo (Tabela 6).

Tabela 3 – Teste de Duncan aplicado nas médias do G1 ao G4 em 0M (*baseline*)

Varição	Graus Liberdade	Soma Quadrado	Quadrado Médio	F-crítico	F	P
Tratamentos	3	0.00153	0.00051	2.8666	1.7329	0.1776 ns
Resíduos	36	0.01056	0.00029			
Total	39	0.01209				

ns = não significante ao nível de 5% de probabilidade.

Na comparação intragrupos, as diferenças dentro de cada grupo em relação ao tempo (0M x 6M x 12M) não foram significativas ($p = 0.159$), mesmo para os adesivos Natural Bond DE e Ambar (Tabela 4).

Tabela 4 – Teste de Dunnett aplicado para comparar as médias do G1xG5 e G3xG7 (intragrupos) ao longo do tempo

Varição	Graus Liberdade	Soma Quadrado	Quadrado Médio	F-crítico	F	P
Tratamentos	2	0.00103	0.00051	3.3541	1.9678	0.1593 ns
Resíduos	27	0.00703	0.00026			
Total	29	0.00806				

ns = não significante ao nível de 5% de probabilidade.

Após 12 meses de armazenamento em soro fisiológico nenhuma amostra apresentou permeabilidade dentinária, mesmo com os preparos feitos em dentina profunda e os dentes termociclados 3000 vezes.

DISCUSSÃO

O armazenamento em água destilada aumenta os valores de adesão quando comparados a outras soluções, essa diferença se torna significativamente maior em comparação à solução salina (54). Uma das hipóteses seria a manutenção das enzimas proteolíticas por mais tempo com o uso dessa solução salina (55), o que seria interessante do ponto de vista da pré-avaliação dos sistemas adesivos e mais próximo do processo clínico de envelhecimento dos materiais. Além disso, a degradação do adesivo na camada híbrida pela hidrólise é considerada um dos fatores mais relevantes desse processo ao longo do tempo (56). A literatura também tem relatado uma degradação mais rápida na presença do soro fisiológico (54) e em áreas ausentes de esmalte (57). Contudo, o presente estudo não verificou nenhuma alteração significativa na permeabilidade após 12 meses em solução salina e com o término cervical do preparo em dentina. A explicação mais provável deve ter sido a utilização do dente íntegro, em vez de dentes parcialmente inteiros (*bulk*) ou fragmentos (*slices*) de dentina, e em uma cavidade restaurada com resina, obtendo um melhor selamento. Então, é necessário um tempo maior de armazenamento para que a degradação seja significativa, como demonstrado pelos ensaios clínicos de longa duração (6, 58). Clinicamente essas restaurações durariam mais tempo do que o relatado pelos estudos *in vitro*, embora não reproduzam o ambiente bucal. Mesmo havendo algum grau de degradação da camada híbrida com o tempo, levaria anos para causar uma falha que comprometesse o material clinicamente (59, 60). Ensaios clínicos randomizados com mais de 10 anos de acompanhamento clínico de restaurações de resina composta Classe V com diferentes sistemas adesivos, demonstraram que a grande maioria delas estava em bom estado. O percentual de retenção dessas restaurações ficou perto de 90% (6, 61).

Quando o armazenamento de dentes é feito por longos períodos, a solução de formalina, de timol ou de clorexidina deve ser usada, contudo o melhor método verificado independente do tempo é o congelamento a -20°C (62). Um trabalho com dentes extraídos e armazenados em soro fisiológico, 0,05% de solução de Timol ou em água destilada, não encontrou diferença estatística na força adesiva após 2 anos (63). O presente estudo utilizou o soro fisiológico com solução de Timol 0,05% mantida a 5°C, semelhante a outro trabalho recente (64).

Embora o protocolo de ciclagem térmica da ISO11405, definido em 2003 (53), preconize 500 ciclos com permanência de 20 segundos em cada temperatura, trabalhos recentes demonstraram que pelo menos 2 a 3 mil desafios térmicos seriam necessários para simular um período curto na cavidade bucal (35), podendo chegar a 10-12 mil ciclos por ano segundo Bayne, 2012 (3). Além disso, a permanência de 20 segundos de um líquido a 5°C ou 55°C na boca não parece ser possível fisiologicamente. Quando se ingere um café ou se toma um sorvete, o tempo de contato desses alimentos com o dente é bem menor. Tentando simulá-lo o mais próximo do clínico neste delineamento, o tempo de permanência em cada temperatura foi fixado em 2 segundos e as amostras foram termocicladas 3 mil vezes. Um estudo recente, demonstrou que os dentes termociclados 5 mil vezes apresentaram redução significativa na resistência ao microcisalhamento em dentina profunda, com predominância de falha adesiva, quando comparados aos dentes não termociclados (65). Outro estudo, comparando restaurações Classe I em molares feitas *in vivo*, com 2 anos de acompanhamento, e *in vitro*, com ciclagem termomecânica de 2.500 ciclos (5-55°C)/100.000 ciclos de 50N e armazenados em água destilada, verificou que não houve diferença significativa no percentual de margens com falha intragrupos com sistemas adesivos convencionais de 3 e 2 passos, e autocondicionantes de 2 e 1 passo. Contudo, na comparação entre os sistemas, os convencionais tiveram um desempenho significativamente melhor do que os autocondicionantes (35). Um trabalho com metodologia semelhante, mas em restaurações do tipo Classe II e teste *in vitro* com duração de 6 anos, mostrou que a ciclagem termomecânica seguida da análise da adaptação marginal pode ser uma avaliação laboratorial bem próxima da situação clínica, apesar de ser onerosa e exigir muito tempo (66). Outro estudo com restaurações Classe I em dentes humanos, utilizando diferentes adesivos, apresentou diferenças significativas na nanoinfiltração antes e após serem submetidos a 600 mil ciclos termomecânicos. Apenas o adesivo ScotchBond Multiuso não diferiu do AdheSE em ambas situações, apresentando o mesmo grau de penetração do nitrato de prata (67). Como o grau de nanoinfiltração é considerado diretamente proporcional a permeabilidade, pode-se inferir que aqueles adesivos se comportaram de forma semelhante após simulação de envelhecimento por longo período em cavidades restauradas, corroborando o resultado encontrado neste trabalho, ressalvadas as diferenças de metodologia.

Os dessensibilizantes que atuam através da precipitação por cristais à base de oxalatos provaram ser os mais eficientes na redução da permeabilidade (45, 46). Seu mecanismo de ação pode ser explicado pela reação do oxalato contido no dessensibilizante com o cálcio da dentina, formando cristais insolúveis de oxalato de cálcio no interior dos túbulos, os quais puderam ser encontrados a uma profundidade de aproximadamente 15µm (45). Sugere-se também que os sais de estrôncio podem ocupar o lugar do cálcio formando o complexo estrôncio-apatita (68). Quanto à associação do dessensibilizante com os sistemas adesivos convencionais, ela deve ser feita com o condicionamento ácido prévio, uma vez que vários trabalhos demonstraram não haver influência negativa quando usado essa ordem (20, 69, 70). Entretanto, mesmo quando aplicado dessa forma, o SuperSeal e o BisBlock interferiram na força adesiva do Adper Single Bond Plus após 3 meses de armazenamento sob pressão pulpar (1). Por outro lado, mesmo fazendo o condicionamento ácido em dentina pré-condicionada com oxalato de potássio 3% foi verificada uma diferença de permeabilidade significativa entre a cavidade média e a profunda, sob pressão pulpar de 20 cm de água (26). A solubilidade desses dessensibilizantes que são a base de oxalato/cloreto de cálcio pode ainda ser afetada pelo pH do condicionador. Como o ânion é a base conjugada do ácido fraco, quanto menor o pH, mais solúvel o dessensibilizante (71). No entanto, a diferença de pH do *primer* autocondicionante do AdheSE (1.7) e do ácido fosfórico (0.7) usado nos sistemas convencionais parece não ter interferido na ação do dessensibilizante, pois não houve diferença significativa entre os dois sistemas adesivos utilizados em associação com o Desensibilize. Também não foi encontrada nenhuma diferença na associação do sistema autocondicionante Adhese com o Desensibilize na redução da permeabilidade. O adesivo citado produz uma camada híbrida densa, com hibridização uniforme, incluindo *tags* de resina, demonstrando obter um processo de desmineralização/infiltração adequado (72). Essa camada mais espessa envolve a *smear layer* na camada híbrida, chamada complexo adesivo-lama, localizada sobre a *smear layer* verdadeira (73). Já foi especulada a separação das duas camadas (74). De qualquer forma, a característica dessa camada pode ter sido a principal razão de o AdheSE ter se comportado de maneira similar ao padrão ouro, o sistema convencional de 3 passos (ScotchBond Multiuso), no controle da permeabilidade.

Adicionalmente, o potencial desmineralizador do sistema adesivo depende de

outros fatores além do pH, como a constante de dissociação (pKa), a composição do material (grupo fosfônico ou fosfoéster), a solubilidade dos sais, o tempo de aplicação e a espessura da lama dentinária. A espessura e a qualidade da smear layer dependem do tipo de preparo do substrato dentinário. Foi demonstrado que o adesivo tem capacidade de se infiltrar melhor na dentina desgastada por discos de lixa do que na desgastada por pontas diamantadas (73). Considerando a importância de aproximar as condições experimentais *in vitro* da realidade clínica *in vivo*, questiona-se o fato de a grande maioria dos trabalhos usarem discos de lixa para padronizar a dentina, em vez de pontas diamantadas como as usadas nos preparos cavitários, apesar de ser um protocolo estabelecido.

Outro problema reside no uso do nitrato de prata como traçador para avaliar a interface adesiva. Nos últimos 15 anos, subestimou-se a retenção de água na camada híbrida após adesão dos sistemas convencionais e autocondicionantes. Com a técnica da remineralização biomimética da camada híbrida, verificou-se uma redução do nitrato de prata ao longo do tempo e, conseqüentemente, uma redução da quantidade de água distribuída pela camada híbrida dos sistemas convencionais (75). Como a molécula desse traçador é nanométrica, algumas regiões de depósito de nitrato de prata podem representar a incompleta infiltração do adesivo ou mesmo sítios de retenção de água (76), especialmente nos sistemas que contém HEMA, superestimando a infiltração. Assim, a permeabilidade inicial aferida nesta metodologia poderia ter ocorrido em virtude do acúmulo de água na camada híbrida após adesão dos sistemas convencionais e autocondicionantes. Entretanto, o Ambar, sem HEMA, e o Natural Bond, contendo o HEMA, apresentaram a mesma permeabilidade inicial. Após 12 meses, todos os sistemas adesivos utilizados neste estudo apresentaram os mesmos resultados, independente do Desensibilize. Dessa forma, a hipótese nula é parcialmente aceita e a primeira hipótese alternativa rejeitada.

Almeida JC, et al., em 2010, demonstraram que o ScotchBond Multiuso associado a aplicação do oxalato de potássio 3% por 120 segundos, sem pressão intrapulpal, e armazenado em água por 12 meses a 37°C, sofreu uma redução mínima na resistência micromecânica (77). Em outro estudo, também utilizando segmento de coroa de terceiros molares humanos e sem PIP, mas armazenados em

solução salina fosfatada por 12 meses, o ScotchBond Multiuso teve sua resistência adesiva significativamente reduzida, porém quando associado ao gel BisBlock essa redução foi estatisticamente menor (78). Uma metodologia semelhante, mas medindo a resistência adesiva após 24 hs, avaliando os adesivos Single Bond e OptiBond S associados ao D/Sense Crystal (oxalato de potássio 2,5% e ácido nítrico 2,5%) os quais também obteve redução significativa da resistência adesiva (79).

O presente trabalho utilizou metodologia semelhante à empregada por Sahin C, et al., 2012 (80) e verificou uma redução na permeabilidade dos adesivos convencionais Natural Bond DE e Ambar entre a aferição imediata (0M) e os 6 meses, embora não tenha sido significativa na comparação intragrupo. Essa efetividade é adesivo dependente, ou seja, específica para cada adesivo na redução da permeabilidade, conforme mostrado em outro estudo (81). O adesivo Ambar tem o 10-MDP na composição, um monômero com estrutura ambifílica, que demonstrou ter um grande potencial adesivo ao apresentar baixa dissolução da molécula Ca-10-MDP (cálcio + monômero), de acordo com Van Landuyt, et al., 2008 (74). Essa união química com a hidroxiapatita também foi verificada por Fu B, et al., 2005 (82). Embora ela não aumente imediatamente a resistência adesiva, testes de biodegradação têm mostrado que ela melhora a estabilidade da adesão (83, 84). Os sistemas adesivos que contêm esse monômero têm apresentado bons resultados tanto laboratoriais quanto clínicos (85). Essa pode ser uma das explicações para que o adesivo Ambar tenha apresentado alguma permeabilidade na medição logo após a restauração, mas não mais nas medições de 6 e 12 meses. Essa permeabilidade média inicial foi de $0,0123 \mu\text{Lcm}^{-2}\text{min}^{-1}\text{cmH}_2\text{O}^{-1}$ tanto para o adesivo Natural Bond quanto para o Ambar. Embora o tempo de aferição possa variar entre os trabalhos, a média da permeabilidade por minuto pode ser comparada. O presente estudo aferiu a permeabilidade por 2 minutos, semelhante ao trabalho feito por Kolker J, et al., 2002 (45), enquanto outros aferiram por 5 ou 10 minutos (20, 16).

Outra explicação para a diferença inicial dos sistemas convencionais de 2 passos, sem associação com o dessensibilizante, com relação ao ScotchBond e o AdheSE pode ser a grande variação na permeabilidade durante os procedimentos restauradores, que é reduzida a quase zero após a aplicação do adesivo hidrofóbico contido nesses últimos, conforme reportado por Kim SY, et al., 2010 (75). Esse

estudo é o que mais se aproximou da metodologia utilizada no presente trabalho, embora tenha avaliado a permeabilidade durante procedimentos restauradores em Classe I de amálgama e resina composta em dentes humanos quase íntegros, sob pressão intrapulpar, em tempo real e até 7 dias. Eles igualmente verificaram que do término da restauração até o sétimo dia não houve diferença significativa na permeabilidade dos adesivos Adper ScotchBond Multiuso, Adper Single Bond, Clearfil SE Bond e Adper Easy Bond, os quais apresentaram um volume médio do fluido dentinário entre 0,5 e 0,68 μL . Na presente pesquisa, a média foi de 0,118 μL para os adesivos Natural Bond DE e Ambar, mas variando de 0,39 a 0,78 μL nas amostras (grupos sem associação com Desensibilize), valores bem próximos ao encontrado por aquele trabalho. Outra metodologia semelhante, aplicada em coroas restauradas com resina composta em cavidades Classe II, termocicladas, mas sem associação com dessensibilizantes, mostrou que o adesivo convencional de 2 passos apresentou maior permeabilidade com uma semana quando comparado com 3 meses, embora essa diferença não tenha sido significativa (86). Tem sido afirmado que o alto valor do fator de configuração cavitária, com maiores valores de contração de polimerização, parece reduzir a durabilidade da adesão mesmo na presença de margens com esmalte dentário (87). Essa redução não foi verificada no presente estudo quanto ao aumento da permeabilidade até 12 meses, mesmo com preparos cavitários profundos do tipo Classe V com o mesmo fator-C igual ao cinco da Classe I, e utilizando apenas duas camadas na técnica incremental.

A ausência de permeabilidade nos grupos com o Desensibilize, incluindo os convencionais de 2 passos, pode ter sido devido a presença do cloreto de estrôncio 10% e o nitrato de potássio a 5% nesse material. Ele é efetivo na redução da permeabilidade, independente do adesivo usado (20), e o oxalato de potássio a 10% foi o mais eficaz dentre vários dessensibilizantes utilizados (88). Em um estudo *in vivo*, o nitrato de potássio 2% com fluoreto de sódio 2% foi o material que mais reduziu a permeabilidade, sendo significativamente maior que testes *in vitro* de mesmo delineamento. Entretanto, o estudo *in vitro* não foi feito sob pressão pulpar (50). Em outro trabalho *in vitro*, foi demonstrado que o oxalato de potássio 3% apresentou o melhor resultado na obliteração dos túbulos dentinários e na redução da permeabilidade, quando comparado com vários outros dessensibilizantes usados em dentes bovinos (89), embora não tenha utilizado nenhum agente com 10%.

Até o momento nenhum trabalho que avalie a permeabilidade de sistemas adesivos em cavidades Classe V, restauradas em dentes íntegros sob pressão intrapulpar, armazenados por 12 meses e termociclados, foi encontrado. Há pesquisas utilizando dentes parciais, somente com coroa ou com parte dela sob pressão intrapulpar (75, 80, 86), algumas restaurando sem pressão intrapulpar (50, 90) e outras avaliando falha/resistência adesiva (78, 79). A metodologia utilizada neste estudo mostrou-se interessante na avaliação de restaurações em dentes íntegros sob pressão intrapulpar, um modelo bem mais próximo do clínico, que permite o acompanhamento e a aferição do grau de permeabilidade ao longo do tempo. Aceitando-se a segunda hipótese alternativa (H_2).

CONCLUSÃO

Considerando as limitações deste estudo *in vitro*, pode-se concluir que:

- O agente dessensibilizante Desensibilize foi significativamente eficaz na redução da permeabilidade dos sistemas adesivos convencionais de 2 passos no período inicial (*baseline*) quando comparado aos demais grupos, mas não foi significativo aos 6 e 12 meses;
- O Desensibilize não influenciou nos resultados dos sistemas adesivos ScotchBond Multiuso e AdheSE, independente do tempo;
- Tanto os adesivos convencionais de 3 e 2 passos quanto o autocondicionante não apresentaram permeabilidade após 12 meses armazenados em solução salina com Timol 0,05% e termociclados 3000 vezes (5-55°C);
- Essa nova metodologia mostrou-se simples, eficaz e reproduzível para avaliar os sistemas adesivos em dentes humanos íntegros restaurados sob pressão intrapulpar, com a mesma técnica feita clinicamente;
- Essa metodologia também permite a aferição da permeabilidade de sistemas adesivos ao longo do tempo.

REFERÊNCIAS

- 1- Vachiramon V, Vargas MA, Pashley DH, et al. Effects of oxalate on dentin bond after 3- month simulated pulpal pressure. *J Dent.* 2008;36(3):178-85.
- 2 - Faria e Silva AL, Fabião MM, Sfalcin RA, de Souza MM, Santos FPC, et al. Bond strengt of One-Step adhesives under different substrate moisture conditions. *Eur J Dent.* 2009;3(9):290-6.
- 3- Bayne SC. Correlation of clinical performance with 'in vitro tests' of restorative dental materials that use polymer-based matrices. *Dent Mater.* 2012;28(1):52-71.
- 4- Van Meerbeek, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, et al. Relationship between Bond-strength testes and clinical outcomes. *Dent Mater.* 2010;26(2):e100-21.
- 5- Hickel R, Roulet JF, Bayne SC, Heintze SD, Mjor IA, Peters M, et al. Recommendations for controlled clinical trials of restorative materials. Part 2: criteria for evaluation. *J Adhes Dent.* 2007;9:121-47.
- 6- Peumans M, De Munck J, Van Landuyt KL, Poitevin A, Lambrechts P, Van Meerbeek B. A 13-year clinical evaluation of two three-step etch-and-rinse adhesives in non-cariou class-V lesions. *Clin Oral Investig.* 2012 Feb;16(1):129-37.
- 7- Bayne SC. Dental restorations for oral rehabilitation – testing of laboratory properties versus clinical performance for clinical decision making. *J Oral Rehabil* 2007 Dec;34(12):921-32.
- 8- Heintze SD. Systematic reviews: I. The correlation between laboratory tests on marginal quality and bond strength. II. The correlation between marginal quality and clinical outcome. *J Adhes Dent.* 2007;9 Suppl 1:77-106.
- 9- De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, et

- al. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res*. 2005 Feb;84(2):118-32.
- 10- Santerre JP, Shajii L, Leung BW. Relation of dental composite formulations to their degradation and the release of hydrolyzed polymeric-resin-derived products. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2001;12:136-51.
- 11- Hashimoto M, Tay FR, Sano H, Kaga M, Pashley DH. Diffusion-induced water movement within resin-dentin bonds during bonding. *J Biomed Mater Res B: Appl Biomater*. 2006 Nov;79(2):453-8.
- 12- Sano H. Microtensile Testing, Nanoleakage, and Biodegradation of Resin Dentin Bonds. *J Dent Res*. 2006;85(1):11-4.
- 13- Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. *Oper Dent*. 1995;20:18-25.
- 14- Ye Q, Park JG, Topp E, Wang Y, Misra A, Spencer P. *In vitro* performance of nano-heterogeneous dentin adhesive. *J Dent Res*. 2008;87(9):829-33.
- 15- Hosaka K, Nakajima M, Monticelli F, Carrilho M, Yamauti M e cols. Influence of hydrostatic pulpal pressure on the microtensile bond strength of all-in-one self-etching adhesives. *J Adhes Dent*. 2007;9(5):437-42.
- 16- Hiraishi N, Yiu CK, King NM, Tay FR. Effect of pulpal pressure on the microtensile bond strength of luting resin cements to human dentin. *Dent Mater*. 2009;25(1):58-66.
- 17- Sauro S, Watson TF, Mannocci F, Tay FR, Pashley DH. Prevention of water contamination of ethanol-saturated dentin and hydrophobic hybrid layers. *J Adhes Dent*. 2009;11(4):271-78.
- 18- Pereira JC, Segala AD, Gillam DG. Effect of desensitizing agentes on the hydraulic conductance of human dentin subjected to different surface pre-

- treatments: an in vitro study. *Dent Mater.* 2005; 21(2):129-38.
- 19- Sauro S, Pashley DH, Montanari M, Chersoni S, Carvalho RM, et al. Effect of simulated pulpal pressure on dentin permeability and adhesion of self-etch adhesives. *Dent Mater.* 2007;23(6):705-13.
- 20- De Andrade e Silva SM, Marquezini L Jr, Manso AP, Garcia FP, Carrilho MR, et al. Effects of a combined application of potassium oxalate gel/adhesive agent on dentin permeability *in vitro*. *J Adhes Dent.* 2007;9(6):505-12.
- 21- Lundeen TF, Sturdevant JR, Sluder TB. Clinical significance of dental anatomy, histology, physiology, and occlusion. In: Sturdevant CM, Roberson TM, Heymann HO, Sturdevant JR. *The art and science of operative dentistry*. 3rd ed. St. Louis (MO): Mosby, 1995. Chapter 2, p. 10-29.
- 22- Pashley DH. Dentin-predentin complex and its permeability: physiologic overview. *J Dent Res.* 1985 Apr;64 Spec Issue:613-20.
- 23- Garberoglio R, Brännström M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol.* 1976;21(6):355-62.
- 24- Mjör IA. Dentin permeability: the basis for understanding pulp reactions and adhesive technology. *Braz. Dent. J.* 2009;20(1):3-16.
- 25- Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res.* 1982 May;16(3):265-73.
- 26- Sadek FT, Pashley DH, Ferrari M e Tay FR. Tubular occlusion optimizes bonding of hydrophobic resins to dentin. *J Dent Res.* 2007;86(6):524-28.
- 27- Ishioka S, Caputo AA. Interaction between the dentinal smear layer and composite bond strength. *J Prosthet Dent.* 1989 Feb;61(2):180-5.

- 28- Pashley DH. The effects of acid etching on the pulpodentin complex. *Oper Dent.* 1992;17:229-42.
- 29- Kenshima S, Francci C, Reis A, Loguercio AD, Filho LE. Conditioning effect on dentin, resin tags and hybrid layer of different acidity self-etch adhesives applied to thick and thin smear layer. *J Dent.* 2006 Nov;34(10):775-83.
- 30- Banomyong D, Palamara JE, Burrow MF, Messer HH. Effect of dentin conditioning on dentin permeability and micro-shear bond strength. *Eur J Oral Sci.* 2007 Dec;115(6):502-9.
- 31- Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. Buonocore memorial lecture - adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent.* 2003;28:215:35.
- 32- Tay FR, Pashley DH. Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. *Dent Mater.* 2001;17:296-308.
- 33- Torney DL. The retentive ability of acid-etched dentin. *J Prosthet Dent.* 1978 Feb;39(2):169-72.
- 34- Pashley DH, Livingston MJ, Reeder OW, Horner J. Effects of the degree of tubule occlusion on the permeability of human dentine in vitro. *Arch Oral Biol.* 1978;23(12):1127-33.
- 35- Frankenberger R, Krämer N, Lohbauer U, Nikolaenko AS, Reich SM. Marginal integrity: is the clinical performance of bonded restorations predictable *in vitro*? *J Adhes Dent.* 2007;9(1):107-16.
- 36- Yuan Y, Shimada Y, Ichinose S, Tagami J. Qualitative analysis of adhesive interface nanoleakage using FE-SEM/EDS. *Dent Mater.* 2007;23(5):561-69.
- 37- Cardoso MV, Neves AA, Mine A, Coutinho E, Van Landuyt K, et al. Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry. *Aust Dent J.*

2011Jun;(56):Suppl.1:31-44.

- 38- Can-Karaburut DC, Oz FT, Karaburut B, Batmaz I, Ilk O. Adhesion to primary and permanent dentin and a simple model approach. *Eur J Dent*. 2009;3(1):32-41.
- 39- Tay FR, Pashley H, Yoshiyama M. Two Modes of Nanoleakage Expression in Single-step Adhesives. *J Dent Res*. 2002 Jul;81(7):472-76.
- 40- Walter R, Miguez PA, Swift EJ, Pereira PN. Long-term bond strength to dentin treated with different re-wetting solutions. *Am J Dent*. 2008;21(3):143-7.
- 41- Aoki K, Kitasako Y, Ichinose S, Burrow M, Ariyoshi M, et al. Ten-year observation of dentin bonding durability of 4-META/MMA-TBB resin cement - s SEM and TEM study. *Dent Mater J*. 2011;30(4):438-47.
- 42- De Andrade e Silva SM, Carrilho MR, Marquezini L Jr, Garcia FP, Manso AP, et al. Effect of an additional hydrophilic *versus* hydrophobic coat on the quality of dentinal sealing provided by two-step etch-and-rinse adhesives. *J Appl Oral Sci*. 2009;17(3):184-9.
- 43- Hashimoto M, Ito S, Tay FR, Svizero NR, Sano H, Kaga M, et al. Fluid movement across the resin-dentin interface during and after bonding. *J Dent Res*. 2004;83(11):843-48.
- 44- Okuda M, Pereira PN, Nakajima M, Tagami J, Pashley DH. Long-term durability of resin dentin interface: nanoleakage vs. microtensile bond strength. *Oper Dent*. 2002 May-Jun;27(3):289-96.
- 45- Kolker JL, Vargas MA, Armstrong SR, Dawson DV. Effect of desensitizing agents on dentin permeability and dentin tubule occlusion. *J Adhes Dent*. 2002;4(3):211-21.
- 46- Pashley DH, Carvalho RM, Pereira JC, Villanueva R, Tay FR. The use of oxalate

to reduce dentin permeability under adhesive restorations. *Am J Dent.* 2001;14:89-94.

- 47- Shüpbach P, Lutz F, Finger WJ. Closing of dentinal tubules by Gluma desensitizer. *Eur J Oral Sci* 1997 Oct;105(5):414-21.
- 48- Aranha AC, Siqueira Junior AS, Cavalcante LM, Pimenta LA, Marchi GM. Microtensile Bond strength of composite to dentin treated with desensitizer products. *J Adhes Dent.* 2006;8(2):85-90.
- 49- Seara SF, Erthal BS, Ribeiro M, Kroll L, Pereira GD. The influence of a dentin desensitizer on the microtensile bond strength of two bonding systems. *Oper Dent.* 2002Mar-Apr;27(2):154-60.
- 50- Pinto SC, Pochapski MT, Wambier DS, Pilatti GL, Santos FA. *In vitro* and *in vivo* analyses of the effects of desensitizing agents on dentin permeability and dentinal tubule occlusion. *J Oral Sci.* 2010 Mar;52(1):23-32.
- 51- Sales-Peres SH, Reinato JV, Sales-Peres Ade C, Marsicano JA. Effect of iron gel on dentin permeability. *Braz Dent J.* 2011;22(3):198-202.
- 52- Kim SY, Kim EJ, Kim DS, Lee IB. The evaluation of dentinal tubule occlusion by desensitizing agents: a real-time measurement of dentinal fluid flow rate and scanning electron microscopy. *Oper Dent.* 2013 Jul-Aug;38(4):419-28.
- 53- ISO. Dental materials – Testing of adhesion to tooth structure. Technical Specification 2003; n°11405.
- 54- Lee JJ, Nettekoy-Marbell A, Cook A Jr, Pimenta LA, Leonard R, Ritter AV. Using extracted teeth for research: the effect of storage medium and sterilization on dentin bond strengths. *J Am Dent Assoc.* 2007 Dec;138(12):1599-603.
- 55- Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Hoshika T, Carrilho M, Breschi L, Tjäderhane L, et al. The requirement of zinc and calcium ions for functional MMP activity in

- demineralized dentin matrices. *Dent Mater.* 2010 Nov;26(11):1059-67.
- 56- Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Hiraishi N, Yiu CK. Water treeing in simplified dentin adhesives-déjà vu? *Oper Dent.* 2005 Sep-Oct;30(5):561-79.
- 57- Spencer P, Ye Q, Park J, Topp EM, Misra A, Marangos O, et al. Adhesive/Dentin interface: the weak link in the composite restoration. *Ann Biomed Eng.* 2010;38:1989-003.
- 58- Da Rosa Rodolpho PA, Donassollo TA, Cenci MS, Loguécio AD, Moraes RR, Bronkhorst EM, et al. 22-Year clinical evaluation of the performance of two posterior composites with different filler characteristics. *Dent Mater.* 2011 Oct;27(10):955-63.
- 59- Burrow MF, Harada N, Kitasako Y, Nikaido T, Tagami J. Seven-year dentin bond strengths of a total- and self-etch system. *Eur J Oral Sci.* 2005 Jun;113(3):265-70.
- 60- Hashimoto M, Fujita S, Nagano F, Ohno H, Endo K. Ten-years degradation of resin-dentin bonds. *Eur J Oral Sci.* 2010 Aug;118(4):404-10.
- 61- Wilder AD Jr, Swift EJ Jr, Heymann HO, Ritter AV, Sturdevant JR, Bayne SC. A 12-year clinical evaluation of a three-step dentin adhesive in noncarious cervical lesions. *J Am Dent Assoc.* 2009 May;140(5):526-35.
- 62- Kaul R, Kaul V, Farooq R, Wazir ND, Khateeb SU, Malik AH, et al. Cut off values of laser fluorescence for different storage methods at different time intervals in comparison to frozen condition: a 1 year in vitro study. *J Conserv Dent.* 2014 Mar;17(2):124-8.
- 63- Mitchem JC, Gronas DG. Effects of time after extraction and depth of dentin on resin dentin adhesives. *J Am Dent Assoc.* 1986 Aug;113(2):285-97.
- 64- Cantanhede de Sá RB, Carvalho AO, Puppim-Rontani RM, Ambrosano GMB,

- Nikaido T, Tagami J, et al. Effects of water storage on bond strength and dentin sealing ability promoted by adhesive systems. *J Adhes Dent*. 2012 Dec;14(6):543-9.
- 65- Zhang L, Wang DY, Fan J, Li F, Chen YJ, Chen JH. Stability of bonds made to superficial vs. deep dentin, before and after thermocycling. *Dent Mater*. 2014 Nov;30(11):1245-51.
- 66- Garcia-Godoy F, Krämer N, Feilzer AJ, Frankenberger R. Long-term degradation of enamel and dentin bonds: 6-year results *in vitro* vs. *in vivo*. *Dent Mater*. 2010 Nov;26(11):1113-8.
- 67- Han SH, Park SH. Micro-CT evaluation of internal adaptation in resin fillings with different dentin adhesives. *Restor Dent Endod*. 2014 Feb;39(1):24-31.
- 68- Markowitz, K. The original desensitizers: strontium and potassium salts. *J Clin Dent*. 2009;20(5):145-51.
- 69- Tay FR, Pashley DH, Mak YF, Carvalho RM, Lai SC, Suh BI. Integrating oxalate desensitizers with total-etch two-step adhesive. *J Dent Res*. 2003 Sep;82(9):703-07.
- 70- Perdigão, J. Dentin bonding – Variables related to the clinical situation and the substrate treatment. *Dent Mater*. 2010 Feb;26(2):e24-37.
- 71- Kotz JC, Treichel P. Principals of reactivity: precipitation reactions. In: *Chemistry and chemical reactivity*. 4th Ed. Forthworth: Saunders College Publishers 1999; p. 897-98.
- 72- Grégoire G, Millas A. Microscopic evaluation of dentin interface obtained with 10 contemporary self-etching systems: correlation with their pH. *Oper Dent*. 2005 Jul-Aug;30(4):481-91.
- 73- Mine A, De Munck J, Cardoso MV, Van Landuyt KL, Poitevin A, Van Ende A, et

- al. Dentin-smear remains at self-etch adhesive interface. *Dent Mater.* 2014 Oct;30(10):1147-53.
- 74- Van Landuyt KL, De Munck J, Mine A, Cardoso MV, Peumans M, Van Meerbeek B. Filler debonding & subhybrid-layer failures in self-etch adhesives. *J Dent Res.* 2010 Oct;89(10):1045-50.
- 75- Kim J, Arola DD, Gu L, Kim YK, Mai S, Liu Y, et al. Functional biomimetic analogs help remineralize apatite-depleted demineralized resin-infiltrated dentin via a bottom-up approach. *Acta Biomater.* 2010 Jul;6(7):2740-50.
- 76- Van Meerbeek B. The "myth" of nanoleakage. *J Adhes Dent.* 2007 Dec;9(6):491-92.
- 77- Almeida JC, Osorio R, Garcia FC, Osorio E, Carvalho RM, Toledano M. Effect of oxalate desensitizers and dentin moisture during total-etch bonding. *Am J Dent.* 2010 Jun;23(3):137-41.
- 78- De Andrade e Silva SM, Malacarne-Zanon J, Carvalho RM, Alves MC, De Goes MF, Anido-Anido A, et al. Effect of oxalate desensitizer on the durability of resin-bonded interfaces. *Oper Dent.* 2010 Nov-Dec;35(6):610-7.
- 79- Yousry MM. Effect of re-etching oxalate-occluded dentin and enamel on bonding effectiveness of etch-and-rinse adhesives. *J Adhes Dent.* 2012 Feb;14(1):31-8.
- 80- Sahin C, Cehreli ZC, Yenigul M, Dayangac B. In vitro permeability of etch-and-rinse and self-etch adhesives used for immediate dentin sealing. *Dent Mater J.* 2012;31(3):401-8.
- 81- Yiu CK, Hiraishi N, Chersoni S, Breschi L, Ferrari M, Prati C, et al. Single-bottle adhesives behave as permeable membranes after polymerisation. II. Differential permeability reduction with an oxalate desensitiser. *J Dent.* 2006 Feb;34(2):106-16.
- 82- Fu B, Sun X, Qian W, Shen Y, Chen R, Hannig M. Evidence of chemical bonding

- to hydroxyapatite by phosphoric acid esters. *Biomater*. 2005 Sep;26(25):5104-10.
- 83- Inoue G, Nikaido T, Foxton RM, Tagami J. The acid-base resistant zone in three dentin bonding systems. *Dent Mater J*. 2009 Nov;28(6):717-21.
- 84- Erhardt MC, Pisani-Proença J, Osorio E, Aguilera FS, Toledano M, Osorio R. Influence of laboratory degradation methods and bonding application parameters on microTBS of self-etch adhesives to dentin. *Am J Dent*. 2011 Apr;24(2):103-8.
- 85- Van Meerbeek B, Van Landuyt K, De Munck J, Hashimoto M, Peumans M, Lambrechts P, et al. Technique-sensitivity of contemporary adhesives. *Dent Mater J*. 2005 Mar;24(1):1-13.
- 86- Ozok AR, De Gee AJ, Wu MK, Wesselink PR. The influence of resin composite and bonded amalgam restorations on dentine permeability in Class II cavities in vitro. *Dent Mater*. 2001 Nov;17(6):477-84.
- 87- De Munck J, Shirai K, Yoshida Y, Inoue S, Van Landuyt K, Lambrechts P, et al. Effect of water storage on the bonding effectiveness of 6 adhesives to Class I cavity dentin. *Oper Dent*. 2006 Jul-Aug;31(4):456-65.
- 88- Sartori CO. Análise *in vitro* de substâncias dessensibilizantes quanto ao potencial de obliteração de túbulos dentinários [Dissertação]. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa; 2006.
- 89- Oberg C, Pochapski MT, Farago PV, Granado CJ, Pilatti GL, Santos FA. Evaluation of desensitizing agents on dentin permeability and dentinal tubule occlusion: an in vitro study. *Gen Dent*. 2009 Sep-Oct;57(5):496-501.
- 90- Feitosa VP, Correr AB, Correr-Sobrinho L, Sinhorette MA. Effect of a new method to simulate pulpal pressure on bond strength and nanoleakage of dental adhesives to dentin. *J Adhes Dent*. 2012 Dec;14(6):517-24.

APÊNDICE A – TCLE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

O(A) Sr(a) está sendo convidado(a) a participar do Projeto de Pesquisa “*Influência do dessensibilizante na permeabilidade dentinária de sistemas adesivos após 12 meses*”.

O objetivo dessa pesquisa é: avaliar alguns materiais dentários, utilizados para se fazer as restaurações dentárias (obturações dos dentes), verificando sua efetividade em aderir ao dente, ou seja, testá-los para se ter certeza de que eles terão estabilidade em longo prazo. Para realizá-la é necessário utilizarmos 120 dentes humanos sem cárie, extraídos por indicação cirúrgica ou ortodôntica (para colocar o aparelho ortodôntico fixo), simulando os procedimentos em laboratório da mesma forma com que se faz na clínica. Essa etapa do trabalho terá duração de cerca de um ano.

A sua participação será através da doação do(s) dente(s) extraído(s). O(A) senhor(a) deve ter autonomia plena e ser maior de idade e após leitura e compreensão dos tópicos desse consentimento, na consulta inicial, optará se quer ou não doar os seus dentes para a pesquisa. Os procedimentos cirúrgicos para extração dos dentes são os mesmos já feitos habitualmente, independente da sua utilização ou não para essa pesquisa, por CD especialista em Cirurgia-Buco-Maxilo-Facial adotando-se a técnica pertinente para nenhum, ou mínimo, dano. Assim, além da consulta inicial, o(a) senhor(a) terá uma consulta para o procedimento cirúrgico e, outra, após 7 dias para remoção dos pontos. Caso o Cirurgião-Dentista precise cortar o dente para removê-lo, ele será descartado. O(A) senhor(a) deve fazer exame radiográfico prévio, a radiografia Panorâmica, para todos os casos, sem custo, e preencher a anamnese os quais são feitos como rotina para os procedimentos de extrações dentárias. O(A) senhor(a) tem acompanhamento e assistência necessários para resolução do seu caso até sua conclusão. As orientações, prescrições e riscos serão feitos e informados conforme avaliação do profissional da área de acordo com a anamnese, quais sejam:

Orientações e Prescrições: ter feito o exame radiográfico e preenchido corretamente a anamnese, acatar as orientações e medidas adotadas para preparação cirúrgica e prescrição das medicações necessárias (se for o caso, como por exemplo, profilaxia antibiótica quando indicada);

Benefícios: além dos benefícios onde a remoção do dente possibilitará sua recuperação ou a colocação do aparelho ortodôntico, você estará contribuindo para o desenvolvimento de restaurações de resina composta mais eficazes e duradouras;

Riscos: inerentes a esses procedimentos cirúrgicos como exemplo, sangramentos e alveolites, e potencialmente até fratura da mandíbula, ficando assegurado seu

atendimento e acompanhamento até o seu completo restabelecimento;

O(A) senhor(a) tem direito ao esclarecimento de quaisquer dúvidas acerca dos assuntos relacionados à pesquisa e ao tratamento. Também pode deixar de doar seus dentes após tais esclarecimentos e a qualquer tempo, sem prejuízo ou penalização alguma, sendo seu tratamento conduzido até o fim da mesma forma. Sua participação é voluntária, isto é, não há pagamento por sua colaboração. É mantido o sigilo de todas as suas informações, zelando pela sua privacidade e garantindo que não haverá nenhum tipo de exposição da sua identificação no trabalho de pesquisa. Os resultados dela serão divulgados na Universidade de Brasília podendo ser publicados posteriormente em revistas científicas da área. Todos os dentes ficarão guardados com o pesquisador e serão descartados após a conclusão do doutorado.

Se o(a) senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para: Dr. Ricardo Maio Gagliardi, no horário comercial, no celular (61) 8198-7903 ou e-mail: gagliardiricardo@ig.com.br. Pode também telefonar para o meu orientador, Prof. Dr. Orlando Ayrton de Toledo pelo tel. (61) 99817081.

Este projeto foi Aprovado pelo *Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília*. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do sujeito da pesquisa podem ser obtidos através do telefone: (61) 3107-1947 ou e-mail: cepfs@unb.br. Esse documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o sujeito da pesquisa. Devendo ambos rubricar a primeira folha e assinar à última.

Nome/ Assinatura

Dr. Ricardo Maio Gagliardi (CRO-DF 5019)
Pesquisador responsável

Brasília, ____ de _____ de _____.

ANEXO A – DOCUMENTO DE APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA

Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/FS

PROCESSO DE ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA

Registro do Projeto no CEP: **166/11**

Título do Projeto: “Influência do dessensibilizante na permeabilidade e resistência dentinárias dos sistemas adesivos convencionais e autocondicionantes em dentina sadia e esclerótica”.


Pesquisadora Responsável: Ricardo Maio Gagliardi

Data de Entrada: 10/11/11

Com base na Resolução 196/96, do CNS/MS, que regulamenta a ética em pesquisa com seres humanos, o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, após análise dos aspectos éticos e do contexto técnico-científico, resolveu **APROVAR** o projeto **166/11** com o título: “Influência do dessensibilizante na permeabilidade e resistência dentinárias dos sistemas adesivos convencionais e autocondicionantes em dentina sadia e esclerótica”, analisado na 10ª Reunião Ordinária, realizada no dia 01 de dezembro de 2011.

O pesquisador responsável fica, desde já, notificado da obrigatoriedade da apresentação de um relatório semestral e relatório final sucinto e objetivo sobre o desenvolvimento do Projeto, no prazo de 1 (um) ano a contar da presente data (item VII.13 da Resolução 196/96).

Brasília, 11 de julho de 2012.


Prof. Nelson Monsores
Coordenador do CEP-FS/UnB
**Comitê de Ética em
Pesquisa em Seres Humanos
FS-UNB**

APÊNDICE B – MENSURAÇÕES DA PERMEABILIDADE

Tabela 5 – Todas as mensurações da permeabilidade dos Grupos G1 ao G4 (sem Desensibilize®)

Grupo 1	0M1	0M2	6M1	6M2	12M1	12M2
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0,041	0,041	0	0	0	0
7	0,083	0,083	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0

Grupo 2	0M1	0M2	6M1	6M2	12M1	12M2
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0

Grupo 3	0M1	0M2	6M1	6M2	12M1	12M2
1	0,041	0,041	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0,041	0,041	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0,041	0,041	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0

Grupo 4	0M1	0M2	6M1	6M2	12M1	12M2
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0

Tabela 6 – Todas as mensurações da permeabilidade dos Grupos G5 ao G8 (com Desensibilize®)

Grupo 5	0M1	0M2	6M1	6M2	12M1	12M2
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0

Grupo 6	0M1	0M2	6M1	6M2	12M1	12M2
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0

Grupo 7	0M1	0M2	6M1	6M2	12M1	12M2
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0

Grupo 8	0M1	0M2	6M1	6M2	12M1	12M2
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0