

CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Monografia de Final de Curso

Aluno(a): Maria Fernanda Grando

Orientador(a): Profa Dra Regina Maria Puppin Rontani

Ano de Conclusão do Curso: 2004





UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



MARIA FERNANDA GRANDO

**EFEITO DA APLICACÃO DE HIPOCLORITO DE SÓDIO NA
DENTINA DE DENTES DECÍDUOS**

Monografia de conclusão de Curso de Graduação
em Odontologia apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba-UNICAMP.

Orientadora: Regina Maria Puppim Rontani

**PIRACICABA
2004**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
BIBLIOTECA**

Este trabalho é dedicado...

Dedicatória

*Ao nosso Pai Celestial, por ter me ajudado
a enfrentar todas as dificuldades impostas
ao longo desse pequeno percurso da minha vida...*

*Aos meus pais, José Antonio e Margarida,
pelo amor, por inúmeras palavras de carinho
e incentivo e por serem as bases fundamentais
que me possibilitaram percorrer este caminho!*

*À Professora Regina Maria Puppin Rontani
por todo esforço, dedicação e compreensão durante
a orientação para a realização da pesquisa e elaboração
deste trabalho, e por seu exemplo de caráter e profissionalismo.*

Agradecimentos Especiais

*Aos grandes e verdadeiros amigos
conquistados durante esses quatro anos:
Carol, Letícia, Fernanda, Tati Sanches,
Tati Meulman, Marina, Ana Flávia,
Gisele, entre outros.*

*Às alunas de Pós Graduação e amigas:
Gisele Maria correr, pela atenção e grande
ajuda para a realização da pesquisa ; Ana Flávia,
Kamila e Fernanda, por estarem sempre prontas
a me ajudar nos momentos de dificuldades.*

*A todas as pessoas que, de forma direta
ou indireta, contribuíram para o enriquecimento
e realização deste trabalho.*

SUMÁRIO

Lista.....	07
Resumo.....	08
Introdução e Revisão da Literatura.....	10
Objetivo.....	14
Materiais e Métodos.....	15
Análises dos Resultados e Resultados.....	21
Discussão.....	24
Conclusão.....	28
Referências Bibliográficas.....	29

LISTAS

QUADRO 1- Distribuição das amostras entre os grupos.....	17
TABELA 1- Escores utilizados para análise da topografia dentina tratada com NaOCl.....	20
TABELA 2- Distribuição dos escores observados para cada grupo e amostra.....	21
TABELA 3- Distribuição dos valores observados para cada grupo e amostra.....	21
FIGURA 1- Ácido fosfórico 35% (3M/ESPE).....	15
FIGURA 2- Solução de Hipoclorito de Sódio.....	15
FIGURA 3- Coroas dos dentes selecionadas para o estudo após a remoção das raízes.....	16
FIGURA 4- Condicionamento ácido das amostras.....	18
FIGURA 5- Amostras preparadas para observação em Microscopia Eletrônica de Varredura A – suportes; B – amostras coladas nos suportes e metalizadas.....	19
FIGURA 6- G1- Presença de Smear layer.....	22
FIGURA 7- G2- Ausência de SL + Colágeno não alterado.....	22
FIGURA 8- G3- Ausência de SL + Colágeno pouco alterado.....	23
FIGURA 9- G4- Ausência de SL + Colágeno severamente alterado.....	23
FIGURA 10- G5- Ausência de SL e de Colágeno.....	23
FIGURA 11- G6- Ausência de SL e de Colágeno.....	23
FIGURA 12- G7- Ausência de SL e de Colágeno.....	23
FIGURA 13- G7- Ausência de SL e de Colágeno.....	23

1 – Resumo

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da aplicação da solução aquosa de hipoclorito de sódio (NaOCl) em diferentes concentrações e tempos de aplicação no aspecto morfológico da superfície da dentina de dentes decíduos, em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Foram selecionados 40 decíduos anteriores hígidos, obtendo-se um total de 40 amostras. As amostras foram, então, condicionadas com gel de ácido fosfórico a 35% por 7s, lavadas e secas, exceto as amostras do grupo 1 (controle). Em seguida, foram distribuídas aleatoriamente em 8 grupos ($n=5$), de acordo com o tratamento realizado na superfície da dentina (condicionamento ácido – CA e/ou aplicação do NaOCl), concentração da solução de hipoclorito de sódio (5 e 10%) e o tempo de aplicação da solução de hipoclorito de sódio (0, 30, 60 e 120s), sendo: G1 – controle (sem CA e sem NaOCl); G2 – apenas CA; G3, G4 e G5 – CA + NaOCl a 5% por 30, 60 e 120s respectivamente; G6, G7 e G8 – CA + NaOCl a 10% por 30, 60 e 120s respectivamente. Em seguida, as amostras foram preparadas para observação em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Após o preparo das amostras para MEV, serão realizadas fotomicrografias das superfícies dentinárias tratadas, 3 para cada amostra, totalizando 15 imagens por grupo. As fotomicrografias foram analisadas por 1 examinador calibrado, que atribuiu a ela um escore, segundo a presença ou ausência da *smear layer* (SL) e alteração ou não da rede de fibrilas colágenas superfície da dentina, sendo os escores: 0 – presença de SL; 1 – ausência de SL + colágeno não alterado; 2 – ausência de SL + colágeno pouco alterado; 3 – ausência de SL + colágeno severamente alterado; 4 – ausência de SL e de colágeno. A ação do hipoclorito de sódio pode ser observada quando aplicada à solução de 5% por 30 segundos, menos evidentes de alteração da rede

de fibrilas colágenas em relação ao grupo 4 (NaOCl 5% por 60 segundos), com ausência de SL e presença da rede de fibrilas colágenas muito alterada (Tabelas. 1 e 2; figuras. 8 e 9). O aumento do tempo de aplicação do NaOCl a 5% para 120 segundos produziu resultados similares aos observados para a solução de NaOCl a 10% aplicada por qualquer período de tempo (Tabelas 1 e 2; Figuras 10, 11, 12 e 13). Os resultados mostraram que todos os grupos nos quais o NaOCl foi aplicado mostraram alterações significativas na morfologia quando comparados a G1 e G2 (controles). Entretanto, a completa remoção do colágeno foi observada somente com a aplicação de NaOCl a 5% por 120 segundos e com NaOCl a 10% por 30, 60 e 120 segundos.

2 – Introdução e Revisão da Literatura

A odontologia vem apresentando grande evolução em relação aos procedimentos restauradores, através da introdução de novos materiais adesivos. Muitas pesquisas têm sido realizadas para o desenvolvimento de sistemas de união que apresentem união efetiva à dentina, visto que o selamento das margens dentinárias de restaurações em compósito permanece um desafio (KOMATSU & FINGER, 1986; CHRISTENSEN, 1992; VAN MEERBEEK *et al.*, 1992; GONÇALVES *et al.*, 1996; GORDAN *et al.*, 1998).

A dificuldade de obtenção de união duradoura à dentina deve-se às características inerentes deste substrato. A dentina é composta por 70% de material inorgânico (cristais de hidroxiapatita), 18% de material orgânico (colágeno tipo I) e 12% de água (ARAUJO *et al.*, 1995). Estes componentes podem variar de acordo com o estágio de desenvolvimento do dente, com o tipo de dente (permanente ou decíduo) e localização dentro de um mesmo substrato (GWINNETT *et al.*, 1994; ARAUJO *et al.*, 1995; MARSHALL Jr *et al.*, 1997).

A dentina é morfológicamente mais heterogênea e fisiologicamente mais dinâmica que o esmalte, daí as propriedades daquele substrato serem consideradas as determinantes da qualidade da união compósito/dentina.

O condicionamento ácido do substrato dentinário tem por objetivo aumentar a retenção micromecânica e diminuir a microinfiltração marginal (FARAH *et al.*, 1991), removendo a *smear layer* (FUSAYAMA *et al.*, 1979), a qual se estende em várias profundidades dentro dos túbulos dentinários (PASHELEY *et al.*, 1988) e expõe a rede de fibrilas colágenas, originando um substrato poroso criado pela dissolução dos cristais de hidroxiapatita.(NAKAMURA *et al.*, 1991)

Com a remoção da *smear layer* e, consequente exposição da trama de fibrilas colágenas, as mesmas são permeadas pelos monômeros resinosos possibilitando a obtenção da camada híbrida (NAKABAYASHI *et al.*, 1982), a qual, para alguns autores é essencial no processo de união à estrutura dental (NAKABAYASHI *et al.*, 1992; GWINNETT, 1993; UNO & FINGER, 1995; NÖR *et al.*, 1996; PASHLEY & CARVALHO, 1997; PIOCH *et al.*, 1998; PERDIGÃO & LOPES, 1999; FRANKENBERGER *et al.*, 2000; FERRARI *et al.*, 2000).

Entretanto tem-se proposto que a possível falha na união compósito/dentina estaria relacionada à penetração deficiente dos monômeros resinosos em toda extensão do substrato desmineralizado, e esta falha seria a responsável pelo elo fraco na união, levando à concentração de tensões nesta região (SANO *et al.*, 1994).

Embora certos autores preconizem a camada híbrida como sendo fundamental para a boa adesão da resina à dentina (NAKABAYASHI *et al.*, 1992), estudos recentes têm demonstrado que, talvez, esta zona de interdifusão não seja essencial no processo de união ao substrato dentinário (CORRER *et al.*, 2003; PRATI *et al.*, 1999; INAI *et al.*, 1998; GWINNETT, 1994; VARGAS *et al.*, 1997; KALLA & GARCIA GODOY, 1998), e que se pode conseguir outra forma de união através da penetração do agente de união nos espaços previamente ocupados pelas fibrilas colágenas que foram removidas da superfície da dentina pelo hipoclorito de sódio.

Por apresentar propriedades altamente desejáveis como lubrificação, remoção de debris, destruição de microrganismos e dissolução de tecidos (COHEN & BURNS, 1998), o hipoclorito de sódio é uma solução muito utilizada em endodontia como coadjuvante no preparo químico-mecânico do canal radicular. Além da endodontia, esta solução é utilizada em diversos procedimentos odontológicos devido a sua ação proteolítica não-específica e desinfetante

(MARSHALL Jr *et al.*, 2001), como na remoção químico-mecânica da cárie (CarisolvTM), e seus efeitos na união compósito/dentina começam a ser avaliados. (TANAKA & NAKAI, 1993; GWINNETT, 1994; WAKABAYASHI *et al.*, 1994; UNO & FINGER, 1995; VARGAS *et al.*, 1997a; INAI *et al.*, 1998; KANCA III & SANDRIK, 1998; PERDIGÃO *et al.*, 1999; PRATI *et al.*, 1999; PERDIGÃO *et al.*, 2000; SABOIA *et al.*, 2000; BEDRAN DE CASTRO *et al.*, 2000; PHRUKANNON *et al.*, 2000; MUNKSGAARD, 2002).

A dissolução de tecidos orgânicos que estas soluções apresentam deve-se à ação do cloro sobre as proteínas formando cloraminas solúveis em água, e esta reação é diretamente proporcional à concentração de cloro ativo presente na solução (GROSSMAN & MEIMAN, 1941; HAND *et al.*, 1978; MOORE & WESSELINK, 1982).

O hipoclorito de sódio remove compostos orgânicos da dentina podendo promover alteração na configuração dos mesmos. Após o tratamento da dentina desmineralizada, com a solução desproteinizante, ocorre um aumento da dureza, módulo de elasticidade (MARSHALL Jr *et al.* 2001) e da capacidade de umedecimento da superfície dentinária (TOLEDANO *et al.*, 1999). Além disso, a remoção das fibrilas colágenas promovida pela ação do hipoclorito de sódio leva ao aumento na permeabilidade da dentina (BARBOSA *et al.*, 1994), e o substrato dentinário é transformado numa estrutura porosa e com múltiplas irregularidades, anastomoses, que não seriam visualizadas normalmente apenas com a desmineralização do substrato (PERDIGÃO *et al.* 1999).

Estes fatores seriam uma das causas do aumento dos valores de resistência da união ao substrato desproteinizado. (INAI *et al.*, 1998; WAKABAYASHI *et al.*, 1994).

Entretanto, dependendo do sistema de união utilizado, o tratamento da superfície dentinária com hipoclorito de sódio pode aumentar (TANAKA *et al.*, 1993; WAKABAYASHI *et al.*, 1994; VARGAS *et al.*, 1997a; INAI *et al.*, 1998; PRATI *et al.*, 1999; PHRUUKKANON *et al.*, 2000; BEDRAN DE CASTRO *et al.*, 2000; SABOIA *et al.*, 2000; MUNKSGAARD *et al.*, 2002), diminuir (FRANKENBERGER *et al.*, 2000; PERDIGÃO *et al.*, 2000) ou não interferir (CORRER *et al.*, 2003; UNO & FINGER, 1995; KANCA III & SANDRIK, 1998; REIS *et al.*, 2000) nos valores de resistência da união compósito/dentina.

Embora, em alguns casos a eficiência do procedimento adesivo tenha sido comprovada com a aplicação do hipoclorito de sódio em dentes permanentes, não existe uma padronização entre os estudos quanto à concentração e tempo de aplicação ideais da solução de hipoclorito de sódio. WAKABAYASHI *et al.* em 1994, estabeleceram que a aplicação de uma solução de hipoclorito de sódio a 10% por 60s seria o tratamento ideal para remoção completa da camada de fibrilas colágenas expostas pelo condicionamento ácido, entretanto, este parâmetro foi estabelecido para dentina de dentes permanentes bovinos.

Sabendo-se que os dentes decíduos apresentam diferenças morfológicas e constitucionais em relação aos permanentes (ARAÚJO *et al.* 1995) e são mais susceptíveis ao condicionamento ácido (NOR *et al.*, 1997; CALDO- TEIXEIRA *et al.*, 2002), acredita-se, que a aplicação de hipoclorito de sódio neste substrato produziria diferentes alterações quando comparada àquelas encontradas na literatura para dentes permanentes.

3 - Objetivo

O objetivo deste trabalho é verificar os efeitos da aplicação de uma solução de hipoclorito de sódio em diferentes concentrações e tempos de aplicação no aspecto morfológico da superfície da dentina de dentes decíduos através de estudo *in vitro* em Microscópio Eletrônico de Varredura.

4 - Materiais e Métodos

4.1 – Materiais

Para realização deste estudo foi utilizado gel condicionador de ácido fosfórico a 35% (3M/ESPE) e solução aquosa de hipoclorito de sódio a 5% e a 10%, obtida em farmácia de manipulação.



**Fig. 1 – ácido fosfórico 35%
(3M/ESPE)**



**Fig. 2 – Solução de
Hipoclorito de Sódio**

4.2 – Métodos

4.2.1 - Seleção e Preparo das amostras

Foram selecionados 40 dentes decíduos anteriores hígidos, recém-extraídos por razões clínicas, de crianças na faixa etária de 4, dos quais foram obtidas 40 unidades experimentais em dentina, cujos fatores de estudo foram tempos de aplicação do hipoclorito de sódio e grau de concentração da solução de hipoclorito de sódio.

Os dentes utilizados neste estudo foram doados por crianças em tratamento na Clínica de Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, com o consentimento dos responsáveis após leitura do termo de consentimento livre e esclarecido, de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS, de 10/10/1996.

Após as exodontias, os dentes foram limpos com pasta de pedra-pomes e água, armazenados em solução tamponada de Glutaraldeído a 2,5% com tampão de cacodilato de sódio 0,1M em pH 7,4, por 4h, em seguida foram lavados e armazenados em tampão de cacodilato de sódio a 0,2M em pH 7,4 até a época do processamento.

Após a seleção dos dentes, as raízes foram seccionadas na junção cemento-esmalte, através de discos diamantados de dupla face, em baixa rotação, sob refrigeração água/ar e descartadas após o corte. Em seguida as coroas foram lixadas com lixas de carbureto de silício granulação 120 a 600, até a obtenção de uma área plana em dentina, livre de esmalte, na superfície oclusal.

Após a obtenção de uma superfície plana em dentina, com o auxílio de lixas d'água de granulação número 600, as superfícies foram lixadas para simular a obtenção de *smear layer* (RETIEF, 1991; TAY *et al.*, 2000; BURROW *et al.*, 2002).



Fig. 3 – Coroas dos dentes selecionadas para o estudo após a remoção das raízes

Lixadas as superfícies, as amostras foram distribuídas aleatoriamente em 8 grupos (QUADRO 1), de acordo com o tratamento realizado na superfície (condicionamento ácido e aplicação da solução de NaOCl), a concentração da solução de hipoclorito de sódio (5% e 10%) e o tempo de aplicação da solução de hipoclorito de sódio (0, 30, 60 e 120s), sendo n=5.

QUADRO 1 – Distribuição das amostras entre os grupos.

	Sem tratamento do substrato	Condicionamento ácido (CA)	CA + NaOCl a 5%*	CA + NaOCl a 10%*
0 s	G1	G2		
30 s			G3	G6
60 s			G4	G7
120 s			G5	G8

CA = condicionamento com ácido fosfórico a 35%.

Após a distribuição dos grupos foram realizados os respectivos tratamentos na superfície das amostras.

Primeiramente, as superfícies dentinárias foram condicionadas com gel de ácido fosfórico a 35% por 7s, lavadas por 15s e em seguida secas com papel absorvente, exceto as amostras do grupo 1 (controle) sobre as quais não foi realizado qualquer tratamento na superfície após o desgaste com lixas e obtenção da *smear layer*.

Após o condicionamento ácido as amostras foram submetidas à aplicação da solução de hipoclorito de sódio a 5 ou 10% pelos tempos de 0 (grupo 2), 30, 60 e 120 segundos (grupos 3 a 8), de acordo com a distribuição dos grupos demonstrada

no QUADRO 1. Após a aplicação da solução de hipoclorito de sódio, as amostras foram lavadas por 30s e secas com papel absorvente.

Em seguida, as amostras foram preparadas para observação em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV).



Fig. 4 - Condicionamento ácido das amostras

4.2.2 - Preparo das amostras para Microscopia eletrônica de varredura

Terminado o procedimento, as amostras foram processadas para avaliação em MEV, como se segue:

- fixação das amostras com imersão em solução de glutaraldeído a 2,5% com paraformaldeído a 2%, tamponada com tampão cacodilato de sódio 0,1M por 1 hora, lavagem em tampão cacodilato e água deionizada por 1 minuto;
- desidratação das amostras com imersão em soluções crescentes de etanol por tempo predeterminado (etanol a 25% por 20 min; etanol a 50% por 20 min; etanol a 75% por 20 min; etanol a 95% por 30 min; etanol a 100% por 60 min);
- secagem com imersão em solução de Hexametildisilazane (HMDS), por 10 min a temperatura ambiente (PERDIGÃO *et al.*, 1995);
- metalização a 52mA por 186s.

As amostras preparadas foram observadas em MEV.

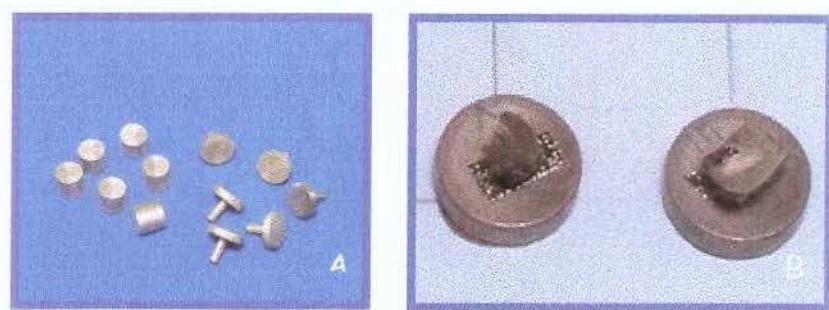


Fig. 5 - Amostras preparadas para observação em Microscopia Eletrônica de Varredura -
A - suportes; B - amostras coladas nos suportes e metalizadas

4.2.3 - Análise em MEV da topografia da dentina tratada com NaOCl

Após o preparo das amostras para MEV, foram realizadas fotomicrografias das superfícies dentinárias tratadas, 3 para cada amostra, totalizando 15 imagens por grupo. Em seguida, cada fotomicrografia foi analisada duas vezes com um intervalo de uma semana, por 1 examinador calibrado, que atribuiu a elas um escore, segundo a presença ou ausência da *smear layer* (SL) e alteração ou não da rede de fibrilas colágenas na superfície da dentina (TABELA 1). Os dados obtidos foram submetidos à correlação de Spearman e cálculo do erro intraexaminador foi de 98%.

TABELA 1 – Escores utilizados para análise da topografia da dentina tratada com NaOCl.

Escore	Característica da amostra*
0	Presença de SL
1	Ausência da SL + colágeno não alterado
2	Ausência da SL + colágeno pouco alterado
3	Ausência da SL + colágeno severamente alterado
4	Ausência da SL + ausência do colágeno

*Colágeno não alterado = nenhuma área da região observada em MEV apresenta ausência de colágeno na superfície;

Colágeno pouco alterado = uma pequena área, até um 1/3 da região observada em MEV apresenta ausência de colágeno na superfície e pouca alteração na estrutura (raras porosidades e erosão pequena);

Colágeno severamente alterado = mais de 1/3 da região observada em MEV apresenta ausência de colágeno na superfície e estrutura severamente alterada (muita porosidade e erosão);

Ausência de colágeno = todo o colágeno da região observada em MEV foi removido e estrutura totalmente alterada (muita porosidade e erosão).

4.2.4 - Análise Estatística

Foi realizada estatística descritiva dos dados, sendo utilizada a Moda para comparação entre os grupos e Teste Anova two-way (0.05).

5- Resultados

Os resultados obtidos pela análise das fotomicrografias estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Distribuição dos escores observados para cada grupo e amostra.

Amostra	Controle	Condicionamento ácido (CA)	Tratamento						CA + NaOCl 10%/120s
			CA + NaOCl 5%/30s	CA + NaOCl 5%/60s	CA + NaOCl 5%/120s	CA + NaOCl 10%/30s	CA + NaOCl 10%/60s	CA + NaOCl 10%/120s	
1	0	1	2	3	4	4	4	4	
2	0	1	1	3	4	4	4	4	
3	0	1	1	3	4	4	4	4	
4	0	1	2	3	4	4	4	4	
5	0	1	2	3	4	4	4	4	
6	0	1	2	3	4	4	4	4	
7	0	1	2	3	4	4	4	4	
8	0	1	2	2	4	4	4	4	
9	0	1	2	3	4	4	4	4	
10	0	1	2	2	4	3	4	4	
11	0	1	2	2	4	3	4	4	
12	0	1	2	2	4	4	4	4	
13	0	1	2	2	4	4	4	4	
14	0	1	2	2	4	4	4	4	
15	0	1	2	3	4	4	4	4	

Tabela 3 – Distribuição dos valores modais observados entre os grupos estudados.

Condicionamento ácido									
controle	Sem NaOCl	NaOCl a 5%			NaOCl a 10%			30	60
		0s	30	60	120	30	60		
GRUPO	1	2	3	4	5	6	7	8	
ESCORE*	0	1	2	3	4	4	4	4	

Barras indicam ausência de diferença significativa entre os grupos – Teste Anova two-way ($p<0.05$).

A ação do hipoclorito de sódio pode ser observada quando aplicada a solução de 5% por 30 segundos, que apresentou resultados menos evidentes de alteração da rede de fibrilas colágenas em relação ao grupo 4 (NaOCl 5% por 60 segundos), com ausência de SL e presença da rede de fibrilas colágenas muito alterada (Tabelas 1 e 2; Figuras 8 e 9). O aumento do tempo de aplicação do NaOCl a 5% para 120 segundos produziu resultados similares aos observados para a solução de NaOCl a 10% aplicada por qualquer período de tempo (Tabelas 1 e 2; Figuras 10,11,12 e 13).

Analisando-se o tratamento efetuado com hipoclorito de sódio em diferentes concentrações, porém utilizando-se o mesmo tempo de aplicação, pôde-se observar que o aumento da concentração do hipoclorito de sódio aplicado pelo mesmo período de tempo produziu aumento altamente significativo na remoção do colágeno e das alterações superficiais, quando aplicado por 30 e 60 segundos (**Tabela 3**).



Fig. 6 G1- Presença de Smear Layer



Fig. 7 G2 - Ausência de SL + Colágeno não alterado

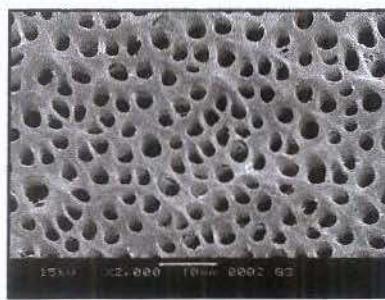


Fig. 8. G3 - Ausência de SL + Colágeno pouco alterado



Fig. 9 G4 - Ausência de SL + Colágeno severamente alterado

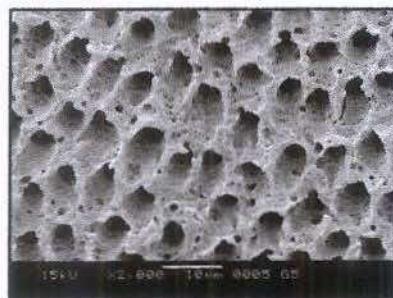


Fig. 10 G5 - Ausência de SL e de Colágeno

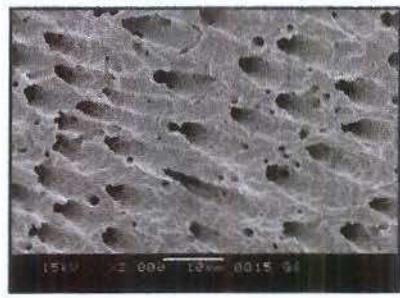


Fig. 11 G6 - Ausência de SL e de Colágeno

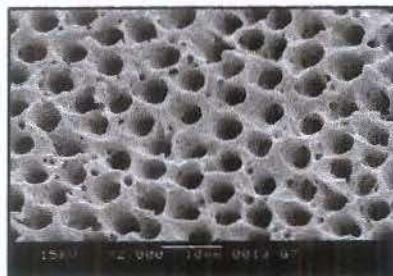


Fig. 12 G7 - Ausência de SL e de Colágeno

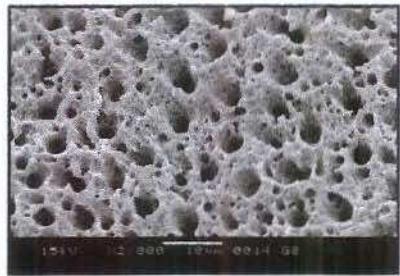


Fig. 13 G8 - Ausência de SL e de Colágeno

6 - Discussão

A excelência da união é obtida através da formação da camada híbrida adequada e bem infiltrada. Entretanto, SANO et al., (1994) relataram a ocorrência de nanoinfiltração na camada híbrida, sugerindo a presença de porosidades, devido à presença de colágeno exposto pelo condicionamento ácido e não infiltrado pelos monômeros resinosos podendo levar à degradação dessa camada.

Embora certos autores preconizem a camada híbrida como sendo fundamental para a boa adesão da resina à dentina (NAKABAYASHI *et al.*, 1992), estudos recentes têm demonstrado que, talvez, esta zona de interdifusão não seja essencial no processo de união ao substrato dentinário (CORRER *et al.*, 2003; PRATI *et al.*, 1999; INAI *et al.*, 1998; GWINNETT, 1994; VARGAS *et al.*, 1997; KALLA & GARCIA GODOY, 1998), e que se pode conseguir outra forma de união através da penetração do agente de união nos espaços previamente ocupados pelas fibrilas colágenas que foram removidas da superfície da dentina pelo hipoclorito de sódio.

Perdigão et al., 1999 verificaram que a desproteinização do substrato dentinário com NaOCl a 5% por 120 segundos, previamente condicionado, removeu colágeno exposto tanto na dentina superficial quanto na dentina profunda. Esta superfície sem colágeno apresentou um labirinto de túbulos laterais secundários e anastomoses, principalmente na região inter e peritubular da superfície dentinária. Os autores concluíram que a desproteinização promoveu uma dentina com ultramorfologia complexa de transição quando comparada com a dentina condicionada e a dentina intacta. Este labirinto de túbulos secundários pode ser responsável pelos valores de união obtidos com sistemas de união atuais para o condicionamento total.

No presente trabalho foram utilizadas diferentes concentrações e tempos de aplicação da solução de hipoclorito de sódio, para a avaliação da efetividade das

soluções na remoção das fibras colágenas da superfície dentinária decídua desmineralizada. A alteração da superfície dentinária condicionada foi progressivamente alterada de acordo com a concentração e tempo de aplicação da solução sobre os espécimes, quando comparados aos grupos controle G1 e G2, dentina intacta e dentina condicionada, respectivamente.

Os resultados mostraram que o aumento da concentração de NaOCl a 5% para 10%, parece não ser dependente do tempo de aplicação para que a remoção da matriz colágena seja completa.

Sendo este estudo realizado com dentes decíduos, a remoção completa da rede de fibras colágenas pode ser observada com o uso de NaOCl 5% por 2 minutos. Segundo OSÓRIO et al., em 2002, o uso de NaOCl de 5%, em dentes permanentes, por 2 minutos não removeu completamente as fibras colágenas, propiciando a observação de camada híbrida remanescente em algumas regiões. Esta diferença na remoção do colágeno em dentes decíduos e permanentes, na mesma concentração do NaOCl e tempo de aplicação pode ser devido à diferença morfológica e à menor quantidade mineral do dente decíduo do que o permanente influenciando, portanto, em tal remoção.

Pôde-se observar que juntamente com a remoção das fibras colágenas houve uma alteração na estrutura dentinária, como a presença de túbulos secundários nas regiões peri e intertubular. PRATI et al. (1999) e PERDIGÃO et al. (1999) relataram que a superfície desproteinizada apresenta como característica maior quantidade de poros; os túbulos dentinários apresentam-se mais largos e com aspecto de “funil”. BARBOSA el al., em 1994, pesquisaram os efeitos do NaOCl na integridade e permeabilidade dentinária e relataram que o uso de NaOCl resultou em um aumento da permeabilidade, sendo esses resultados decorrentes da remoção da matriz

orgânica do substrato, possibilitando criar espaços e, consequentemente, aumentando a permeabilidade.

As fotomicrografias deste estudo mostraram que houve uma mudança no padrão superficial dentinário tratado com hipoclorito de sódio. A imagem da superfície submetida ao tratamento com hipoclorito de sódio 5% por 30 segundos (Tabela 1, FIG.9) possibilitou visualizar a presença de colágeno superficial, sugerindo apenas uma remoção superficial quando comparada com o grupo controle, o qual após o condicionamento ácido expõe as fibras colágenas da dentina desmineralizada (Tabela 2, FIG. 8). Ao aumentar o tempo de exposição da superfície à solução de hipoclorito de sódio a 5% por 60 segundos (Tabela 1, FIG. 10), verificou-se um padrão de remoção mais intenso em alguns espécimes, porém mais freqüentemente em presença de um padrão similar àquele encontrado pela aplicação da solução durante 30 segundos (Tabela 3), assim como uma alteração na estrutura dentinária quando comparados com a aplicação da solução por 30 segundos. O aumento do tempo de exposição ao agente desproteinizante para 120 segundos demonstrou uma completa remoção das fibras colágenas e houve evidências da presença de porosidades e irregularidades na estrutura dentinária (Tabela 1, FIG. 9).

As amostras desmineralizadas e desproteinizadas com 5% de NaOCl durante os diferentes tempos de aplicação apresentaram maior remoção das fibras à medida em que o tempo de aplicação aumentou (Tabela 1, FIG. 8, 9 e 10). Porém, quando se comparam as superfícies tratadas com NaOCl a 10% por 30 e 60 segundos (Tabela 1, FIG. 11 e 12, respectivamente) com o padrão superficial produzido com o uso de NaOCl 5% pelo mesmo período de tempo, nota-se uma mudança no padrão morfológico dentinário encontrado, visto que o tratamento da

superfície com NaOCl a 10% removeu completamente as fibras colágenas. Entretanto, tanto a aplicação de NaOCl a 5% como NaOCl a 10% pelo mesmo período de 120 segundos houve a completa remoção do colágeno exposto nas superfícies dentinárias, assim como a severa alteração na sua estrutura (Tabela 1, FIG. 10 e 13, respectivamente). Observou-se que o padrão de alteração morfológica produzido pela exposição do substrato dentinário decíduo ao NaOCl a 5% por 120 segundos foi similar àquele determinado pela exposição ao NaOCl a 10% por 30s, 60s e 120s.

7 - Conclusão

Os resultados mostraram que todos os grupos nos quais o NaOCl foi aplicado mostraram alterações significativas na morfologia quando comparados a G1 e G2 (controles). Entretanto, a completa remoção do colágeno foi observada somente com a aplicação de NaOCl a 5% por 120 segundos e com NaOCl a 10% por 30, 60 e 120 segundos.

8 - Referências Bibliográficas

- Araújo, F.B.; Moraes; F.F.; Fossati, A.C.M. A estrutura da dentina do dentre decíduo e sua importancia clínica. *Rev.Bras. Odontol.* v.52, n.3, p.37-43, 1995.
- Barbosa, K.; Safavi, K.E.; Spangberg, S.W. Influence of sodium hypochlorite on the permeability and structure of cervical human dentin. *Int. Endodont J.*, v.27, p.309-312, 1994.
- Baumgartner, J.C.; Coenin, P.R. Efficacy of several concentrations of the hypochlorite root canal irrigation. *Journal of endodontics*, 18, 605-12, 1992.
- Bedran de Castro, A.K.; Hara, A.T.; Pimenta, L.A.F. Influence of collagen removal on shear bond strength of one-bottle adhesive systems in dentin. *J Adhes Dent*, Berlin, v.2, n.4, p.271-277, Winter 2000.
- Caldo-Teixeira, A.S. et al. Influência do tempo de condicionamento ácido e de 2 sistemas de união na espessura da camada híbrida, de dentes decíduos. *Pesqui Odontol Bras*, São Paulo, v.16, Suplemento, p.143, 2002b. Resumo Pa164.
- Christensen, G.J. Clinical factors affecting adhesion. *Oper Dent*, v.5, p.24-32, 1992.
- Cohen, S.; Burns, R.C. *Pathways of the pulp*. v.7. Mosby, St. Louis, USA, 1998.
- Correr, G.M. et al. **Avaliação da resistência da união compósito/dentina ao cisalhamento em dentes decíduos submetidos ao tratamento com hipoclorito de sódio**. Piracicaba, 2003. 157p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.
- Burrow, M.F. et al. A comparison of microtensile bond strengths of several dentin bonding systems to primary and permanent dentin. *Dent Mater*, v.18, n.3, p.239-245, 2002.
- Di Renzo, M.; et al. A photoacoustic FTIRS atudy of the chemical modifications of human dentin surfaces: II deproteination. *Biomater*. , 22 (8): 793-797, Apr, 2001.

- El Kalla, I.H.; Garcia-Godoy, F. Bond strength and interfacial micromorfology of four adhesives systems in primary and permanent molars. *ASDC J. Dent. Child.* v.65, n.3, p.169-176, May/June, 1998.
- Farah, J.W.; Powers, J.M. Dentin bonding agents. *The Dental Advisor*, v.8, n.3, sep., 1991.
- Ferrari, M. et al. Role of hibridization on marginal leakage and bond strength. *Am J Dent*, San Antonio, v.13, n.6, p.329-336, Dec. 2000.
- Frankenberg, R. et al. Dentin Bond Strength and Marginal Adaption after NaOCl Pre-Treatment. *Operative Dentistry*. v.25, n.1, p.40-45, Jan./Fev. 2000.
- Fusayama, T. et al. Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. *J. Dent. Res* v.58, n.4, p. 1364-1370 , Pr. 1979.
- Gonçalves, S.E.P.; Araújo, M.A.M.; Padilha, R.Q. Adesivos multi-uso: avaliação da resistência adesiva à dentina ante o teste de cisalhamento. *Rev. Odontol. Unesp.* v.25, p.113-121, 1996.
- Gordan, V.V. et al. Evulution of acidi primers in microleakage of class 5 composite resin restorations. *Oper Dent.* n.23, p.244-249, 1998.
- Grossman, L.I.; Meiman, B.W. Solution of pulp tissue by chenical agents. *J.A.D.A.* v.28, p.223, Feb. 1941.
- Gwinnett, A.J. Altered contribution to interfacial bond strenght with acid conditioned dentin. *Am.J.Dent.* v.7, n.5, p.243-246. Oct. 1994.
- Gwinnett, A.J. Quantitative contribution of resin infiltration hibridization to dentin bonding. *Am.J. Dent.* v.6, n.1, p.7-9, 1993.
- Hand, R.E.; Smith, M.L.; Harrison, J.W. Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypoclorite. *J. Endodont.* v.4, n.2, p. 60-64, Feb. 1978.
- Inai, N. et al Adhesion between collagen depleted dentin and dentin adhesives. *Am.J.Dent.*, v.11, n.3, p.123-127 , June 1998.
- Komatsu, M.; Finger, W. Dentin bonding agents: correlation of early bond strength with margin gaps. *Dent Mater.* v.2, p.257-262, 1986.
- Koutsi, V. et al. The effect of dentin depth on the permeability and ultrastruture of primary teeth. *Pediatr. Dent.* v.16, n.1, p.29-34,1994.
- Marshall Jr, G.W. et al. *J. Dent.* v.25, p.441, 1997.

- Marshall Jr, G.W. *et al.* Sodium hypochlorite alterations of dentin and dentin collagen. *Surface Science*. v.491, p.444-455, Feb. 2001.
- Moorer, W.R.; Wesselink, P.R. Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. *Int. Endodont. J.* v.15 p.187-196, 1982.
- Munksgaard, E.C. Wet or dry, normal or deproteinized dentin surfaces as substrate for dentin adhesives. *Acta Odontol Scand*, Oslo, v.60, n.1, p.60-64, Jan. 2002.
- Nakabayashi, N. *et al.* Identification of resin-dentin hybrid layer in vital human dentin created in vivo: durable bonding to vital human. *Quintessence Int.* v.23, n.2, p.135-141, Feb. 1992.
- Nakabayashi, N. Resin reinforced dentine due to infiltration of monomers into dentine at the adhesive interfaces. *J. Jpn Dent Mater.* v.1, p.78-81, 1982.
- Nakamura, M.; Nakabayashi, N.; Yasuda, N. Hybrid layer as dentine-bonding mechanism. *J. Esthet Dent.* v.34, p.133-138, 1991.
- Nör, J.E. *et al.* Dentin bonding: SEM comparison of the resin-dentin interface in primary and permanent teeth. *Ped. Dent.* v.19, n.4, p.246-252, 1997.
- Nör, J.E. *et al.* Dentin bonding: SEM comparison of the resin-dentin interface in primary and permanent teeth. *J.Dent.Res.* v.75, n.6, p.1396-1403, June. 1996.
- Olmez, A. *et al.* Comparison of resin-dentin interface in primary teeth and permanent teeth. *J.Clin. Pediatr.Dent.* v.22, n.4, p.292-298, 1998.
- Pashley, D.H. *et al.* Scanning electron microscopy of the substructure of smear layers in human dentine. *Archives of Oral Biology*. n.33, p.265-270, 1988.
- Pashley, D.H. *et al.* Adhesion testing of dentin bonding agents: a review. *Dent Mater*, v.11, n.2, p.117-125, 1995.
- Pashley, D.H.; Carvalho, R.M. Dentine permeability and dentine adhesion. *J. Dent.* v. 25, n.5, p.355-372, 1997.
- Perdigão, J. *et al.* A field emission SEM comparison of four post-fixation drying techniques for human dentin. *J. Biomed. Mater. Res* v.26, p.1111-1120, 1995.
- Perdigão, J. *et al.* Ann Ultra-morphological characterization of collagen depleted etched dentin. *Am.J.Dent.*, San Antonio, 12 (5): 250-255, Oct, 1999.

- Perdigão, J.; Lopes, M. Dentin Bonding – State of the Art 1999. *Compendium* v.20, n.12, p.1151-1162, December. 1999.
- Perdigão, J. et al. Effect of a sodium hypochlorite gel on dentin bonding. *Dent. Mat.* v.16, p.311-323, 2000.
- Phrukannon, S. et al. The influence of the modification of etched bovine dentin on bond strengths. *Dent Mater*, Washington, v.16, n.4, p.255-265, July 2000.
- Pioch, T. et al. Influence of different etching times on hybrid layer formation and tensile bond strength. *Am J Dent*, San Antonio, v.11, n.5, p.202-206, Oct. 1998.
- Piochi,T. et al. Interfacial micromorphology and tensile bond strength of dentine bond systems after NaOCl treatment. *J.Adhes. Dent.*, New Malden, 1 (2): 135-42, March, 1999.
- Prati, C.; Chersoni, S.; Pashley,D.H. Effect of removal of surface collagen fibrils on resin-dentin bonding. *Dental Materials*. v.15, n.5, p.323-331, Sep.1999.
- Reis ,A.; Bozzo,A.; Bocangel, J.S.; Kraul,A.; Matson, E. Influência do colágeno na resistência de união à dentina úmida e seca. *Revista Pós-Grad.* v.7, n.2, p.133-139, Abr./Jun. 2000.
- Reis, A; Carrillo, M.R.O, Loguercio, A.D; Azevedo, C.L.N; Carvalho, R.M; Singer, J.M; Grande R.H.M. Moisture spectrum of demineralized dentin for different solvent based adhesive system. *J. Adhes. Dent*, 2003; 5: in press.
- Retief, H. Standardizing laboratory adhesion tests Am J Dent v.4, n.5, p.231-236, Oct. 1991.
- Sano, H.; Shono, T.; Hosoda, H. Microporous dentin zone beneath resin-impregnated layer. *Oper Dent*. v.19, p.59-64, 1994.
- Saboia, V.; Pimenta, L.A.F. Effect of collagen removal on shear bond strength of two single-bottle adhesive systems. *Oper Dent*. v. 25, p.395-400, 2000.
- Tanaka, J.; Nakai, H. Application of root canal cleaning agents having dissolving abilities of collagen to the surface treatment for enhanced bonding of resin to dentin. *Dent Master J*. v. 12, p.196-208, 1993.
- Tay, F.R. et al. Bonding of a self-etching primer to non-carious cervical sclerotic dentin: interfacial ultrastructure and microtensile bond strength evaluation. *J Adhesive Dent* v.2, n.1, p.9-238, 2000.

- Ten Cate, A.R. Histologia bucal: desenvolvimento , estrutura e função . 2^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988 395p.
- Titley, K.C. *et al.* The effect of various storage methods and media on shear bond strengths of dental composite resin to bovine dentine. *Arch Oral Biol.*v.43, n.11, p.305-8, 1998.
- Toledano, M. *et al.* Effect of acid etching and collagen removal on dentin wettability and roughness. *J. Biomed Mater Res.* v.47, p.198-203, 1999.
- Uno, S.; Finger, W.J. Function of the hybrid zone as a stress-absorbing layer in resin-dentin bonding. *Quintessence Int.* v.26, p.733-738, 1995.
- Van Meerbeek, B.; Vanherle, G.; Braem, M. *et al.* Morphological aspects resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems. *Journal Dentist Restorative.* v.71, n.8, p.1530-1540, August. 1992.
- Vargas, M.A., Cobb, D.S.; Armstrong , S.R. Resin-dentin shear bond strength and interfacial ultrastructure with and without a hibrid layer . *Operative dentistry*, v.22, n.4., p.159-166 , Jul./Aug. 1997.
- Vargas, M.A.; Cobb, D.S.; Armstrong, S.R. Resin-dentin shear bond strength and interfacial ultrastructure with and without a hybrid layer. *Oper Dent.* v.22, p.159-166, 1997.
- Wakabayashi, Y. *et al.* Effect of dissolution of collagen in adhesion to dentin. *Int. J. Prosthod.* v.7, p.302-306, 1994.