

Daniela Chagas Toledo

Uso de hidroxiácidos para desmineralização de esmalte e dentina como protocolo de condicionamento ácido inovador

Brasília
2018

Daniela Chagas Toledo

Uso de hidroxiácidos para desmineralização de esmalte e dentina como protocolo de condicionamento ácido inovador

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, como requisito parcial para a conclusão do curso de Graduação em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Augusto Hilgert

Co-orientadora: Profa. Dra. Cristina de Mattos Pimenta Vidal

Brasília
2018

Dedico este trabalho à minha mãe, mulher guerreira e doce que me ensinou a ser forte e a ter fé. És o meu Sol, sinto o calor da sua felicidade ao me ver chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo agradeço à Deus, meu eterno protetor, obrigada por guiar os meus passos e por me abençoar diariamente com muita sabedoria, paciência e força de vontade para seguir sempre sorrindo.

À minha mãezinha, Solange, minha grande inspiração, por tanto ter apoiado e se orgulhado das minhas escolhas durante toda essa jornada e por, lá de cima, continuar me dando forças para seguir lutando. Mami, minha participação nessa pesquisa devo à você, que tanto influenciou e orientou meu envolvimento na iniciação científica durante a graduação. Sem seus preciosos conselhos, certamente não teria metade da experiência e do conhecimento que adquiri até aqui. Você sempre acreditou mais em mim do que eu mesma e me provou diversas vezes o quanto sou capaz, serei eternamente grata! Espero um dia chegar à excelência de ser a profissional tão dedicada, humana e gentil que você foi. Uma nova fase se inicia agora e à você prometi sempre fazer o meu melhor. Como eu queria compartilhar essa felicidade em vida com você! Obrigada mãe, por ter sido fonte inesgotável de carinho e doação, você é o melhor de mim. Prometo que vou ser motivo de grande orgulho para, no meu coração, sentir você sorrir. Te amo além da vida!

Ao meu pai, Fernando, pelo imenso carinho e cuidado comigo. Agradeço e admiro a incansável preocupação todas as vezes em que precisei ficar até tarde na UnB. Pai, obrigada pelos ensinamentos diários, principalmente por me ensinar a ver o lado bom das coisas e das pessoas. Você é meu exemplo de humildade e carisma. Obrigada por todo o amor e dedicação.

Aos meus irmãos, Guilherme, Felipe, Fernanda e Ana pelo simples fato de existirem e por dividirem as lições da vida

comigo. Cada um de vocês, em suas particularidades, contribuíram na construção da minha melhor versão. Se hoje sou quem sou, foi porque cresci ao lado de vocês. Juntos aprendemos com nossos erros e nos espelhamos nos melhores exemplos. Obrigada por caminharem ao meu lado e contribuírem para a concretização de cada sonho meu. Mesmo com as dificuldades que encontramos no caminho, em momento algum fizeram com que eu me sentisse sozinha. Amo vocês de forma incondicional, são as melhores pessoa do mundo pra mim. Agradeço à Deus por cada momento que passamos juntos!

Aos meus tios, primos e familiares por toda a torcida e infinitos conselhos. Obrigada por se fazerem tão presentes em minha vida, o amor de vocês é luz pra mim.

Ao meu amor, Ferdinando, meu amigo e confidente. Obrigada pela cumplicidade, dedicação, compreensão, mimos e pelos incríveis anos ao meu lado. Você me ensinou a encarar os obstáculos com um simples “você consegue, tenho certeza”. O agradeço, especialmete, por sempre achar um jeito de me fazer sorrir em qualquer situação. Você tem todos os créditos pelos meus sorrisos! Obrigada meu amor, por me fazer crescer e me completar.

Ao Professor Dr. Leandro Hilgert, meu Orientador, por todos os conhecimentos transmitidos de fundamental importância para a minha formação profissional. Eu realmente aprendi muito com você. Obrigada por seu tempo, sua dedicação, sua ética e respeito, por dividir comigo um pouco de sua grande experiência, pela sua paciência em ensinar, orientar e corrigir. Não esquecerei as sábias sugestões e compreensão quando precisei. Como professor foi o expoente máximo, abriu-me horizontes e ensinou-me principalmente a pensar. Agradeço por me deixar fazer parte dessa incrível família da Dentística!

À Professora Dra. Cristina Vidal, minha Co-orientadora, que, com muita paciência e atenção dedicou seu tempo a me orientar. Obrigada por ter confiado em mim, dando-me a oportunidade de desenvolver este trabalho, pelo apoio e conhecimento compartilhado, demonstrados ao longo desse processo.

À professora e amiga Marília Bizinoto, por toda ajuda, por todas as dicas e pelas vezes em que abdicou de outras atividades para poder me ajudar nessa pesquisa. Muito obrigada pelas conversas descontraídas no laboratório e por me amparar com carinho nos momentos que mais precisei. Seu conhecimento, dedicação e amizade jamais serão esquecidos!

Agradeço à Laís, minha dupla nessa pesquisa. Obrigada pela essencial colaboração e ajuda. Seu apoio e disponibilidade foram fundamentais para a concretização desse trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Dentística, Patrícia, Patrick, Larissa, Amanda e Giulia. Obrigada pelos conhecimentos compartilhados nesses últimos semestres mas também pela amizade, carinho, companheirismo e, especialmente, pela força nos momentos difíceis. Foi muito divertido trabalhar em um ambiente com pessoas tão especiais como vocês! Admiro demais cada um!

À minha eterna duplinha, Ana Catarina, me faltam palavras para agradecer os vários momentos especiais compartilhados ao seu lado durante a graduação. Obrigada amiga, por cada detalhe desse nosso caminho, desde as infinitas horas de estudo dos primeiros semestres, às ajudas a cada novo procedimento na clínica até chegar ao tão esperado décimo semestre com os nossos “pode ir esterilizar os materiais amiga, está tudo sob controle por aqui”. Como crescemos! Obrigada por toda a

paciência e compreensão durante esses anos e por nunca ter desistido de mim. Te levo pra vida Cat, sempre em meu coração.

À Cristiane, uma das melhores pessoas que tive o prazer de conhecer na UnB. É sem dúvidas, a mais batalhadoras que conheço. Com você, aprendi a otimizar o meu tempo e descobri que é possível conciliar as várias tarefas da vida, é só ter disciplina e querer. Amiga, obrigada por me acolher na sua casa como parte da sua família. Sua amizade significa o mundo pra mim!

À Mayla, amiga tão querida que tive a sorte de conhecer e conviver melhor nesses últimos semestres. Apesar de sermos da mesma turma, foi nossa jornada na Dentística que nos aproximou, como não amar essa disciplina? Amiga, obrigada por tanto me ajudar em tudo desde os tempos de monitoria. Você se tornou uma companheira muito especial. Te admiro por sua inteligência e caráter. Obrigada pela paciência e principalmente, por me ensinar a enfrentar os meus medos e a enxergar possibilidades. Devo muitas conquistas à você! Que possamos dividir muitas experiências e comemorar muitas vitórias juntas.

Aos melhores amigos que esse curso me deu: Luana, Juliana, Mariana, Alessandra, Tiago, Fernando, Guilherme e a toda turma 67. Obrigada pelos 5 anos de sorrisos e amizade. Vocês fizeram toda a diferença, é incrível poder dividir esse sonho com vocês. Compartilho com vocês esta conquista, com a mais profunda gratidão.

Aos professores, em especial, Lucas Tabata, Aline Úrsula, An Tien Li, Ana Paula Ribeiro, Jacy Carvalho, Soraya Leal e Maria do Carmo. Obrigada por influenciarem diretamente na formação do meu caráter profissional. Agradeço por todas as oportunidades, ajuda e carinho. Das mais variadas formas,

dedicaram-se a transmitir uma das maiores virtudes que se pode ter: o conhecimento. Suas atitudes, ensinamentos, exemplos e incentivos colaboraram para que eu fosse além dos meus limites e medos. Hoje sei que os melhores mestres não foram os que me ensinaram as respostas, mas, sim, aqueles que me ensinaram a questionar, a duvidar, a pensar e a sonhar.

Aos amigos de longa data, pelos conselhos e carinho demonstrado durante a vida. Com certeza, a caminhada se torna mais leve por existirem pessoas como vocês.

Aos técnicos dos laboratórios de Engenharia e Histopatologia Oral, Lídia, Jackson, Adrian e Miguel, obrigada pela disponibilidade, paciência e por toda ajuda a cada teste. Vocês foram essenciais no desenvolvimento dessa pesquisa.

Aos funcionários da UnB, HuB e Sesc, por serem sempre tão atenciosos, pacientes e solícitos comigo. Obrigada pelo carinho.

Aos Pacientes que tive a honra de atender durante a graduação, por sua disposição, seu tempo despendido, compartilhando vivências e contribuindo com meu aprendizado e evolução como ser humano. Impossível esquecer-los.

E por fim, à Universidade de Brasília e à Faculdade de Ciências da Saúde, por me oportunizar um aperfeiçoamento gratuito e de excelência. À esta instituição, deixo minha gratidão pelo caloroso acolhimento e por ter me proporcionado dias de aprendizagem muito ricos.

EPIGRAFE

“Eis o meu segredo: só se vê bem com o coração. O essencial é invisível aos olhos. Os homens esqueceram essa verdade, mas tu não a deves esquecer. Tu te tornas eternamente responsável por aquilo que cativas.”

Antoine de Saint-Exupéry

RESUMO

TOLEDO, DC. Uso de hidroxíácidos para desmineralização de esmalte e dentina como protocolo de condicionamento ácido inovador. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Departamento de Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Este estudo investigou alterações superficiais promovidas pelo condicionamento com diferentes hidroxíácidos em esmalte e dentina. Para isso, 35 blocos de esmalte obtidos de incisivos bovinos e 35 de dentina obtidos de terceiros molares humanos foram embutidos em resina acrílica e planificados. Metade da superfície de cada amostra foi protegida (área mineralizada) e a outra condicionada (área desmineralizada) por 30s em esmalte e 15s em dentina com solução ácida a 37% dos ácidos glicólico, tartárico, gluconolactona, glucônico ou fosfórico (controle). A diferença na dureza das áreas mineralizada e desmineralizada foi mensurada em microdurômetro. A diferença de rugosidade (ΔRa) entre as superfícies mineralizada e desmineralizada e a profundidade de desmineralização foram avaliadas em microscópio confocal de varredura a laser. Os dados foram analisados pelo teste ANOVA de um fator e post-hoc de Tukey ($\alpha=0,05$). Foi observado que em esmalte, a redução de microdureza promovida pelo ácido glicólico foi superior aos ácidos fosfórico, glucônico e gluconolactona. Em dentina não houve diferença significativa entre a redução de microdureza dos diferentes ácidos. Em esmalte, não houve diferença significativa entre o ΔRa dos diferentes grupos. Em dentina, a ΔRa promovida pelo ácido fosfórico foi superior ao tartárico, glucônico e gluconolactona. Em ambos esmalte e dentina o ácido fosfórico promoveu maior profundidade de desmineralização. Entre os

hidroxiácidos, o glicólico apresentou maior redução de microdureza em esmalte e maior ΔRa em dentina, associado a baixa profundidade de desmineralização. Assim, pode-se concluir que os hidroxiácidos apresentam potencial redução de dureza e aumento de rugosidade superficial de esmalte e dentina e o fazem com menor profundidade de desmineralização do que o ácido fosfórico.

ABSTRACT

TOLEDO, DC. Use of hydroxy acids for enamel and dentin demineralization as an innovative acid conditioning protocol. 2018. Undergraduate Course Final Monograph (Undergraduate Course in Dentistry) – Department of Dentistry, School of Health Sciences, University of Brasília.

This study investigated superficial changes promoted by conditioning enamel and dentin with different hydroxy acids. For this, 35 blocks of enamel obtained from bovine incisors and 35 blocks of dentin obtained from human molars were embedded in acrylic resin and had its surface flattened. Half of the surface of each sample was protected (mineralized area) and the other conditioned (demineralized area) 30s for enamel and 15s for dentin with an acidic solution at 37% of glycolic, tartaric, gluconolactone, gluconic or phosphoric acids (control). The difference between the microhardness of the mineralized and demineralized areas were measured in a microdurometer. The difference of roughness (ΔRa) between the mineralized and demineralized surfaces and the depth of demineralization were evaluated by a confocal laser scanning microscope. The data were analyzed using ANOVA and Tukey post hoc ($\alpha = 0.05$). It was observed that in enamel, microhardness reduction promoted by glycolic acid was superior to phosphoric, gluconic and gluconolactone acids. In dentin there was no significant difference between the reduction of microhardness of the different acids. In enamel, there was no significant difference between the ΔRa of different groups. In dentin, ΔRa promoted by phosphoric acid was superior to tartaric, gluconic and gluconolactone. In both substrates phosphoric acid promoted a greater depth of demineralization. Among the hydroxy acids, the glycolic acid showed a greater reduction of microhardness in enamel and

higher ΔRa in dentin, associated with low demineralization depth. Thus, it can be concluded that the hydroxyacids present a potential reduction of hardness and increase of surface roughness of enamel and dentin and they do it with a lower depth of demineralization than the phosphoric acid.

SUMÁRIO

Artigo Científico.....	21
Folha de Título.....	23
Resumo	25
Abstract.....	27
Introdução.....	29
Metodologia	31
Resultados.....	40
Discussão	49
Conclusão.....	54
Referências.....	55
Anexos.....	60
Normas da Revista	60

ARTIGO CIENTÍFICO

Este trabalho de Conclusão de Curso é baseado no artigo científico:

TOLEDO, DC; ALMEIDA, LM; DUARTE, MBS; VIDAL, CMP; HILGERT,LA. Uso de hidroxiácidos para desmineralização de esmalte e dentina como protocolo de condicionamento ácido inovador. Apresentado sob as normas de publicação da Revista *Brazilian Oral Research*.

FOLHA DE TÍTULO

Uso de hidroxiácidos para desmineralização de esmalte e dentina como protocolo de condicionamento ácido inovador

Use of hydroxy acids for enamel and dentin demineralization as an innovative acid conditioning protocol.

Daniela Chagas Toledo¹

Laís da Mata Almeida¹

Marília Bizinoto Silva Duarte²

Cristina de Mattos Pimenta Vidal³

Leandro Augusto Hilgert⁴

¹ Aluna de Graduação em Odontologia da Universidade de Brasília (UnB).

² Professora Substituta de Dentística da Universidade de Brasília (UnB).

³ Professora Assistente de Dentística da Universidade de Iowa, Iowa City, IA, EUA

⁴ Professor Adjunto de Dentística da Universidade de Brasília (UnB).

Correspondência: Prof. Dr. Leandro Augusto Hilgert
Campus Universitário Darcy Ribeiro - UnB - Faculdade de Ciências da Saúde - Departamento de Odontologia - 70910-900 - Asa Norte - Brasília - DF
E-MAIL: LEANDROHILGERT@GMAIL.COM / TELEFONE: (61) 981618353

RESUMO

Uso de hidroxiácidos para desmineralização de esmalte e dentina como protocolo de condicionamento ácido inovador

Resumo

Este estudo investigou alterações superficiais promovidas pelo condicionamento com diferentes hidroxiácidos em esmalte e dentina. Para isso, 35 blocos de esmalte obtidos de incisivos bovinos e 35 de dentina obtidos de terceiros molares humanos foram embutidos em resina acrílica e planificados. Metade da superfície de cada amostra foi protegida (área mineralizada) e a outra condicionada (área desmineralizada) por 30s em esmalte e 15s em dentina com solução ácida a 37% dos ácidos glicólico, tartárico, gluconolactona, glucônico ou fosfórico (controle). A diferença na dureza das áreas mineralizada e desmineralizada foi mensurada em microdurômetro. A diferença de rugosidade (ΔRa) entre as superfícies mineralizada e desmineralizada e a profundidade de desmineralização foram avaliadas em microscópio confocal de varredura a laser. Os dados foram analisados pelo teste ANOVA de um fator e post-hoc de Tukey ($\alpha=0,05$). Foi observado que em esmalte, a redução de microdureza promovida pelo ácido glicólico foi superior aos ácidos fosfórico, glucônico e gluconolactona. Em dentina não houve diferença significativa entre a redução de microdureza dos diferentes ácidos. Em esmalte, não houve diferença significativa entre o ΔRa dos diferentes grupos. Em dentina, a ΔRa promovida pelo ácido fosfórico foi superior ao tartárico, glucônico e gluconolactona. Em ambos esmalte e dentina o ácido fosfórico promoveu maior profundidade de desmineralização. Entre os hidroxiácidos, o glicólico apresentou maior redução de microdureza em esmalte e maior ΔRa em dentina, associado a baixa profundidade de desmineralização. Assim, pode-se concluir

que os hidroxiácidos apresentam potencial redução de dureza e aumento de rugosidade superficial de esmalte e dentina e o fazem com menor profundidade de desmineralização do que o ácido fosfórico.

Palavras-chave

Esmalte dentário; dentina; condicionamento ácido; hidroxiácidos; microdureza; rugosidade superficial.

ABSTRACT

Use of hydroxy acids for enamel and dentin demineralization as an innovative acid conditioning protocol

Abstract

This study investigated superficial changes promoted by conditioning enamel and dentin with different hydroxy acids. For this, 35 blocks of enamel obtained from bovine incisors and 35 blocks of dentin obtained from third human molars were embedded in acrylic resin and had its surface flattened. Half of the surface of each sample was protected (mineralized area) and the other conditioned (demineralized area) 30s for enamel and 15s for dentin with an acidic solution at 37% of glycolic, tartaric, gluconolactone, gluconic or phosphoric acids (control). The difference between the microhardness of the mineralized and demineralized areas was measured in a microdurometer. The difference of roughness (ΔRa) between the mineralized and demineralized surfaces and the depth of demineralization were evaluated by a confocal laser scanning microscope. The data were analyzed using ANOVA and Tukey post hoc ($\alpha = 0.05$). It was observed that in enamel, microhardness reduction promoted by glycolic acid was superior to phosphoric, gluconic and gluconolactone acids. In dentin there was no significant difference between the reduction of microhardness of the different acids. In enamel, there was no significant difference between the ΔRa of different groups. In dentin, ΔRa promoted by phosphoric acid was superior to tartaric, gluconic and gluconolactone. In both substrates phosphoric acid promoted a greater depth of demineralization. Among the hydroxy acids, the glycolic acid showed a greater reduction of microhardness in enamel and higher ΔRa in dentin, associated with low demineralization depth. Thus, it can be concluded that the hydroxyacids present a

potential reduction of hardness and increase of surface roughness of enamel and dentin and they do it with a lower depth of demineralization than the phosphoric acid.

Keywords

Dental enamel; dentin; acid conditioning; hydroxyacids; microhardness; surface roughness.

INTRODUÇÃO

A Odontologia Adesiva está fundamentada na utilização de materiais restauradores que possam ser aplicados nos tecidos dentais de forma a promover adesão através de retenção micromecânica. Tal mecanismo de adesão depende da criação de microporosidades na superfície a ser tratada, o que é conseguido pelo condicionamento ácido. A desmineralização do tecido dentário foi iniciada após os achados de Buonocore em 1955 (1) e balizou a técnica de hibridização da dentina idealizada por Nakabayashi *et al.* (2) a qual é realizada até os dias atuais.

O aprimoramento dos materiais adesivos para uso odontológico permitiu o alcance de importantes avanços na técnica restauradora, viabilizando procedimentos mais conservadores e estéticos. Porém, independente da técnica adesiva utilizada, estudos *in vivo* (3–5) e *in vitro* (6,7) ainda mostram falhas em restaurações adesivas (8,9).

Ao mesmo tempo, pouco se avançou em relação ao protocolo de condicionamento ácido dos tecidos dentais. Enquanto uma união efetiva e estável é conseguida em esmalte, quando realizado em dentina, o procedimento adesivo é mais complexo em função de sua composição. Nesse tecido, o condicionamento com ácido fosfórico é capaz de remover completamente o conteúdo mineral superficial, tanto de espaços inter quanto intramicrofibrilares, além de expor a malha colágena para subsequente infiltração dos monômeros resinosos (8,10,11). Essa profunda desmineralização resulta em áreas de matriz orgânica dentinária expostas e não infiltradas pelos monômeros resinosos, suscetíveis à futura degradação, atribuída a uma atividade proteolítica endógena de metaloproteinases da matriz (MMPs) e cisteíno-catepsinas (CTs) (4,5,7). Apesar de alguns resultados controversos na literatura em relação aos mecanismos de ativação dessas enzimas, foi levantada a hipótese de que sua ativação ocorreria em pH ácido, e que isso poderia ser causado

pelo condicionamento com ácido fosfórico seguido de aplicação de sistema adesivo (12,13).

Além dos efeitos do ácido fosfórico na atividade de proteases, outros componentes da matriz orgânica também podem ser afetados pelo condicionamento. A remoção de proteoglicanos (PGs) da matriz orgânica dentinária foi reportada quando utilizado ácido fosfórico (14), podendo prejudicar a formação de uma adequada camada híbrida (15,16), uma vez que essas proteínas têm papel importante na manutenção da estrutura do colágeno tipo 1, no controle da quantidade de água na matriz, assim como na atividade de proteases (17,18). O condicionamento com ácido fosfórico também causa alterações na estrutura do colágeno, promovendo sua desnaturação ou desdobramento da alfa-hélice da molécula (19). Além disso, a desmineralização intensa promovida pelo ácido fosfórico resulta em remoção completa de minerais, impedindo uma possível união química de alguns monômeros adesivos ao cálcio da hidroxiapatita. Ainda, cristais de hidroxiapatita localizados ao redor das fibrilas de colágeno (regiões interfibrilares) são removidos, o que pode resultar em alterações nas propriedades mecânicas do tecido (20).

Esta pesquisa investigou o potencial de desmineralização, alterações superficiais e de conteúdo mineral de ácidos orgânicos polifuncionais ou hidróxiácidos como um protocolo inovador para condicionamento ácido dos tecidos dentais. Foram testados os hidróxiácidos glicólico, tartárico, glucônico e gluconolactona, além do ácido fosfórico para comparação. Tais ácidos são encontrados na natureza em plantas, frutas e microorganismos participando de alguns processos metabólicos e alguns deles possuem potencial antioxidante, aumentam a síntese de glicosaminoglicanos, síntese de colágeno e inibição de MMPs (21–23). A hipótese nula testada foi de que os hidróxiácidos não apresentam diferença no potencial de redução de dureza de superfície, aumento de

rugosidade superficial e profundidade de desmineralização quando comparados ao ácido fosfórico, tanto para esmalte quanto para dentina.

METODOLOGIA

Coleta de dentes

Cinquenta terceiros molares humanos permanentes recém-extraídos por razões terapêuticas, sadios, foram coletados a partir de doação pelos pacientes atendidos na clínica do Departamento de Odontologia da Universidade de Brasília após aprovação (nº 2.200.177, 15 de Agosto de 2017) pela Comissão Nacional de Ética e Pesquisa (CONEP) e Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Brasília. Imediatamente após a extração, os dentes foram armazenados em freezer a -20°C por período máximo de 3 meses. Também foram coletados cinquenta incisivos bovinos obtidos em frigorífico e foram armazenados da mesma forma descrita para os dentes humanos.

Preparação dos espécimes

Para a seleção de qualidade dos dentes foram adotados critérios de exclusão como esmalte com trincas e dentina esclerosada. Foram utilizados 12 molares humanos e 12 incisivos bovinos para confecção dos espécimes, como ilustrado na figura 2.

As raízes dos incisivos bovinos foram seccionadas com disco diamantado (Erios, São Paulo, Brasil) e refrigerado à água em velocidade lenta em máquina de corte (Micromet, Rockvill, Estados Unidos). A superfície de esmalte vestibular foi planificada na politriz - lixadeira de velocidade variável (Teclago, São Paulo, Brasil) com lixas d'água de granulação #400 e #600 sob refrigeração com água.

A porção mais oclusal de esmalte e as raízes dos molares humanos foram seccionadas em cortadeira de precisão com disco diamantado sob refrigeração constante com água para se obter discos de dentina de 3 mm de espessura, removendo completamente o esmalte oclusal e com exposição de uma superfície plana de dentina. Tanto as coroas planificadas dos incisivos quanto os discos de dentina foram seccionados para se obter 4 fragmentos iguais (3mm x 5mm x 3mm). Ao final, foram obtidos um total de 96 fragmentos, sendo 48 para cada substrato.

Em seguida, os blocos (fragmentos) de um mesmo dente foram embutidos em resina acrílica (Dencor Clássico, São Paulo, Brasil) para que se obtivessem os espécimes. Cada espécime foi confeccionado com 2cm de espessura e 3cm de diâmetro a partir de um molde de PVC – policloreto de vinila (Tigre, Rio CLARO, Brasil). Para a manipulação dos blocos, utilizou-se luvas de procedimento (Powder free Unigloves, Malásia). Após a polimerização da resina, os espécimes foram polidos em politriz com lixas d'água de granulação decrescente 400, 600, 800, 1200, 2000, 3000, 4000 e 5000. O tempo de polimento utilizado para as lixas de granulação 320, 600 e 800 foi de 5 minutos cada e para as de granulação 1200, 2000, 3000, 4000 e 5000, 10 minutos cada. A velocidade utilizada na máquina foi de 170-187rpm, realizando-se movimentos circulares no sentido anti-horário com pressão constante. Tal procedimento foi realizado por único operador visando à padronização da pressão.

Por fim, os espécimes de resina foram polidos em disco de feltro (Erios, ER-30012-200mm, São Paulo, Brasil) com pastas diamantadas de granulação 6, 3, 1, e 1/4 μ (Erios, ER-20005; 20004; 2003; 2000, respectivamente). A sequência de utilização das pastas diamantadas seguiu ordem decrescente de granulação. O polimento foi dado através de movimentos circulares por 5 minutos em cada pasta. Ao final de cada pasta, os espécimes foram lavados em banho de ultrassom com água

destilada utilizando uma cuba de lavagem ultrassônica (Gnatus, Ribeirão Preto, Brasil) por 10 minutos para remover os resíduos do processo de polimento.

Os espécimes foram nomeados Humanos (H) e Bovinos (B), variando de 1 a 12. Cada espécime foi feito com 4 fragmentos de um mesmo dente. Cada um desses fragmentos teve sua hemisuperfície aleatoriamente condicionada por um ácido diferente. Cada ácido condicionou 7 fragmentos provenientes de diferentes incisivos bovinos e 7 fragmentos provenientes de diferentes molares humanos, garantindo a randomização do estudo. Portanto, 35 fragmentos de cada substrato foram condicionados ($n=7$ por grupo), os 13 fragmentos restantes que ultrapassaram a quantidade proposta foram devidamente descartados.

Para o condicionamento ácido, metade da superfície de cada amostra foi protegida com fita plástica adesiva (Durex® - 3M) (superfície controle), a outra metade exposta foi condicionada de forma passiva, mantendo-se o mesmo volume de solução na superfície, o qual foi estabelecido através da aplicação do ácido com uma pipeta de pasteur. Para evitar o escoamento do ácido e a contaminação dos fragmentos vizinhos, a delimitação da área de aplicação do ácido de cada fragmento foi realizada com a ajuda de uma barreira de Top Dam fotopolimerizável (FGM, Santa Catarina, Brasil). O ataque ácido foi feito por 30 segundos em esmalte e 15 segundos em dentina com solução ácida preparada a 37% de ácido glicólico, tartárico, gluconolactona, glucônico ou fosfórico (grupo controle, usado para comparação). Após o condicionamento, foram lavados em água corrente pelo mesmo tempo e armazenados em ambiente úmido.

Os ácidos utilizados nesse estudo foram manipulados em laboratório à concentração final de 37%. As soluções de estoque (Sigma-Aldrich Chemistry, St. Louis, USA) de ácido fosfórico e glucônico foram obtidas como reagentes líquidos em

concentração inicial de 85% e 53%, respectivamente. As soluções de ácido glicólico, tartárico e gluconolactona foram obtidos como reagentes em pó. Tais reagentes foram manipulados com água destilada nas devidas proporções. Para o cálculo das soluções foram utilizadas as fórmulas descritas na figura 1. O pH de cada solução ácida foi mensurado com um phmetro digital logo após o preparo (Tabela 1).

Reagentes Líquidos	Reagentes em Pó
$C_i \times V_i = C_f \times V_f$ $85\% \times V_i = 37\% \times 10 \text{ ml}$ $V_i = 370 / 85$ $V_i = 4,35 \text{ ml}$	$37\% = 37 \text{ g em } 100 \text{ ml}$ $37 \text{ g} - 100 \text{ ml}$ $X \text{ g} - 10 \text{ ml}$ $X = 370/100$ $X = 3,7 \text{ g}$
Misturar 4,35 ml de ácido fosfórico 85% (estoque) + 5,65 ml de água destilada.	Misturar 3,7 g de pó do ácido e adicionar água destilada. Completar com mais água destilada até obter 10 ml de solução.

Figura 1. Fórmula para preparo das soluções ácidas.

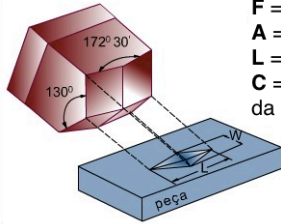
Tabela 1. Valores do pH das soluções ácidas mensurados em phmetro.

Ácidos	pH
Fosfórico	-0,25
Glicólico	1,13
Tartárico	0,63
Gluconolactona	0,64
Glucônico	1,38

Avaliação da microdureza superficial e do efeito desmineralizador

A avaliação das alterações nas propriedades mecânicas provocadas na superfície condicionada foi feita em microdurômetro FUTURE-TECH FM-700 Dual (Kanagawa, Japão) para avaliar a dureza da superfície a ser testada. Tal dureza é obtida através dos cálculos apresentados na figura 1. Essa propriedade avalia a capacidade do material quanto a sua resistência à deformações plásticas. A microdureza das áreas mineralizada e desmineralizada foi obtida pela média de 3 endentações em cada superfície condicionada e não condicionada utilizando-se dureza Knoop com uma carga de 25 g por 15 s em esmalte e dureza Vickers com 200 g por 20 s em dentina (25, 26). A diferença entre a microdureza das superfícies mineralizada e desmineralizada foi calculada em porcentagem de redução e avaliada estatisticamente pelos testes de normalidade de Kolmogorov-Smirnov, ANOVA de um fator e post-hoc” de Tukey ($\alpha=0,05$). Toda a análise estatística foi realizada utilizando-se o software StatPlus v5 (AnalystSoft Inc., Walnut, CA, EUA).

Dureza Knoop



$$HK = \frac{F}{A} = \frac{F}{CL^2}$$

F = é a carga aplicada em kgf

A = é a projeção da área não recuperada da endentação em mm^2

L = é o comprimento medido da diagonal maior da endentação em mm

$C = 0.07028$ = é a constante do endentador, relacionando a área projetada da endentação ao quadrado do comprimento da diagonal maior

Exemplo de medida:

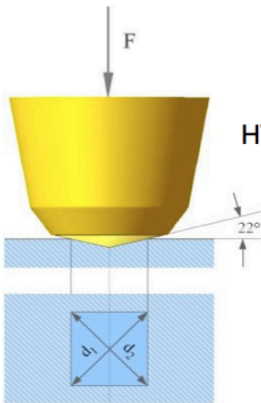
105.3 HK 25/15

Valor da dureza;

Valor da força;

Duração da aplicação da força.

Dureza Vickers



$$HV = \frac{F}{A} \quad \rightarrow \quad A = \frac{d^2}{2 \sin \left[\frac{136^\circ}{2} \right]}$$

$$HV = \frac{F \times 2 \sin 68^\circ}{d^2} \quad \rightarrow \quad HV = \frac{1,8544 \times F}{d^2}$$

F = carga em kgf

d = média entre as duas diagonais, d_1 e d_2 em mm

HV = dureza Vickers

Exemplo de medida:

53.3 HV 200/20

Valor da dureza;

Valor da força;

Duração da aplicação da força.

Imagens retiradas do site: www.cimm.com.br

Figura 2. Fórmulas para os cálculos da microdureza Knoop e Vickers.

Avaliação da rugosidade de superfície e da profundidade de desmineralização

Para análise da rugosidade, os 12 espécimes de ambos os substratos tiveram suas superfícies avaliadas em um microscópio confocal de escaneamento a laser Olympus LEXT OLS 4000 (Nova York, EUA) para se obter imagens em 3D da topografia de superfície. A varredura à laser da superfície permitiu a determinação dos parâmetros de rugosidade Ra (ISO 4287). Para isso, foi utilizado o valor de rugosidade média (Ra) medido em micrometros (μm). Esse é o parâmetro de avaliação da rugosidade mais utilizado. Matematicamente, o Ra é a média aritmética dos valores absolutos das ordenadas de afastamento (y_i), dos pontos do perfil de rugosidade em relação à linha média, dentro do percurso de medição (l_m). No contexto desse estudo, o valor de Ra se refere às irregularidades presentes na textura superficial dos substratos e o objetivo dessa análise foi comparar o Ra inicial, referente à superfície não condicionada, ao Ra final, referente à superfície condicionada, e analisar a diferença de rugosidade entre eles. A diferença de rugosidade (ΔRa) foi calculada para cada espécime e os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA de um fator e Tukey ($\alpha=0,05$).

Além da rugosidade das superfícies desmineralizadas e mineralizadas, com o uso do microscópio confocal de escaneamento a laser foi mensurada a profundidade de desmineralização promovida, pela diferença na altura de superfícies entre regiões mineralizadas e desmineralizadas contíguas. Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA de um fator e Tukey ($\alpha=0,05$).

As figuras 3 e 4 apresentam de forma esquemática a metodologia do trabalho.

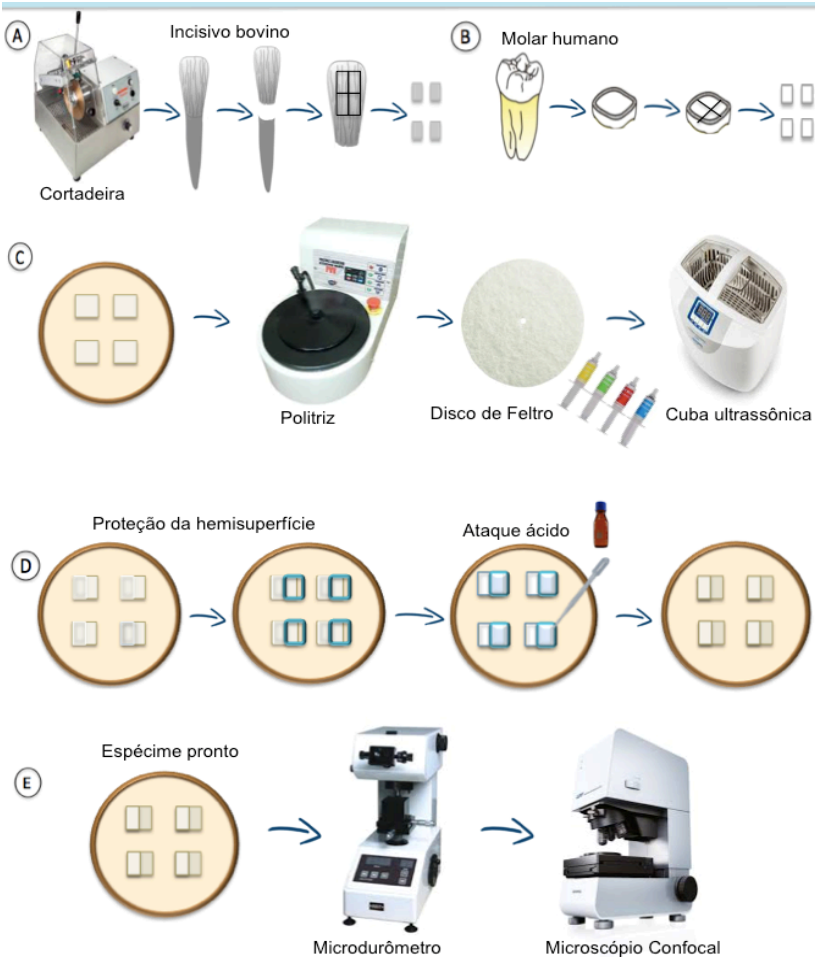


Figura 3. Sequência do preparo dos incisivos bovinos e molares humanos. A: o incisivo bovino foi planificado na face vestibular e sua raiz foi seccionada. A área planificada foi segmentada em 4 fragmentos de 3mm x 5mm x 3mm. B: a coroa do molar foi seccionada para obtenção de um disco de dentina de 3mm de espessura. O disco foi segmentado em 4 fragmentos como em esmalte. C: fragmentos embutidos em resina acrílica no tubo de PVC e então polidos e lavados. D: hemisuperfícies protegidas e condicionadas. E: análise em microdurômetro e microscópio confocal.

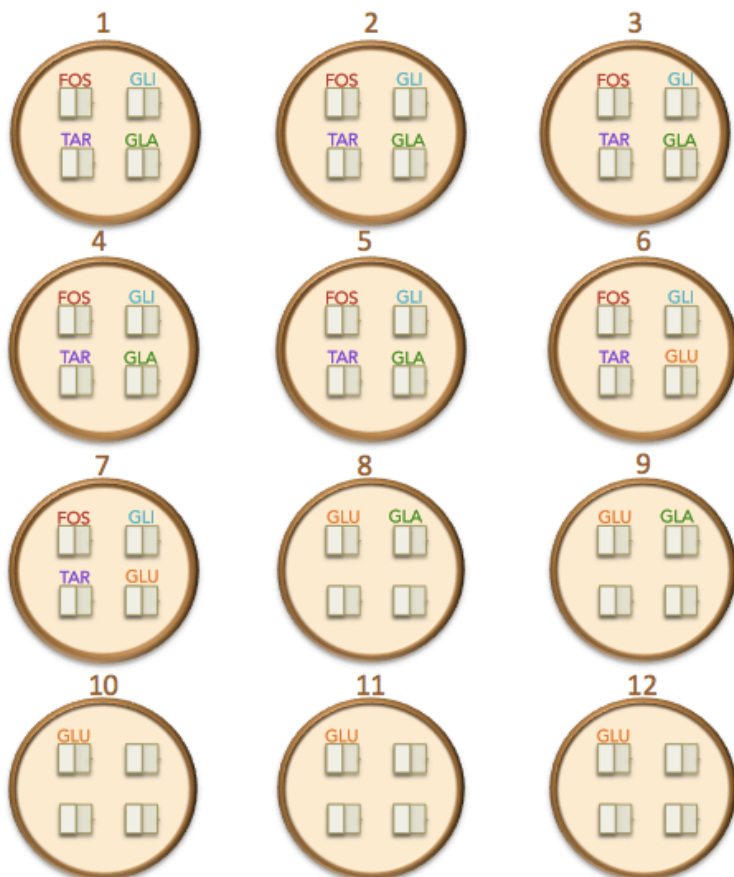


Figura 4. Ilustração da randomização do condicionamento dos fragmentos com os diferentes ácidos testados. FOS: ác. Fosfórico, GLI: ác. Glicólico, TAR: ác. Tartárico, GLA: Gluconolactona, GLU: ác. Glucônico.

RESULTADOS

Análise do efeito desmineralizador

Para análise do efeito desmineralizador, os resultados das médias de microdureza das superfícies condicionadas e não condicionadas assim como a porcentagem de redução nessa propriedade promovida pelas soluções ácidas em esmalte e dentina estão apresentados nas Tabelas 2 e 3. A dureza de cada ponto selecionado de um material é dada pela avaliação da capacidade de um material penetrar o outro (o chamado de ensaio de penetração para a medição da dureza). No caso, foi avaliada a capacidade da ponta de diamante penetrar nos substratos mineralizados e desmineralizados. Portanto, quanto menor a endentação que o diamante fizer, mais duro é o material. O condicionamento do esmalte resultou em diferenças significativas na microdureza entre os diferentes ácidos ($p = 0.0018$), porém não foram observadas diferenças para dentina ($p = 0.9347$). Em esmalte, o ácido glicólico apresentou um maior efeito desmineralizador, sendo similar ao ácido tartárico. A desmineralização do esmalte foi menor para os ácidos fosfórico, glucônico e gluconolactona. Para a avaliação do pH, foram constatados os seguintes valores: ácido fosfórico $pH=0,25$; glicólico $pH=1,13$; tartárico $pH=0,63$; gluconolactona $pH=0,64$ e glucônico $pH=1,38$.

Tabela 2. Média (desvio padrão) da microdureza Knoop do esmalte mineralizado e desmineralizado com diferentes ácidos e diferença nos valores (Δ Dureza) entre as duas superfícies, dados em μm .

Ácido	Mineralizado	Desmineralizado	Δ Dureza %
Ácido fosfórico	238,52 (22,18)	156,14 (17,54)	82,38 (7,63) ^{ab}
Ácido glicólico	267,33 (34,12)	130,18 (20,59)	137,15 (30,81) ^c
Ácido tartárico	282,65 (26,58)	163,93 (22,23)	118,72 (16,26) ^{bc}
Gluconolactona	277,05 (26,94)	211,96 (25,99)	65,09 (27,92) ^a
Ácido glucônico	280,99 (20,08)	206,20 (51,68)	74,79 (32,52) ^{ab}

Valores de Δ Dureza seguidos por letras similares não apresentam diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

Tabela 3. Média (desvio padrão) da microdureza Vickers da dentina mineralizada e desmineralizada com diferentes ácidos e diferença nos valores (Δ Dureza) entre as duas superfícies, dados em μm .

Ácido	Mineralizada	Desmineralizada	Δ Dureza %
Ácido fosfórico	134,78 (27,56)	66,31 (6,56)	68,46 (29,37) ^a
Ácido glicólico	129,65 (55,26)	67,43 (2,41)	62,23 (55,51) ^a
Ácido tartárico	126,71 (49,26)	66,12 (7,12)	60,57 (44,45) ^a
Gluconolactona	131,09 (75,55)	67,51 (5,10)	63,58 (71,10) ^a
Ácido glucônico	130,42 (77,32)	68,24 (7,35)	62,18 (79,33) ^a

Valores de Δ Dureza seguidos por letras similares não apresentam diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

Análise da rugosidade

Na análise da rugosidade, os valores de Ra foram calculados nas superfícies mineralizadas (área protegida) e nas superfícies desmineralizadas (área condicionada) e foi calculada a diferença entre elas (ΔRa) através de uma análise descritiva (Tabela 4 e 5).

Para a rugosidade, as maiores alterações entre as superfícies mineralizadas e desmineralizadas foram observadas para o ácido fosfórico e glicólico em dentina. Apenas o ácido fosfórico apresentou maior aumento de rugosidade que os ácidos tartárico, glucônico e gluconolactona.

Em esmalte, todos os ácidos testados apresentaram rugosidade de superfície não diferente a do ácido fosfórico.

Tabela 4. Média (desvio padrão) da rugosidade (Ra, em μm) do esmalte mineralizado e desmineralizado com diferentes ácidos e variação de rugosidade (ΔRa , em μm) entre as duas superfícies.

Ácido	Esmalte Mineralizado	Esmalte Desmineralizado	ΔRa
Ácido fosfórico	0,05 (0,02)	0,16 (0,10)	0,12 (0,11) ^a
Ácido glicólico	0,03 (0,02)	0,17 (0,03)	0,14 (0,03) ^a
Ácido tartárico	0,05 (0,03)	0,16 (0,02)	0,11 (0,05) ^a
Gluconolactona	0,04 (0,03)	0,14 (0,02)	0,09 (0,03) ^a
Ácido glucônico	0,03 (0,00)	0,10 (0,02)	0,07 (0,02) ^a

Valores de ΔRa seguidos por letras similares não apresentam diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

Tabela 5. Média (desvio padrão) da rugosidade (Ra, em μm) da dentina mineralizada e desmineralizada com diferentes ácidos e variação de rugosidade (ΔRa , em μm) entre as duas superfícies.

Ácido	Dentina Mineralizada	Dentina Desmineralizada	ΔRa
Ácido fosfórico	0,04 (0,01)	0,24 (0,11)	0,20 (0,11) ^b
Ácido glicólico	0,04 (0,01)	0,16 (0,05)	0,12 (0,06) ^{ab}
Ácido tartárico	0,06 (0,03)	0,12 (0,01)	0,06 (0,03) ^a
Gluconolactona	0,06 (0,03)	0,12 (0,03)	0,05 (0,05) ^a
Ácido glucônico	0,05 (0,02)	0,09 (0,02)	0,04 (0,02) ^a

Valores de ΔRa seguidos por letras similares não apresentam diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

A Figura 5 apresenta reconstruções bidimensionais de superfícies representativas de dentina e esmalte obtidas no microscópio confocal de varredura a laser, mostrando diferenças visuais entre áreas mineralizadas e desmineralizadas dos grupos testados.

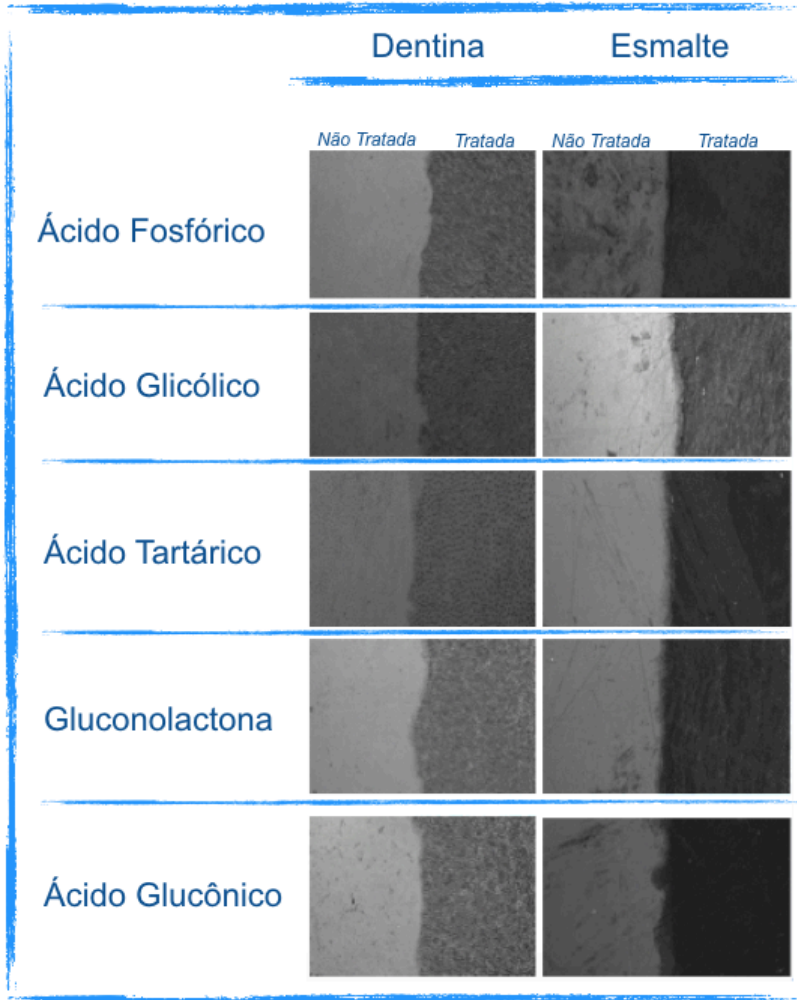


Figura 5. Reconstruções bidimensionais das superfícies de dentina e esmalte (aumento de 20x) na análise da rugosidade.

Análise da profundidade de desmineralização

Os dados de profundidade de desmineralização (Tabela 6), dados em μm , indicam que tanto em esmalte ($p = 0,0002$), quanto em dentina ($p < 0,0001$), a desmineralização foi maior com a utilização do Ácido Fosfórico, com dados respectivamente equivalentes a 11,60 μm e a 3,49 μm .

Os Hidroxiácidos utilizados, como o Ácido Glicólico, Ácido Tartárico, Gluconolactona e Ácido Glucônico, obtiveram dados de profundidade que indicam capacidades semelhantes de desmineralização. Entretanto, quando esses dados são comparados aos do Ácido Fosfórico, a evidência é que uma maior desmineralização foi obtida com esse ácido que com os hidroxiácidos.

Tabela 6. Profundidade de desmineralização (μm) calculada pela diferença de altura entre as superfícies mineralizada e desmineralizada pelos diferentes ácidos em esmalte e dentina e os respectivos valores de pH.

	Esmalte	Dentina	pH
Ácido fosfórico	11,60 (4,70) ^b	3,49 (0,59) ^b	- 0,25
Ácido glicólico	3,00 (0,94) ^a	1,30 (0,19) ^a	1,13
Ácido tartárico	2,50 (0,56) ^a	1,22 (0,14) ^a	0,63
Gluconolactona	1,75 (0,64) ^a	1,05 (0,26) ^a	0,64
Ácido glucônico	1,02 (0,35) ^a	0,87 (0,09) ^a	1,38

Valores de profundidade de desmineralização seguidos por letras similares não apresentam diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

As Figuras 6 e 7 e 8 apresentam imagens representativas da mensuração da profundidade de desmineralização para os diferentes grupos testados.

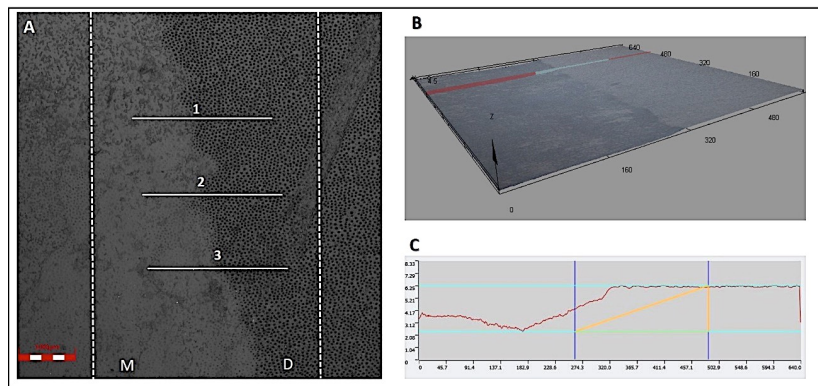


Figura 6. Imagens obtidas em microscopia confocal de escaneamento a laser mostrando as superfícies mineralizada (M) e desmineralizada (D) de um espécime de dentina humana (A). Foram traçadas linhas em cada superfície de cada bloco para determinação da rugosidade superficial (A, linhas tracejadas). A partir da mesma imagem, foram obtidas imagens em 3D para comparação da profundidade de desmineralização (B). A partir de linhas traçadas (C, linhas 1 - 3) nas duas imagens foi possível obter a diferença de altura entre as superfícies condicionadas e não condicionadas (gráfico C).

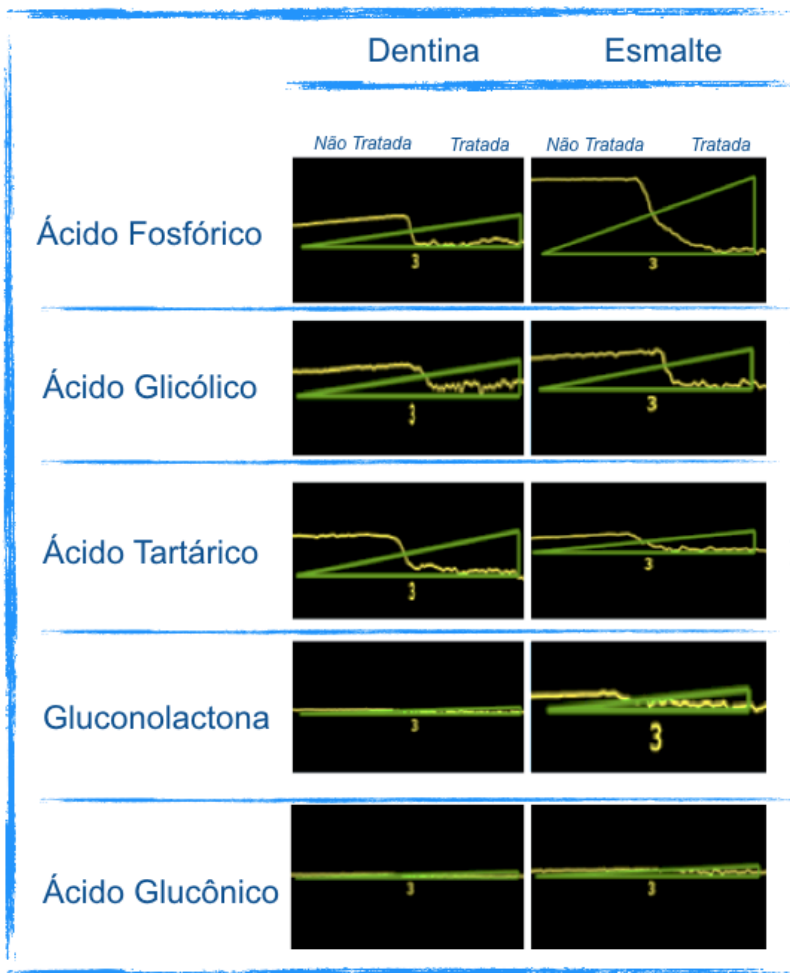


Figura 7. Gráfico ilustrando a profundidade de desmineralização observada entre as interfaces mineralizadas e desmineralizadas de acordo com o tratamento ácido aplicado.

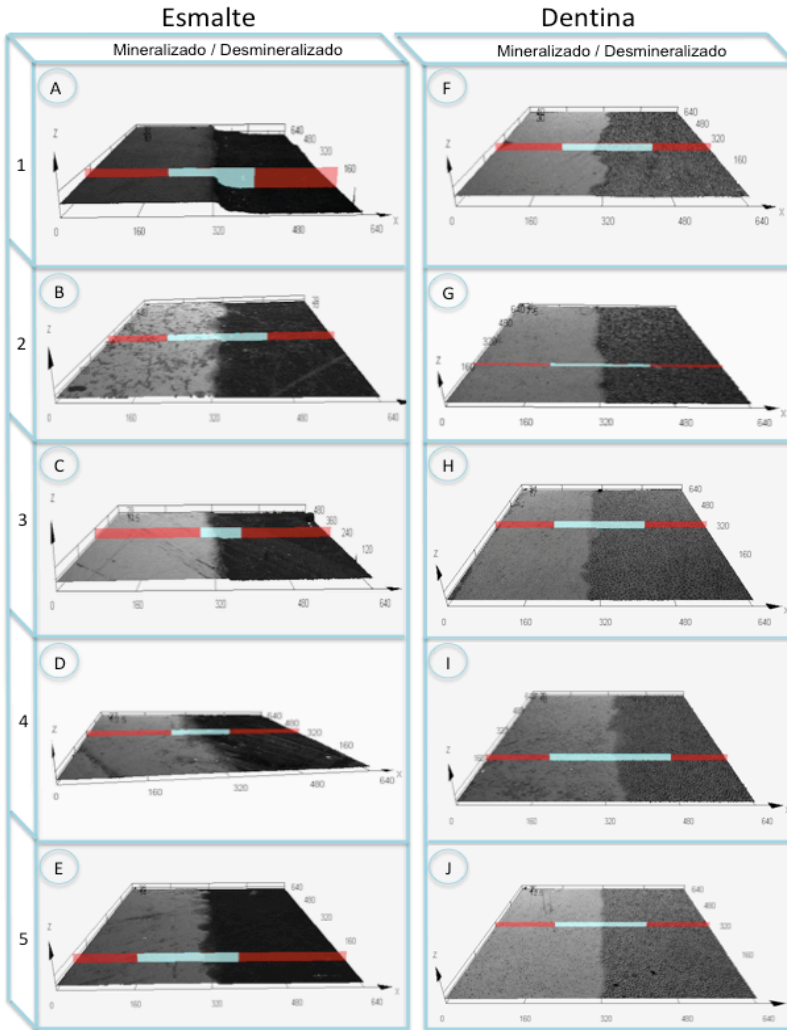


Figura 8. Imagens em 3D da topografia da superfície dos espécimes de esmalte (A, B, C, D, E) e dentina (F, G, H, I, J) ilustrando o desnível presente na interface entre área mineralizada e desmineralizada de acordo com o tratamento ácido aplicado. Os números de 1 a 5 indicam os diferentes ácidos: 1) fosfórico, 2) glicólico, 3) tartárico, 4) gluconolactona, 5) gluconíco.

DISCUSSÃO

O presente estudo utilizou incisivos bovinos para análise em esmalte. Isto, devido ao fácil acesso e a necessidade de específica quantidade de dentes para a pesquisa. Para o estudo em esmalte, a coleta de grande quantidade de incisivos humanos seria de difícil acesso, inviabilizando o número adequado de amostras. Estudos prévios já comprovaram a pouca diferença estrutural e morfológica entre os dentes bovinos e humanos, sendo estes, então, indicados para o uso em experimentos dessa natureza (36).

Esse estudo explorou novas alternativas de soluções ácidas para serem utilizadas no procedimento adesivo a fim de se propor um condicionamento ácido menos agressivo utilizando-se materiais mais biocompatíveis do que o protocolo atual com ácido fosfórico. Os hidroxíácidos são ácidos amplamente utilizados na dermatologia em função de seu potencial em promover biossíntese de glicosaminoglicanos, colágeno, além de melhorar a elasticidade da pele (22). Em função de tais características, tem sido proposto o uso desses ácidos em tecidos dentais.

Neste estudo, foi utilizado o teste de microdureza para avaliar o potencial desmineralizador em função de sua fácil execução e capacidade de se obter alterações superficiais de maneira efetiva. Além disso, tal método é amplamente usado e descrito na literatura. Os protocolos de microdureza utilizados para esmalte e dentina neste estudo foram selecionados com base em relatos prévios (25, 26). Apesar da dureza Vickers ter sido utilizada por 20 e não 10 segundos conforme estudo prévio mencionado (26), não foram reportadas diferenças significativas

para microdureza em esmalte quando testados diferentes tempos de aplicação com uma mesma força (27).

A diferença observada no potencial desmineralizador em esmalte e dentina pode ser atribuída às diferenças na composição mineral desses substratos. Enquanto as médias de porcentagem de redução da microdureza são variáveis de acordo com o ácido utilizado em esmalte, todos os grupos apresentaram valores semelhantes para dentina. Em função do alto conteúdo mineral do esmalte, possivelmente a desmineralização desse substrato é mais significativamente afetada em função do pH e do tipo de ácido utilizado. É interessante observar que os ácidos glucônico e gluconolactona, mesmo com pH mais elevado do que o ácido fosfórico, apresentaram valores de microdureza muito semelhantes ao ácido comumente usado em clínica. O potencial de desmineralização de um ácido não depende apenas de seu pH, mas também de seu pKa, o que determina seu potencial de dissociação ácida, e que pode estar relacionado às diferenças observadas em esmalte.

Além da alta capacidade de remoção de minerais, o baixo pH do ácido fosfórico pode ativar enzimas proteolíticas endógenas presentes na dentina, como MMPs e CCs, e que são responsáveis pela degradação do colágeno exposto na interface adesiva, resultando em menor durabilidade das restaurações (4, 12, 28). Em função do pH mais elevado apresentado por todos os hidroxíácidos testados nesse estudo, pode-se sugerir que o potencial de ativação de proteases pelos mesmos seja menor, o que requer investigações futuras.

Ainda, os resultados obtidos em esmalte indicam que, possivelmente, o uso de hidroxíácidos possa resultar em menor redução de conteúdo mineral, porém com capacidade efetiva de alterar a superfície do esmalte e criar microporosidades suficientes para permitir a infiltração do sistema adesivo.

Esse estudo também avaliou a rugosidade superficial e a profundidade de desmineralização dos substratos para

comparação. A rugosidade (erros microgeométricos) é o conjunto de irregularidades, isto é, pequenas saliências (picos) e reentrâncias (vales) que caracterizam uma superfície. Essa avaliação foi feita por um microscópio confocal com escaneamento a laser, que é um método para se adquirir imagens em 3D da topografia da superfície, o qual é considerado adequado para se obter a caracterização da área condicionada. O confocal foi utilizado como meio de análise de estruturas microanatômicas com alta resolução. Para isso, utiliza-se um método de não contato com um profilômetro ótico para avaliação da rugosidade da superfície. O uso da mesma técnica tem sido descrito em estudos mais recentes na literatura (Hara et al). O primeiro relato do uso do microscópio confocal ocorreu em 1995. (34)

Os resultados mostraram que em esmalte (Tabela 4), todos os ácidos testados foram capazes de promover alteração na rugosidade superficial de forma semelhante, enquanto que para dentina (Tabela 5) os ácidos tartárico, gluconolactona e glucônico apresentaram reduzida rugosidade em comparação ao ácido fosfórico, sendo este um fator positivo para tais hidroxíácidos pois em dentina, não há necessidade de alterações superficiais como há em esmalte. Já a profundidade de desmineralização foi significativamente menor para todos os hidroxíácidos, tanto em esmalte quanto em dentina.

As Tabelas 4 e 5 indicam que os hidroxíácidos, principalmente o ácido glicólico, assim como o fosfórico, são capazes de criar microporosidades na superfície do esmalte e da dentina quando aplicados pelo tempo de condicionamento realizado na clínica. Tais achados podem indicar possível aplicação desses ácidos no procedimento adesivo já que a infiltração dos monômeros resinosos no tecido condicionado por eles provavelmente ocorreria de forma similar ao reportado para o ácido fosfórico. Mesmo com o pH mais alto, todos os hidroxíácidos apresentaram potencial desmineralizador semelhante ao ácido fosfórico em esmalte, indicando que tais

ácidos possuem habilidade de desmineralizar tal substrato com alto conteúdo mineral.

Ainda na Tabela 4, ao analisar os valores de Ra para esmalte, esse estudo mostrou que através do condicionamento com os diferentes ácidos, não foi identificada uma variação significativa de rugosidade na superfície desmineralizada dos incisivos bovinos. Esses dados obtidos sob os mesmos critérios de avaliação sugerem não haver diferença entre o uso clínico dos hidróxiácidos desse trabalho ou do ácido do grupo controle em esmalte.

Não se obteve diferença significativa no valor de rugosidade total das superfícies mineralizadas com o esmalte e com dentina, como já foi demonstrado por Yoshiyama em 1995, embora apresente impacto de rugosidade por se ter médias maiores em dentina, o que vai ao encontro com estudos já realizados que confirmam que a dentina é mais úmida e por isso, tem mais impactos com a presença dos ácidos (30).

Houve diferença estatística significativa entre os diferentes grupos em dentina (Tabela 5). A desmineralização durante as restaurações são necessárias para que se obtenha uma região com aumento de energia de ativação e superfícies irregulares para que possa se realizar a restauração. A alteração na rugosidade em dentina foi maior para o ácido fosfórico (0,20 μm) e para o glicólico (0,12 μm). Essa alteração superficial da dentina pode alterar a capacidade de molhabilidade da superfície dentinária, facilitando a penetração do sistema adesivo (37). Pode também aumentar a área da superfície e pode ser um fator contribuinte para altos valores de resistência (23).

Em um estudo recente, o ácido glicólico foi testado para condicionamento da dentina associado a um sistema adesivo experimental (33). Apesar de ter sido observada uma degradação após 12 meses com significativa redução nos

valores de resistência de união, o uso do ácido glicólico na técnica adesiva mostra resultados promissores. Os achados do presente estudo suportam os de Leme-Kraus et al. (2017), uma vez que o ácido glicólico foi capaz de promover rugosidade similar ao ácido fosfórico. No estudo mencionado, os valores imediatos de resistência de união à dentina obtidos com o condicionamento com ácido glicólico são satisfatórios. Provavelmente, a reduzida estabilidade da interface adesiva com esse ácido está associada ao uso de um sistema adesivo experimental. Novos estudos utilizando-se outras formulações de adesivos disponíveis comercialmente são necessários para indicar esses ácidos na prática clínica com segurança.

Além de diferenças na rugosidade superficial, os hidroxiácidos promoveram desmineralização mais superficial tanto do esmalte quanto da dentina (Tabela 6). A reduzida profundidade de desmineralização também está associada ao pH mais alto de tais ácidos em comparação ao ácido fosfórico.

Como já reportado, a intensa desmineralização da dentina e incompleta infiltração dos monômeros resinosos resulta em áreas da matriz orgânica expostas, facilmente degradadas pela ação de enzimas proteolíticas que contribuem para a falha do procedimento restaurador (4, 8, 31, 32).

De forma geral, os achados desse estudo indicam que os hidroxiácidos são uma alternativa mais conservadora para condicionamento ácido dos tecidos dentais. Apesar de uma caracterização da composição mineral ser importante para que conclusões mais embasadas possam ser feitas, pode-se assumir que a remoção de minerais é menor com os hidroxiácidos. A desmineralização parcial da dentina pode resultar em menores áreas de matriz orgânica expostas às enzimas proteolíticas e ainda pode facilitar a união química dos minerais a monômeros presentes em determinadas formulações de adesivos (20).

Uma vez que, em esmalte e dentina, ao menos algum dos hidroxiácidos apresentou diferenças em relação ao ácido fosfórico, tanto nos testes de dureza, rugosidade, como profundidade de desmineralização, a hipótese nula desse trabalho foi rejeitada.

Mais estudos devem ser realizados, principalmente para avaliar a resistência de união ao esmalte e dentina obtidos através do condicionamento com esses ácidos, para confirmar a aplicação dos hidroxiácidos, em especial do ácido glicólico, em procedimentos adesivos.

CONCLUSÃO

Os hidroxiácidos testados demonstraram diferentes capacidades de condicionamento de esmalte e dentina. Entre os hidroxiácidos, o glicólico apresentou maior redução de microdureza em esmalte e maior ΔRa em dentina, associado a baixa profundidade de desmineralização.

Com isso, surge a possibilidade de promover um adequado condicionamento de esmalte e dentina sem os problemas causados por uma desmineralização excessiva da dentina, a fim de estabelecer um protocolo alternativo mais conservador, que promova menor modificação dos componentes orgânicos da matriz dentinária e que resulte em adesão aos tecidos dentais satisfatória.

REFERÊNCIAS

1. Buonocore MG (1955) A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces *Journal of Dental Research* **34(6)** 849–853.
2. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E (1982) The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates *Journal of Biomedical Materials Research* **16(3)** 265–273.
3. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H (2000) In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years *Journal of Dental Research* **79(6)** 1385–1391.
4. Carrilho MRO, Geraldeli S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjäderhane L, Reis AF, Hebling J, Mazzoni A, Breschi L, Pashley D (2007) In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine *Journal of Dental Research* **86(6)** 529–353.
5. Hebling J, Pashley DH, Tjäderhane L, Tay FR (2005) Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo *Journal of Dental Research* **84(8)** 741–746.
6. Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H (2003) In vitro degradation of resin- dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy *Biomaterials* **24(21)** 3795–3803.
7. Carrilho MRO, Carvalho RM, de Goes MF, di Hipólito V, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH, Tjäderhane L (2007) Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro *Journal of Dental Research* **86(1)** 90–94.
8. Tjäderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol ILS,

Geraldeli S, Tezvergil-Mutluay A, Carrilho M, Carvalho RM, Tay FR, Pashley DH (2013) Strategies to prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer - A review *Dental Materials* 29(10) 999–1011.

9. Anchieta RB, Machado LS, Martini AP, dos Santos PH, Giannini M, Janal M, Tovar N, Sundfeld RH, Rocha EP, Coelho PG (2015) Effect of long-term storage on nanomechanical and morphological properties of dentin-adhesive interfaces *Dental Materials* 31(2) 141–153.
10. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G (2003) Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges *Operative Dentistry* 28(3) 215–235.
11. Takahashi M, Nakajima M, Tagami J, Scheffel DLS, Carvalho RM, Mazzoni A, Cadenaro M, Tezvergil-Mutluay A, Breschi L, Tjäderhane L, Jang SS, Tay FR, Agee KA, Pashley DH (2013) The importance of size-exclusion characteristics of type I collagen in bonding to dentin matrices *Acta Biomaterialia* 9(12) 9522–9528.
12. Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, Breschi L, Mannello F, Tjäderhane L, Toeladno M, Pashley EL, Tay FR (2006) Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives *Biomaterials* 27(25) 4470–4476.
13. Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, Breschi L, Mannello F, Mazzoni A, Carvalho RM, Tjäderhane L, Tay FR, Pashley DH (2006) Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives *European Journal of Oral Science* 114(2) 160–166.
14. Oyarzún A, Rathkamp H, Dreyer E (2000) Immunohistochemical and ultrastructural evaluation of the effects of phosphoric acid etching on dentin proteoglycans *European Journal of Oral*

Science 108(6) 546–554.

15. Mazzone A, Pashley DH, Ruggeri A Jr, Vita F, Falconi M, Di Lenarda R, Breschi L (2008) Adhesion to chondroitinase ABC treated dentin *Journal of Biomedical Materials Research Part B Applied Biomaterials* 86(1) 228–236.
16. Bedran-Russo AKB, Pereira PNR, Duarte WR, Okuyama K, Yamauchi M (2008) Removal of dentin matrix proteoglycans by trypsin digestion and its effect on dentin bonding *Journal of Biomedical Materials Research Part B Applied Biomaterials* 85(1) 261–266.
17. Bertassoni LE, Orgel JPR, Antipova O, Swain MV (2012) The dentin organic matrix - limitations of restorative dentistry hidden on the nanometer scale *Acta Biomaterialia* 8(7) 2419–2433.
18. Bertassoni LE, Swain MV (2014) The contribution of proteoglycans to the mechanical behavior of mineralized tissues *Journal of Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 38 91–104.
19. Eliades G, Palaghias G, Vougiouklakis G (1997) Effect of acidic conditioners on dentin morphology, molecular composition and collagen conformation in situ *Dental Materials* 13(1) 24–33.
20. Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H, Inoue S, Tagawa Y, Suzuki K, De Munck J, Van Meerbeek B (2004) Comparative study on adhesive performance of functional monomers *Journal of Dental Research* 83(6) 454–458.
21. Balooch M, Habelitz S, Kinney JH, Marshall SJ, Marshall GW (2008) Mechanical properties of mineralized collagen fibrils as influenced by demineralization *Journal of Structural Biology* 162(3) 404–410.
22. Green BA, Yu RJ, Van Scott EJ (2009) Clinical and cosmeceutical uses of hydroxyacids *Clinical Dermatology* 27(5) 495–501.

23. Van Scott EJ, Ditre CM, Yu RJ (1996) Alpha-hydroxyacids in the treatment of signs of photoaging *Clinical Dermatology* 14(2) 217–226.
24. Inan S, Oztukcan S, Vatansever S, Ermertcan AT, Zeybek D, Oksal A, Giray G, Muftuoglu S (2006) Histopathological and ultrastructural effects of glycolic acid on rat skin *Acta Histochemica* 108(1) 37–47.
25. Xie Q, Bedran-Russo AK, Wu CD (2008) In vitro remineralization effects of grape seed extract on artificial root caries *Journal of Dentistry* 36(11) 900–906.
26. Nikhil V, Jaiswal S, Bansal P, Arora R, Raj A, Malhotra P (2016) Effect of phytic acid, ethylenediaminetetraacetic acid, and chitosan solutions on microhardness of the human radicular dentin *Journal of Conservative Dentistry* 19(2) 179-183.
27. Chuenarrom C, Benjakul P, Daosodsai P (2009) Effect of indentation load and time on knoop and Vickers microhardness tests for enamel and dentin *Materials Research* 12(4) 473-476.
28. Tersariol IL, Geraldeli S, Minciotti CL, Nascimento FD, Pääkkönen V, Martins MT, Carrilho MR, Pashley DH, Tay FR, Salo T, Tjäderhane L (2010) Cysteine cathepsins in human dentin-pulp complex *Journal of Endodontics* 36(3) 475-481.
29. Leme-Kraus A, Aydin B, Vidal CM, Phansalkar R, Nam JW, McAlpine J, Pauli GF, Chen S, Bedran-Russo AK (2017) Biostability of the proanthocyanidin-dentin complex and adhesion studies *Journal of Dental Research* 96(4) 406-412.
30. Bertassoni LE, Orgel JPR, Antipova O, Swain MV (2012) The dentin organic matrix - limitations of restorative dentistry hidden on the nanometer scale *Acta Biomaterialia* 8(7) 2419–2433.
31. Breschi L, Martin P, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Tjäderhane L, Visintini E, Cadenaro M, Tay FR, DeStefano Dorigo E, Pashley

- DH (2010) Use of a specific MMP-inhibitor (galardin) for preservation of hybrid layer Dental Materials 26(6) 571–578.
32. Tjäderhane L, Mehtälä P, Scaffa P, Vidal C, Pääkkönen V, Breschi L, Hebling J, Tay FR, Nascimento FD, Pashley DH, Carrilho MR (2013) The effect of dimethyl sulfoxide (DMSO) on dentin bonding and nanoleakage of etch-and-rinse adhesives Dental Materials 29(10) 1055–1062.
 33. Leme-Kraus A, Aydin B, Vidal CM, Phansalkar R, Nam JW, McAlpine J, Pauli GF, Chen S, Bedran-Russo AK (2017) Biostability of the proanthocyanidin-dentin complex and adhesion studies Journal of Dental Research 96(4) 406-412.
 35. Rito C, Maceira JP. Microscopia confocal reflectante aplicada ao diagnóstico do melanoma cutâneo. An Bras Dermatol. 2009; 84(6):636-42.
 36. Fonseca RB, Haiter-Neto F, Carlo HL, *et al.* Radiodensity and hardness of enamel and dentin of human and bovine teeth, barying bovine teeth age. Arch Oral Biol. 2008 Nov; 53(11):1023-9.
 37. Toledano, M.,*et al.* Effect of acid etching and collagen removal on dentin wettability and roughness. J.Biomed Mat. Res.,v.47,n.2,p.198-203,Mar.1999.

ANEXOS

NORMAS DA REVISTA

MISSÃO, ESCOPO E POLÍTICA DE SUBMISSÃO

A *Brazilian Oral Research* - BOR (versão online ISSN 1807-3107) é a publicação oficial da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica - SBPqO (Divisão brasileira da *International Association for Dental Research* - IADR). A revista tem classificação B1 Qualis Capes (Odontologia), Fator de Impacto™ 0,937 (Institute for Scientific Information - ISI), é revisada por pares (sistema duplo-cego) e tem como missão disseminar e promover o intercâmbio de informações sobre as diversas áreas da pesquisa odontológica e com acesso aberto, modalidade dourada, sem embargo.

A BOR convida à submissão os seguintes tipos de artigos originais e de revisão, nas seguintes tipologias: Pesquisa Original (artigo completo ou *Short Communication*), Revisão Crítica da Literatura, Revisão Sistemática (e Meta-Análise), além de Cartas ao Editor. Todas as submissões deverão ser exclusivas à BOR.

A submissão dos manuscritos, e de toda documentação relacionada, deve ser realizada exclusivamente pelo ScholarOne Manuscripts™, através do link de submissão online (<http://mc04.manuscriptcentral.com/bor-scielo>).

O processo de avaliação do conteúdo científico do manuscrito será iniciado somente após o atendimento dos requisitos descritos nestas Instruções aos Autores. O manuscrito em desacordo com estes requisitos será devolvido ao autor de correspondência para adequações.

Importante: Após ser aceito por seu mérito científico, todo manuscrito deverá ser submetido a uma revisão gramatical e estilística do idioma inglês. Para conhecer as empresas recomendadas, entre em contato com bor@sbpqo.org.br. Os autores deverão encaminhar o texto revisado juntamente com o certificado de revisão fornecido pela empresa de edição escolhida. Não serão aceitas revisões linguísticas realizadas por empresas que não forneçam o certificado. Exceção a esta regra é feita quando o autor de correspondência é *native English speaker*.

APRESENTAÇÃO DO MANUSCRITO

O texto do manuscrito deverá estar redigido em inglês e fornecido em arquivo digital compatível com o programa "Microsoft Word" (em formato DOC, DOCX ou RTF).

Cada uma das figuras (inclusive as que compõem esquemas/compos) deverá ser fornecida em arquivo individual e separado, conforme as recomendações descritas em tópico específico.

Fotografias, micrografias e radiografias deverão ser fornecidas em formato TIFF, conforme as recomendações descritas em tópico específico.

Gráficos, desenhos, esquemas e demais ilustrações vetoriais deverão ser fornecidos em formato PDF, em arquivo individual e separado, conforme as recomendações descritas em tópico específico.

Arquivos de vídeo poderão ser submetidos, respeitando as demais especificidades, inclusive o anonimato dos autores (para fins de avaliação) e respeito aos direitos dos pacientes.

Importante: o ScholarOne™ permite que o conjunto dos arquivos somem no máximo 10 MB. No caso de a inclusão do arquivo de vídeo acarretar em tamanho superior, é possível informar o link de acesso ao vídeo. Na reprodução de

documentação clínica, o uso de iniciais, nomes e/ou números de registro de pacientes são proibidos. A identificação de pacientes não é permitida. Um termo de consentimento esclarecido, assinado pelo paciente, quanto ao uso de sua imagem deverá ser fornecido pelo(s) autor(es) quando solicitado pela BOR. Ao reproduzir no manuscrito algum material previamente publicado (incluindo textos, gráficos, tabelas, figuras ou quaisquer outros materiais), a legislação cabível de Direitos Autorais deverá ser respeitada e a fonte citada.

As seções do manuscrito devem ser apresentadas observando-se as características específicas de cada tipo de manuscrito: folha de rosto (*Title Page*), introdução, metodologia, resultados, discussão, conclusão, agradecimentos e referências. Folha de rosto (*Title Page*; dados obrigatórios).

- Indicação da especialidade*, ou área de pesquisa, enfocada no manuscrito.

*Anatomia; Biologia Craniofacial; Biologia Pulpar; Bioquímica; Cariologia; Ciências do Comportamento; Cirurgia Bucomaxilo; Controle de Infecção; Dentística; Disfunção Temporomandibular; Estomatologia; Farmacologia; Fisiologia; Imaginologia; Implantodontia - Clínica Cirúrgica; Implantodontia - Clínica Protética; Implantodontia Básica e Biomateriais; Imunologia; Materiais Dentários; Microbiologia; Oclusão; Odontogeriatrics; Odontologia Legal; Odontologia Social; Odontopediatria; Ortodontia; Ortopedia; Patologia Oral; Periodontia; Prótese; Saúde Coletiva; Terapia Endodôntica.

- Título informativo e conciso, limitado a um máximo de 110 caracteres incluindo espaços.
- Nomes completos e por extenso de todos os autores, incluindo os respectivos números de telefone e endereços eletrônicos (email). Recomenda-se aos autores confrontar seus nomes anotados na Folha de Rosto (*Title Page*) com o

perfil criado no ScholarOne™, de modo a evitar incompatibilidades.

- A participação de cada um dos autores deverá ser justificada por escrito em folha separada, observando-se os critérios de autoria e co-autoria adotados pelo *International Committee of Medical Journal Editors*, disponíveis em <http://www.icmje.org/recommendations/browse/roles-and-responsibilities/defining-the-role-of-authors-and-contributors.html>
- Dados de afiliação institucional/profissional de todos os autores, incluindo universidade (ou outra instituição), faculdade/curso, departamento, cidade, estado e país, apresentados de acordo com as normas internas de citação estabelecidas pela instituição de cada um dos autores. Verificar se as afiliações foram inseridas corretamente no ScholarOne™.

Resumo: deve ser apresentado na forma de um parágrafo único estruturado (mas sem sub-divisões em seções), contendo proposição do trabalho, metodologia, resultados e conclusões. No Sistema, utilizar a ferramenta *Special characters* para caracteres especiais, se aplicável.

Descritores: devem ser fornecidos de 3 (três) a 5 (cinco) descritores principais, escolhidos dentre os descritores cadastrados em <http://decs.bvs.br/> ou <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowse.html> (não serão aceitos sinônimos).

TEXTO PRINCIPAL

Introdução: deve apresentar o estado da arte do assunto pesquisado, a relevância do estudo e sua relação com outros trabalhos publicados na mesma linha de pesquisa ou área,

identificando suas limitações e possíveis vieses. O objetivo do estudo deve ser apresentado concisamente ao final dessa seção. Metodologia: devem ser fornecidas todas as características do material pertinente ao assunto da pesquisa (ex.: amostras de tecido, sujeitos da pesquisa). Os métodos experimentais, analíticos e estatísticos devem ser descritos de forma concisa, porém suficientemente detalhada para permitir que outros possam repetir o trabalho. Os dados de fabricantes ou fornecedores de produtos, equipamentos, ou softwares devem ser explicitados na primeira menção feita nesta seção, como segue: nome do fabricante, cidade e país. Os programas de computador e métodos estatísticos também devem ser especificados. A menos que o objetivo do trabalho seja comparar produtos ou sistemas específicos, os nomes comerciais de técnicas, bem como de produtos ou equipamentos científicos ou clínicos só devem ser citados nas seções de "Metodologia" e "Agradecimentos", de acordo com o caso. No restante do manuscrito, inclusive no título, devem ser utilizados os nomes genéricos. Nos manuscritos que envolvam radiografias, microrradiografias ou imagens de MEV, devem ser incluídas as seguintes informações: fonte de radiação, filtros e níveis de kV utilizados. Os manuscritos que relatem estudos em humanos devem incluir comprovação de que a pesquisa foi conduzida eticamente de acordo com a Declaração de Helsinki (*World Medical*

Association, <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/>). O número de protocolo de aprovação emitido por um Comitê Institucional de Ética deve ser citado. Estudos observacionais devem seguir as diretrizes STROBE (<http://strobe-statement.org/>) e o check list deve ser submetido. Ensaios clínicos devem ser relatados de acordo com o protocolo padronizado da *CONSORT Statement*(<http://www.consort-statement.org/>), revisões sistemáticas e meta-análises devem seguir o PRISMA

(<http://www.prisma-statement.org/>), ou Cochrane
(<http://www.cochrane.org/>).

PLÁGIO

A BOR emprega um sistema de detecção de plágio. Ao enviar o seu manuscrito para a Revista, este manuscrito poderá ser rastreado. Isto não tem relação com a simples repetição de nomes / filiações, mas envolve frases ou textos utilizados.

Referências: só serão aceitas como referências as publicações em periódicos revisados por pares. Não serão aceitos como referências manuscritos em processo de redação, dissertações, teses, ou resumos apresentados em congressos. Devem ser evitadas referências a livros.

As citações de referências devem ser identificadas no texto por meio de números arábicos sobrescritos. A lista completa de referências deve vir após a seção de "Agradecimentos", e as referências devem ser numeradas e apresentadas de acordo com o Estilo Vancouver, em conformidade com as diretrizes fornecidas pelo *International Committee of Medical Journal Editors*, conforme apresentadas em *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical*

Journals (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>). Os títulos de periódicos devem ser abreviados de acordo com o *List of Journals Indexed in Index Medicus* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>). A correta apresentação das referências é de responsabilidade exclusiva dos autores.

Grafia de termos científicos: nomes científicos (binômios de nomenclatura microbiológica, zoológica e botânica) devem ser escritos por extenso, bem como os nomes de compostos e elementos químicos, na primeira menção no texto principal.

Unidades de medida: devem ser apresentadas de acordo com o Sistema Internacional de Medidas (<http://www.bipm.org> ou <http://www.inmetro.gov.br/consumidor/unidLegaisMed.asp>).

Notas de rodapé no texto principal: devem ser indicadas por meio de asteriscos e restritas ao mínimo indispensável.

Figuras: fotografias, micrografias e radiografias devem ter uma largura mínima de 10 cm, resolução mínima de 500 dpi, e devem ser fornecidas em formato TIFF. Gráficos, desenhos, esquemas e demais ilustrações vetoriais devem ser fornecidos em formato PDF. Todas as figuras devem ser submetidas, individualmente, em arquivos separados (não inseridas no arquivo de texto). As figuras devem ser numeradas e citadas consecutivamente no corpo do texto, em algarismos arábicos. As legendas das figuras devem ser inseridas todas juntas no final do texto, após as referências.

CARACTERÍSTICAS E FORMATAÇÃO DOS TIPOS DE MANUSCRITOS

PESQUISA ORIGINAL

Devem ser limitados a 30.000 caracteres incluindo espaços (considerando-se introdução, metodologia, resultados, discussão, conclusão, agradecimentos, tabelas, referências e legendas de figuras). Será aceito um máximo de 8 (oito) figuras e 40 (quarenta) referências. O resumo deve conter, no máximo, 250 palavras.

Formatação - Arquivos de Texto

- Folha de rosto (*Title Page*)
- Texto principal (30.000 caracteres incluindo espaços)
- Resumo - máximo de 250 palavras
- Descritores - de 3 (três) a 5 (cinco) descritores principais

- Introdução
- Metodologia
- Resultados
- Discussão
- Conclusão
- Agradecimentos
- Tabelas
- Referências - máximo de 40 referências
- Legendas de figuras
- Formatação - Arquivos de figuras
- Figuras - máximo de 6 (seis) figuras, conforme descrito acima.

TERMO DE TRANSFERÊNCIA DE DIREITOS AUTORAIS E DECLARAÇÕES DE RESPONSABILIDADE

O manuscrito submetido para publicação deve ser acompanhado do Termo de Transferência de Direitos Autorais e Declarações de Responsabilidade, disponível no sistema online e de preenchimento obrigatório.

"CHECKLIST" PARA SUBMISSÃO INICIAL

- Arquivo de folha de rosto (*Title Page*, em formato DOC, DOCX ou RTF).
- Arquivo do texto principal (*Main Document*, manuscrito), em formato DOC, DOCX ou RTF.
- Tabelas, em formato DOC, DOCX ou RTF.
- Declaração de interesses e de financiamento, submetida em um documento separado e em formato PDF. (se aplicável)

- Justificativa para a participação de cada um dos autores, fornecida em um documento separado e em formato PDF.
- Fotografias, micrografias e radiografias (largura mínima de 10 cm e resolução mínima de 500 DPI) em formato TIFF. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/pub/filespec-images/>)
- Gráficos, desenhos, esquemas e demais ilustrações vetoriais em formato PDF.
- Cada uma das figuras deve ser submetida em arquivos separados e individuais (não inseridas no arquivo de texto).

CUSTO PARA PUBLICAÇÃO

Os autores não são submetidos a uma taxa de submissão de artigos e de avaliação.

EXEMPLOS DE REFERÊNCIAS

Periódicos:

Goracci C, Tavares AU, Fabianelli A, Monticelli F, Raffaelli O, Cardoso PC, et al. The adhesion between fiber posts and root canal walls: comparison between microtensile and push-out bond strength measurements. *Eur J Oral Sci.* 2004 Aug;112(4):353-61.

Bhutta ZA, Darmstadt GL, Hasan BS, Haws RA. Community-based interventions for improving perinatal and neonatal health outcomes in developing countries: a review of the evidence. *Pediatrics.* 2005;115(2 Suppl):519-617. doi:10.1542/peds.2004-1441.

Usunoff KG, Itzev DE, Rolfs A, Schmitt O, Wree A. Nitric oxide synthase-containing neurons in the amygdaloid nuclear complex of the rat. *Anat Embryol (Berl)*. 2006 Oct 27. Epub ahead of print. doi: 10.1007/s00429-006-0134-9

Walsh B, Steiner A, Pickering RM, Ward-Basu J. Economic evaluation of nurse led intermediate care versus standard care for post-acute medical patients: cost minimisation analysis of data from a randomised controlled trial. *BMJ*. 2005 Mar 26;330(7493):699. Epub 2005 Mar 9.

Artigos com Título e Texto em Idioma Diferente do Inglês:

Li YJ, He X, Liu LN, Lan YY, Wang AM, Wang YL. [Studies on chemical constituents in herb of *Polygonum orientale*]. *Zhongguo Ahong Yao Za Zhi*. 2005 Mar;30(6):444-6. Chinese.

Suplementos ou Edições Especiais:

Pucca Junior GA, Lucena EHG, Cawahisa PT. Financing national policy on oral health in Brazil in the context of the Unified Health System. *Braz Oral Res*. 2010 Aug;24 Spec Iss 1:26-32.

Periódicos Online:

Barata RB, Ribeiro MCSA, De Sordi M. Desigualdades sociais e homicídios na cidade de São Paulo, 1998. *Rev Bras Epidemiol*. 2008;11(1):3-13 [cited 2008 Feb 23]. Available from: <http://www.scielo.org/pdf/rbepid/v11n1/01.pdf>.

Livros:

Stedman TL. *Stedman's medical dictionary: a vocabulary of medicine and its allied sciences, with pronunciations and derivations*. 20th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1961. 259 p.

Livros Online:

Foley KM, Gelband H, editors. Improving palliative care for cancer [monograph on the Internet]. Washington: National Academy Press; 2001 [cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.nap.edu/books/0309074029/html/>.

Websites:

Cancer-Pain.org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000 [cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [homepage]. Brasília (DF): Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; 2010 [cited 2010 Nov 27]. Available from: <http://www.ibge.gov.br/home/default.php>.

World Health Organization [homepage]. Geneva: World Health Organization; 2011 [cited 2011 Jan 17]. Available from: <http://www.who.int/en/>

