UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

MARCELA PAGANI CALABRIA

**Análise qualitativa das estruturas intra e peritubulares
em dentina de Lesões Cervicais Não Cariotas,
empregando M.E.V.**

**BAURU
2007**

MARCELA PAGANI CALABRIA

**Análise qualitativa das estruturas intra e peritubulares
em dentina de Lesões Cervicais Não Cariotas,
empregando M.E.V.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Área de concentração: Dentística
Orientador: Prof. Dr. José Carlos Pereira

**BAURU
2007**

Calabria, Marcela Pagani

C125a Análise qualitativa das estruturas intra e peritubulares em dentina de lesões cervicais não cariosas, empregando M.E.V. / Marcela Pagani Calabria. – Bauru, 2007.
173 p.: il. ; 30 cm.

Dissertação. (Mestrado) -- Faculdade de Odontologia de Bauru.
Universidade de São Paulo.
Orientador: Prof. Dr. José Carlos Pereira

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processo fotocopiadores e/ou meios eletrônicos.

Assinatura do autor:

Data:

Comitê de ética da FOB: Projeto de Pesquisa Aprovado em 23 de maio de 2006.

Nº do Protocolo: 85/2005

Data:

DADOS CURRICULARES

MARCELA PAGANI CALABRIA

15 de Novembro de 1980	Nascimento
Filiação	Francesco Michele Calabria Célia Regina Pagani Calabria
1998-2002	Curso de Odontologia – Universidade do Sagrado Coração
13/03/2003 a 11/08/2004	Curso de Especialização em Dentística pela Fundação Bauruense de Estudos Odontológicos da Faculdade de Odontologia de Bauru - USP
2005-2007	Curso de Pós-Graduação em nível de Mestrado na Faculdade de Odontologia de Bauru - USP
Associações	APCD – Associação Paulista dos Cirurgiões Dentistas

“Uma grande vitória só é possível se precedida de pequenas vitórias sobre nós mesmos”.

(Leonid Maksimovich Leonov)

A Deus,
por ter guiado todos os meus passos e me abençoado para que eu tivesse a serenidade,
perseverança e coragem ao desenvolver esse trabalho.
A vós, toda honra e glória, porque, através de meus pais, me destes vida.

DEDICATÓRIA

“Se você construiu castelos no ar, não tenha vergonha deles. Estão onde devem estar. Agora, dê-lhes alicerces”.

(Henry David Thoreau)

A todos vocês que foram e continuam sendo meus alicerces na vida, meu muito obrigada!

Ao meu pai, Francesco, e a minha mãe, Célia, por me darem a vida. E, ainda, por proporcionar que meus sonhos se realizassem, dando-me não só o apoio material, mas aquele que pôde ser sentido por meio de seu amor, presença insubstituível e suporte emocional. Obrigada, pai e mãe, porque me guiaram pelos caminhos da honestidade, do trabalho e do amor. Eu tenho orgulho de ser sua filha e poder retribuir, com este trabalho, um pouquinho do que fizeram por mim. Ensinarão-me que a vida não é ter e obter, mas ser e tornar-se. Amo vocês!

Ao meu irmão, Luiz, pelo convívio nas horas boas e ruins. Você sempre será aquela nota cujo tom de alegria faz com que a vida valha a pena ser vivida. Obrigada por seu carinho, seu amor, e pela felicidade que me dá em tê-lo como meu irmão querido.

Ao tio Pereira - meu orientador - e a minha tia Eloísa, por sempre acreditarem em mim e, junto com meus pais, serem exemplos de vida a ser seguido. Sei que sempre pude contar com vocês e, creiam, ainda há muito pela frente! Obrigada pelo amor incondicional que me dedicaram! Eu sei que sou como uma filha de vocês e isso me deixa muito orgulhosa e envaidecida!

Ao Bruno, meu namorado, companheiro e amigo de todos os momentos, minha gratidão e admiração, pelas alegrias partilhadas, pela tranquilidade de sua presença nas horas em que precisei. A você, o meu amor!

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Bauru, na pessoa de seu Diretor Digníssimo Professor Dr. Luís Fernando Pegoraro, por ter-me recebido para que eu pudesse alcançar meus sonhos. É uma honra fazer parte, ainda que pequena, dessa casa de ensino à qual sempre procurarei honrar.

À Comissão de Pós-Graduação, na pessoa de sua Presidente Digníssima Professora Dra. Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado.

Ao CnPq, pelo apoio financeiro, indispensável para a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

“As palavras do homem são águas profundas, mas a fonte de sabedoria é um ribeiro que transborda”.

(PV 18.4)

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Carlos Pereira, pela competência e firmeza, que fizeram de mim esta pesquisadora. O privilégio de tê-lo como exemplo é tão grande quanto de tê-lo como meu tio, muitas vezes pai!

Você acreditou em mim e eu não poderia decepcionar o grande mestre que é um exemplo de amor e devoção à pesquisa. Sua competência e agudeza de raciocínio o precedem e eu, que conheço o mestre e a pessoa humana que você é, só posso ter orgulho de poder ter tido a oportunidade de partilhar de seus ensinamentos e de sua vida.

A você, professor, orientador e tio, meu carinho e amor especiais.

Aos professores do Departamento de Dentística, Dr. José Mondelli, Dr. Eduardo Batista Franco, Dr. Rafael Lia Mondelli, Dra. Maria Teresa Atta, Dr. Carlos Eduardo Francischone e Dr. Aquira Ishiquiriama, por me receberem, pela competência e pelos ensinamentos a mim transmitidos.

Ao Departamento de Histologia, em especial ao Professor Gerson, a Tânia e Dani, que me acolheram e auxiliaram durante toda a pesquisa. A colaboração de vocês foi fundamental para o desenvolvimento de meu trabalho, além da amizade gerada e que muito me envaidece.

Aos Departamentos de Materiais Dentários – em especial ao Professor Paulo Francisconi - e Bioquímica – em especial a Telma e Ovídio – que me permitiram o uso dos aparelhos, indispensáveis para minha pesquisa.

Ao Departamento de Cirurgia, em especial aos Professores Sant’Ana e Osni; às funcionárias Josi e Elza e aos alunos do atual 4º ano os quais, além de me receberem na clínica, auxiliaram-me na obtenção dos dentes. Obrigada pela acolhida que jamais será esquecida.

Aos pacientes, imprescindíveis na concepção deste trabalho, agradeço e peço a Deus que sempre os abençoe.

Aos funcionários Beth, Zuleica, Nelson, Edmauro, Sr. Dito, Júnior, Maria, Sr. Mauro, Ângela, Rita, Karen, Giane, Cleusa, Eduardo, Hebe e Maristela que, além da amizade, dispensaram a mim carinho, atenção e ajuda durante todo o Curso de Mestrado.

Ao NAP/MEPA da Faculdade de Agronomia Luís de Queiroz, USP – Piracicaba, na pessoa do Professor Kitajima e ao Francisco e Renato, que disponibilizaram o uso do Microscópio Eletrônico de Varredura e que, com tanto apreço, sempre me receberam naquela casa de ensino.

Léo e Cecília, nunca encontrarei suficientes palavras que definam o que vocês são na minha vida: amigos verdadeiros, que muito me ajudaram nos diversos estágios dessa pesquisa.

Aos inesquecíveis companheiros do mestrado, Renata, Ruan, Wagner, Breno, Leandro, Marcinha, Ian, Cris e Fabi e do atual mestrado, Luciana, Ruan, Karin, Leslie pela convivência amiga e pela alegria de tantos momentos juntos vividos.

Aos amigos do Doutorado, Leonardo, Cecília, Juliana, Giovana, Angélica, Kioshi, Ana Raquel, Adilson, Odirlei, Renato e Anurada, os quais eu nunca esquecerei: vocês fazem parte da história da minha vida e de meu amadurecimento profissional e pessoal.

A Renata, companheira e amiga de todas as horas, pela convivência fraterna.

A Karin, minha cunhadinha, pelo companheirismo e presença amiga.

Aos meus amigos do Mestrado, Luís Filipe, Janine, Luis Fernando, Gustavo, Dudu, Romão, Flora, Lu, Marcela, Pego, Pitchó, Danilo, Fernando, Paola, que estiveram presentes em quase todos os momentos da minha. Amei conhecer vocês!

Aos amigos e amigas que fazem parte da minha vida, Rodrigo e Marcela, Fabiana, Cristiane, Priscila, Priscila e Danilo, Suellen, Pamela, Roberta, Nathalia, Magnum, Mariele e Zé Antonio, Newman, Zé Ricardo, Danizinha, Claudinha, todo o meu carinho e agradecimento pela presença em tantas e fraternas ocasiões.

Ao tio Quinho – Dr. Frederico Pagani Júnior – pela experiência da vida profissional e carinho a mim dispensado.

Aos meus tios: Concetta, Pinuchio, Aldo e primas Paola e Carol os quais, mesmo a distância, sempre participaram ativamente da minha vida, com muito amor e torcendo para que sempre tudo desse certo. Amo vocês demais!

A Marlene, mãe do Bruno, pelo carinho e pelos momentos compartilhados.

Pai e mãe, também aqui quero agradecer por terem ido comigo, tantas vezes, a Piracicaba. A minha pesquisa tem muito de seu sacrifício e desprendimento a mim dedicados. A companhia de vocês tornou tudo muito mais fácil!

A Rô e a Rosa, duas criaturas maravilhosas, verdadeiros alicerces para que tudo isso fosse possível.

RESUMO

Introdução - A perda de estrutura dental devido às lesões cervicais não cariosas (LCNC) é um evento clínico recorrente e amplamente discutido na literatura. Os fatores etiológicos relacionados a esse tipo de lesão são: abrasão, erosão e abfração. Segundo vários autores, a particular disposição das estruturas dentinárias torna-se ainda mais interessante e curiosa quando se observa a dentina nas regiões com LCNC. **Objetivos** - A proposta deste trabalho foi estudar, comparativamente, em microscópio eletrônico de varredura (M.E.V.), a microestrutura dentinária de LCNC, a partir de dentes extraídos e armazenados sob condições controladas, considerando-se o método de preparação dos espécimes. Também se propôs a comparar o conteúdo intratubular da dentina com LCNC com sua contraparte lingual, sem lesão, e observar se a presença de estruturas intratubulares (EIT) tem relação com a ocorrência de hiperestesia dentinária (HD). **Materiais e Métodos** - Utilizaram-se as superfícies vestibulares e linguais homólogas de 14 dentes humanos, portadores de LCNC, extraídos por razões terapêuticas, e imediatamente fixados em Karnovsky. Os dentes foram divididos em 3 grupos, cada um deles subdividido em dois subgrupos, de acordo com o tratamento dos espécimes. Amostras da região da lesão e suas contrapartes linguais foram, então, pós-fixadas segundo protocolo apropriado para M.E.V. Tanto a superfície da lesão, quanto as estruturas dentinárias subjacentes foram estudadas obedecendo à seguinte seqüência: Grupo I - amostras da lesão seccionadas com disco, subdivididas em: Grupo IA – limpeza com ultra-som por 15 minutos; Grupo IB – limpeza com ultra-som por 15 minutos, seguida de condicionamento com H_3PO_4 a 5%, por 15 segundos. Grupos II – amostras fraturadas, subdivididas em: Grupo IIA – limpeza com ultra-som por 30 minutos; Grupo IIB – apenas condicionamento com H_3PO_4 a 5%, por 15 segundos; e Grupo III - amostras fraturadas e assim subdivididas: Grupo IIIA – controle, sem qualquer tipo de tratamento; Grupo IIIB – imersão dos espécimes em NaOCl a 2%, por 5 minutos. Os espécimes foram desidratados, submetidos a secagem em ponto crítico e metalizados com ouro para análise em M.E.V. **Resultados – 1** - De maneira geral, todos os métodos interferem, em maior ou menor proporção, com a natureza dos espécimes. Na superfície da lesão, o método que melhor permitiu a visualização das estruturas dentinárias foi o ultra-som seguido do condicionamento ácido (Grupo IIA). Entretanto, é o procedimento que mais altera a estrutura da dentina. Na dentina abaixo da lesão, o método de observação mais apropriado foi o da simples fratura controle (Grupo IIIA). 2 – Tanto a dentina correspondente à região da lesão, quanto à da região não lesionada lingual, apresentaram conteúdos intratubulares semelhantes. 3 – Não foram notadas diferenças

estruturais nas lesões hipersensíveis em comparação com aquelas não-sensíveis. **Conclusões**

– Os métodos de preparação dos espécimes tendem, em maior ou menor extensão, a alterar a natureza do que está sendo observado. Não se pode afirmar, à luz da metodologia empregada, que a existência de EIT é ocorrência particular da dentina em LCNC. Aparentemente, as EITs ocorrem tanto na dentina que apresenta HD como naquela não sensível.

Palavras-chave: Dentina. Hipersensibilidade da dentina. Lesão cervical não cariosa. *Lamina limitans*. *Whitlockite*.

ABSTRACT

Quantitative analysis of intra and peritubular structures of Non-Carious Cervical Lesions (NCCL) dentin – SEM study

Introduction – The lost of dental structure because of non carious cervical lesion is one of the most important clinical event discussed in dental literature. The most important etiologic factors related to this type of lesions are: abrasion, erosion and abfraction. According to many authors, this particular lost of dental structures became more interesting and curious when the dentin in regions with NCCL is study microscopically. **Objectives** – The purpose of this investigation was to study, comparatively, in scanning electronic microscopy (S.E.M.), the dental microstructure of NCCL and lesion-dentin dentin surfaces. The null hypothesis were the following: 1- the methods used for specimens preparations lead to different changes on dentin microstructures; 2- there is no difference between NCCL dentin microstructure and that from lesion-free dentin in the same tooth; 3- ITS can be found both in hypersensitive and non-sensitive dentin. **Materials and Method** – Dentin samples from buccal and lingual surfaces of 14 extracted human teeth, with NCCL on buccal surface, were used. After extraction the teeth were immediately fixed with Karnovsky. Teeth were than, divided in 2 subgroups, in accordance with specimen's treatment. Samples of region of lesion and their lingual counterpart were, then, post fixed according to appropriated protocol for SEM. The following groups were studied: Group I –specimens sectioned with diamond disc and subdivided in: Group IA- specimens cleaned in ultrasonic bath for 15 minutes; Group IB – cleaned in ultrasonic bath 15 minutes, followed by etching with 5%, H_3PO_4 , for 15 seconds. Group II – samples were fractured along the lesions axis and subdivided in: Group IIA – ultrasonic bath for 30 minutes; Group IIB –etching with 5%, H_3PO_4 , for 15 seconds. Group III - samples also fractured and subdivided in: Group IIIA (control) - without any kind of treatment; Group IIIB – immersion of the specimens in NaOCl to 2%, for 5 minutes. The specimens were dehydrated, critical point dried and coated with gold for in SEM analysis. **Results** – 1- On general, all of methods interfere, in larger or lesser proportion, with the nature of the specimens. On the surface of the lesions, the method that better allowed the visualization and recognition of dentine structures was the ultrasound followed by acid conditioning (Group IB). However, this was the procedure that introduced the greatest changes on dentine structures. In dentine under of the lesion, the best method of specimens preparation was the control group (Group IIIA). 2- Both buccal NCCL and lesion-free lingual

surfaces presented similar ITS. 3- No structural differences were found in dentin from hypersensitive and non-sensitive lesions. **Conclusions** - The methods used for specimens tend to modify the characteristics and relationship of dentin structures. The hypothesis that ITS are specific from NCCL could not be confirmed under the light of method used. Apparently, the ITS can be found in both hypersensitive and non-hypersensitive dentin.

Keywords: Dentin. Dentin Hipersensitivity. Non cariou cervical lesion. *Lamina limitans*. *Whitlockite*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	33
2 REVISÃO DE LITERATURA	39
2.1 ESTRUTURA MORFOLÓGICA DA DENTINA.....	42
2.2 ETIOLOGIA DAS LESÕES CERVICAIS NÃO CARIOSAS (LCNCs).....	48
2.3 TEORIA HIDRODINÂMICA.....	60
2.4 MICROMORFOLOGIA TUBULAR DENTINÁRIA.....	65
3 PROPOSIÇÃO.....	101
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	105
4.1 OBTENÇÃO DOS DENTES.....	107
4.2 ARMAZENAGEM E PREPARAÇÃO DOS ESPÉCIMES.....	108
4.3 PREPARO DOS ESPÉCIMES PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (M.E.V.).....	112
4.4 ANÁLISE DESCRITIVA EM M.E.V.	112
5 RESULTADOS	113
5.1 ANÁLISE DESCRITIVA DAS LCNCs COMPARADAS ÀS CARACTERÍSTICAS MICROMORFOLÓGICAS DA DENTINA	115
5.2 ANÁLISE DESCRITIVA DA MORFOLOGIA DENTINÁRIA DA SUPERFÍCIE DAS LCNCs	117
5.3 ANÁLISE DESCRITIVA DA MORFOLOGIA DAS SUPERFÍCIES SECCIONADAS OU FRATURADAS DAS LCNCs	124

6 DISCUSSÃO	135
6.1 TÉCNICA DE PREPARAÇÃO DOS ESPÉCIMES.....	137
6.2 ESTRUTURAS INTRATUBULARES (EITs) E A LCNC.....	139
6.3 EIT E HIPERSENSIBILIDADE DENTINÁRIA.....	148
 7 CONCLUSÕES	 151
 REFERÊNCIAS	 155
 ANEXO	 171

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURAS

Figura 1-	Exemplos de alguns dentes com diferentes formas de LCNC.....	107
Figura 2-	Máquina de corte utilizada para a secção dos dentes e dos espécimes.....	108
Figura 3-	Seqüência de preparo dos espécimes de todos os grupos, para posterior seqüência de tratamentos das superfícies dentárias a serem analisadas. A- Dente após a extração. B- Remoção das partes coronárias e radiculares e armazenamento em solução Karnovsky. C- Segmento dental correspondente ao terço médio dos dentes, onde se localizam as lesões cervicais não cariosas. D- Faces vestibulares separadas das faces linguais. Divisão das lesões cervicais não cariosas e faces linguais em mesial e distal, seccionando com disco diamantado (Grupo I) ou fraturando (Grupo II e III) E- Grupos formados após divisões dos segmentos. Todos os grupos A eram constituídos pelas faces mesiais (vestibulares e linguais homólogas) e os grupos B pelas faces distais (vestibulares e distais homólogas).....	109
Figuras 4A e B-	Superfície da lesão após limpeza com ultra-som durante 15 minutos. A- Visualização da embocadura dos túbulos dentinários parcialmente recobertos com material amorfo e dispostos de maneira oblíqua na superfície dentinária exposta. Área correspondente à porção coronária da lesão (3000X). B- Neste plano de visão, correspondente à porção radicular da lesão, observam-se as embocaduras dos túbulos dispostas perpendicularmente à superfície dentinária. Os túbulos mostram-se parcialmente ou totalmente recobertos (2000X).....	118
Figuras 5A e B-	Superfície da LCNC após limpeza com ultra-som, por 30 minutos. A- Visualização das embocaduras obstruídas dos túbulos dentinários dispostos transversalmente à superfície dentinária exposta, correspondente ao ápice da lesão (2000X). B- Embocadura dos túbulos dispostos transversalmente à	

	superfície dentinária da região radicular (2000X). Apesar de caracterizar efeito de limpeza melhor que no grupo anterior, a visualização da embocadura dos túbulos e de seu conteúdo ainda não foi completa.....	119
Figuras 6A e B-	Amostra da superfície da lesão sem nenhum tratamento (controle). A – Região coronária da LCNC. Observa-se uma camada amorfa depositada sobre a embocadura dos túbulos, impedindo completamente a visualização (1000X). B - Região correspondente à porção radicular. Tanto quanto em A, aqui as rachaduras sugerem o local das embocaduras dos túbulos dentinários (2000X).....	120
Figuras 7A e B-	Amostra da superfície da lesão em que se empregou limpeza com ultra-som, por 15 minutos, seguida de condicionamento com ácido fosfórico a 5%, por 15 segundos. A - Visualização das EITs no interior das embocaduras dos túbulos. Nota-se, ainda, a presença de espaços entre as paredes dos túbulos dentinários e as estruturas, provavelmente, devido à desmineralização da DPT (setas). (Vista da região radicular - ampliação 1000X). B - Maior aumento de A mostrando as EITs dispostas obliquamente à superfície da LCNC (2000X).....	121
Figuras 8A e B-	Espécime da superfície da lesão submetido ao condicionamento com ácido fosfórico a 5%, por 15 segundos. A amostra mostra resíduos na superfície da dentina exposta, indicando um resultado menos eficiente do que a associação com o ultra-som, como visto no Grupo IB. A - Vista das embocaduras dos túbulos dentinários, alguns obstruídos pelas EITs e outros sem a presença destas. Nota-se a existência de espaço entre as estruturas e a parede dos túbulos dentinários, provável artefato do condicionamento ácido, como já descrito no Grupo IB. Esta região corresponde ao plano oclusal da lesão (1500X). B - As mesmas condições observadas na coroa puderam ser visualizadas no ápice da LCNC (1500X).....	122
Figuras 9A, B e C-	Superfície da lesão depois de imersa em NaOCl a 2%, por 5	

minutos. Nota-se que o hipoclorito foi capaz de remover grande parte do depósito orgânico da superfície dentinária. Entretanto, remanesceram resíduos, provavelmente de natureza mineral. **A, B**-Visualização da embocadura dos túbulos dentinários parcialmente ou totalmente obstruídos, vistos transversalmente à superfície da lesão, (2000X e 3000X respectivamente). **C**-Estruturas intratubulares com os túbulos dispostos paralelamente à superfície (5000X). Os túbulos mostram-se totalmente obstruídos pela EITS e por resíduos particulados, provavelmente de origem mineral, depositados em seu interior (setas)..... 123

Figuras 10A, B, C e D- Espécime do Grupo IA, seccionado com disco e tratado com ultra-som, por 15 minutos. **A**- Nota-se, nesse corte, túbulos expostos transversalmente e, dentro deles, estruturas de conformação tubular, porém fragmentadas, provavelmente pela ação do disco e do polimento. A DPT pode ser notada como entidade independente do conteúdo intratubular (setas) (2000X). **B**- Imagem do mesmo espécime, mostrando os túbulos dispostos obliquamente à superfície seccionada (2000X). Nota-se com clareza a DPT, mais densa, presente ao redor dos túbulos (seta). Entretanto, a EIT não é visível, devido à “smear layer” formada durante o preparo do espécime, a qual o ultra-som não foi capaz de remover. **C, D**- Regiões de trinca espontânea, localizadas em alguns espécimes desse grupo. Nota-se a existência de estruturas semelhantes aos prolongamentos odontoblásticos. Apesar do formato tubular, são bem distintas das EITs, também visualizadas em outros grupos. Imagem próxima à região pulpar em aumentos de 1000X e 2000X, respectivamente..... 125

Figuras 11A, B, C, D, E e F- Imagens dos espécimes do Grupo IIA, fraturados e tratados com ultra-som, por 30 minutos. **A e B**- Nota-se a presença das EITs com formato de cordão preenchendo quase completamente o diâmetro dos túbulos. **A** - Observa-se, no

interior do túbulo, a presença de uma estrutura em forma de cordão rompido (2000X). **B-** EIT fraturada longitudinalmente, mostrando cristais em seu interior (3000X). **C-** Presença das EITs fraturadas longitudinalmente, recobrindo a parede interna dos túbulos (2000X). **D-** Essa figura permite a observação de fibras nas paredes internas dos túbulos, que perderam suas EITs, provavelmente devido à fratura do espécime (3000X). **E-** Estruturas que sugerem prolongamentos odontoblásticos, projetando-se do interior dos túbulos (2000X) **F-** Em contraste com a figura anterior, aqui se vêem EITs mais espessas e de aparência mineralizada, justapostas às paredes dos túbulos. Essa figura permite observar EITs com paredes de diferentes espessuras (2000X)..... 127

Figuras 12A, B e C- Imagens de alguns espécimes sem tratamento (controle). Nota-se que não houve grande diferença entre esse grupo e o anterior (Grupo IIA), exceto pelas partículas depositadas sobre a superfície fratura. **A-** Observa-se com clareza a diferença entre as EITs, DIT e DPT (setas) (2000X) **B-** Em alguns espécimes nota-se a presença de cristais precipitados no interior das EITs quando essas se apresentavam fraturadas no sentido longitudinal (seta branca). Na ausência de cristais, fibrilas podem ser visualizadas revestindo internamente a EIT (seta negra) (3000X). **C-** Nota-se a presença da DPT, do túbulo dentinário com sua respectiva EIT mineralizada e esta, por sua vez, com um conteúdo de aparência fibrosa e desmineralizada, projetando-se para o exterior, sugerindo prolongamentos odontoblásticos. É notável a individualidade dessas estruturas (2000X)..... 129

Figuras 13A, B e C- Imagens de alguns espécimes do Grupo IB, seccionados com disco e condicionados com ácido fosfórico a 5%, por 15 segundos. Nota-se que as estruturas tubulares se apresentam de maneira diferente dos grupos fraturados. **A-** Observa-se, aqui, que os túbulos dentinários encontram-se vazios, possivelmente

	em decorrência da fragmentação e deslocamento das EITs (500X). B- Em outra região do mesmo espécime, as EITs mantêm-se presentes e bem visíveis (1000X). C- Em maior aumento, a perda da DPT devido ao condicionamento ácido permite visualização de fibrilas revestindo a parede dos túbulos (3000X).....	130
Figuras 14A, B, C e D-	Essas figuras correspondem a alguns espécimes do Grupo IIB, fraturados e condicionados com ácido fosfórico a 5%, por 15 segundos. A e B- Presença de EITs com aspecto tubular e com paredes espessas (1000X e 3000X, respectivamente), diferente do que é visto em C e D (2000X). Nestas, o aspecto fibroso ou membranoso das EIT sugerem diferentes estágios de mineralização dessas estruturas. Observa-se, ainda, em todas as figuras, que as EITs encontram-se afastadas das paredes dos túbulos, provavelmente resultado da desmineralização da DPT (setas). Entretanto, esse espaço é menor que o obtido no Grupo IB.....	131
Figuras 15A, B e C-	Correspondem aos espécimes do Grupo IIIB, fraturados e tratados com hipoclorito de sódio a 2%, por 5 min. Nota-se a presença de EITs, mostrando que o NaOCl não causou a dissolução das mesmas, limitando-se à digestão do colágeno. As EITs são vistas justapostas às paredes dos túbulos (3000X) C- Observa-se com clareza o aspecto poroso do substrato dentinário após ser tratado com NaOCl, devido à remoção das fibras colágenas superficiais (3000X).....	132
Figura 16-	Cristais depositados no interior do túbulo dentinário, semelhante ao descrito por Porter et al (2005), caracterizando estrutura completamente distinta das que foram identificadas como EIT. As setas indicam a DPT.....	140
Figura 17-	Comparação das imagens da mesma amostra obtidas pela técnica convencional de M.E.V. e pela técnica do BSE. Nota-se em A a existência de conteúdo intratubular (setas) com identidade própria, distinta das estruturas adjacentes.	

	Entretanto, não é possível identificar sua natureza mineral. Em B , o brilho das mesmas EIT vistas em A , contrastando com a dentina circunjacente, sugere matéria de natureza mineral.....	144
Figura 18-	A figura A permite diferenciar, entre o conjunto de estruturas, a DPT (seta branca) e o conteúdo intratubular (seta negra). Esses elementos tornam-se mais distintos em B , onde é clara a concentração mineral, tanto na DPT, como na EIT.....	144
Figura 19-	EITs assemelhando-se a prolongamentos odontoblásticos. Observar a natureza fibrosa do conteúdo intratubular (seta).....	147
Figura 20-	As setas (brancas) mostram as três entidades que compõem o complexo tubular: DPT, EIT e o que parece um prolongamento odontoblástico. Aqui também se pode notar o aspecto fibroso do prolongamento (seta negra).....	147
Figura 21-	Nota-se a diferença entre as estruturas tubulares, que se assemelham aos prolongamentos odontoblásticos (Fig 19) e estas estruturas vistas na região de trinca, desta imagem. As EITs mostram-se mais rígidas, sem aspecto fibrilar e “ocas” (setas) (3000X).....	148
 - GRÁFICOS		
Gráfico 1-	Perfil espectral da hidroxiapatita, mostrando os picos de Ca e P.....	143
Gráfico 2-	O espectro da EIT mostra pico correspondente ao Mg em mínima quantidade.....	143

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Definição das diferentes etiologias das LCNCs. (Adaptado KELLEHER e BISHOP, 1999).....	48
Tabela 2-	Características das lesões cervicais não cariosas de acordo com a etiologia (proposto por LEVITCH et al., 1994).....	53
Tabela 3-	Seqüência do processo de fixação e tratamento que cada grupo recebeu.....	111
Tabela 4-	Aspectos considerados para a análise descritiva da morfologia dentinária das LCNCs e das superfícies seccionadas e fraturadas.....	112
Tabela 5-	Agrupamento dos dentes considerando os dados de identificação e características das LCNC.....	115
Tabela 6-	Características das superfícies das LCNCs conforme as características de visualização dos componentes dentinários e tubulares.....	116
Tabela 7-	Características das sub-superfícies das LCNCs conforme as características de visualização dos componentes dentinários e tubulares.....	117

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

LCNC	Lesão Cervical Não Cariosa
M.E.V.	Microscópio Eletrônico de Varredura
M.E.T.	Microscópio Eletrônico de Transmissão
E.D.S	Espectroscopia por Dispersão de Energia
JCE	Junção Cimento-Esmalte
JAD	Junção Amelo-Dentinária
%	Porcentagem
μm	Micrometro
mm	Milímetros
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
n ^o	Número
pH	Potencial Hidrogeniônico
M	Molar
N	Normal
min	Minuto
≤	Menor ou igual

FORL	Lesões de Reabsorção Osteoclástica em Felinos
ml	Mililitros
>	Maior
<	Menor
X ²	Quiquadrado
AF	Flúor acidulado
HEMA	2 hidroxi-etil-metacrilato
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
Á	Ampere
°C	Grau Celsius
GAG	Glicosaminoglicanas
CPC	Cloreto cetil peridíneo
FD	<i>Freeze-drying</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
mg	Miligrama
Ca	Cálcio
P	Fósforo

S	Enxofre
CLSM	Microscópio Eletrônico Confocal a Laser
Nm	Nanometros
β -TCP	Beta-tricálcio fosfato
Mg	Magnésio
NaOCl	Hipoclorito de sódio
CO_3^-	Carbonato
AFM	Microscópio de Força Atômica
HD	Hipersensibilidade dentinária
Kv	Kilovolt
H_3PO_4	Ácido Fosfórico
BSE	Backscattered electrons
HÁ	Hidroxiapatita
EIT	Estrutura intratubular
DPT	Dentina peitubular
DIT	Dentina Intertubular
LL	<i>Lamina Limitans</i>

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O conhecimento das variações morfológicas da dentina ao longo da permanência do dente na boca é de importância fundamental para o correto julgamento das respostas do complexo dentinopulpar aos procedimentos realizados sobre ela, tanto do ponto de vista biológico como biomecânico. Um dos problemas comuns durante as manobras restauradoras adesivas é a grande variabilidade do substrato dentinário que depende da região do dente onde estamos atuando, da profundidade das cavidades ou das lesões presentes, da idade do paciente e do tipo de estímulo que o dente já recebeu enquanto na cavidade bucal.

A dentina nunca deve ser considerada como uma estrutura isolada do órgão dental. Deve-se lembrar que ela é formada em sua totalidade por túbulos dentinários que se estendem desde a pré-dentina até a junção cimento-esmalte, tornando-a uma estrutura permeável. Esses túbulos dentinários estão preenchidos por fluidos que se movimentam de dentro para fora e, vice-versa, ao mesmo tempo em que comportam os prolongamentos odontoblásticos unindo, fisiologicamente, a dentina e a polpa. Nesse sentido, dentina e polpa formam o que convencionou chamar de complexo dentinopulpar. Qualquer intervenção ou estímulo que ocorra na porção mais superficial da dentina é percebido pela polpa, e uma resposta a esse estímulo começará a ser desenvolvida.

As alterações que ocorrem na dentina não são completamente definidas do ponto de vista de suas modificações estruturais e de suas propriedades. Suas principais alterações fisiológicas são a esclerose dentinária e a de dentina terciária, reparadora ou reacional, as quais podem ser aceleradas com o aparecimento das lesões não cariosas.

Classicamente, as lesões resultantes da perda da estrutura dentária não relacionada com a cárie têm sido atribuídas aos processos de abrasão, erosão, atrição e abfração. Por não apresentarem relação etiológica com o processo carioso, as lesões dessa natureza são reconhecidas como lesões não cariosas (LNC) e quando ocorrem na região cervical dos dentes, lesões cervicais não cariosas (LCNC).

Essas LCNC e as modificações que proporcionam no substrato dentinário nas regiões afetadas são intrigantes e, por isso mesmo, motivadoras de muitas pesquisas. As superfícies dentinárias expostas pelas LCNC apresentam permeabilidade variada, com claro efeito nos procedimentos adesivos e no diagnóstico e tratamento dos pontos específicos de hipersensibilidade dentinária cervical ou, como é mais corretamente chamada, de hiperestesia dentinária (HD). Tem-se relacionado a HD com a permeabilidade dos túbulos e a dinâmica dos fluidos em seu interior. (BRÄNNSTRÖM; ASTRÖM, 1972; PASHLEY, 1986). Por essa

razão, tende-se a projetar uma relação de causa e efeito entre a condição tubular e o potencial hiperestésico da dentina. Por esse raciocínio, quanto maior a oclusão dos túbulos, menor o movimento de fluidos e, conseqüentemente, menor a HD, tomando-se como correta a teoria hidrodinâmica. (BRÄNNSTRÖM; ASTRÖM, 1972; ABSI; ADDY; ADAMS, 1987).

No entanto, algumas incertezas sobre a dentina ainda persistem, como a extensão dos túbulos odontoblásticos no interior dos túbulos dentinários e os conteúdos tubulares, assuntos de considerável controvérsia na literatura científica. Vários autores (DUKE; LINDEMUTH, 1991; FRANK, 1959; GWINNETT; JENDRESEN, 1978; HARCOURT, 1964; ISOKAWA, TODA; KUBOTA, 1970, ISOKAWA; KUBOTA; KUWAJIMA, 1973; THOMAS; 1983, 1984; YOSHIYAMA et al., 1989, 1996, 1999; AZRAK, 2003) observaram que grande parte dos túbulos vistos na superfície de LCNC encontrava-se parcial ou totalmente obstruída por uma estrutura de aparência tubular, cuja identificação não está completamente clara. Essas estruturas são, aparentemente, resultado da deposição mineral na parede interna dos túbulos, como parte da formação e espessamento da dentina peritubular (DPT) por ação odontoblástica. Alguns autores (BRADFORD, 1950; MILLER, 1954; FRANK, 1959) a consideram parte do processo odontoblástico, mais propriamente sua bainha externa composta de tecido mucóide. Outros (BRADFORD, 1958; BLAKE, 1958; ISOKAWA; TODA; KUBOTA, 1970; ISOKAWA; KUBOTA; KUWAJIMA, 1973; THOMAS, 1979) a identificam como estrutura hipomineralizada, disposta internamente à DPT, enquanto outros, ainda (THOMAS; CARELLA, 1983, 1984; THOMAS, 1984), acreditam que tal estrutura não faz parte do processo odontoblástico e a identificam com sendo a *lamina limitans* (LL). Esses mesmos autores observaram, em microscópio eletrônico de transmissão (M.E.T.) e microscópio eletrônico de varredura (M.E.V.), que a separação entre a LL e a dentina intertubular (DIT) tende a aumentar conforme se distancia da polpa, em razão da maior quantidade de DPT nas regiões mais periféricas da dentina. Por outro lado, Isokawa, Toda e Kubota (1970), mostraram que a porção mais interna da DPT, correspondente ao lúmen do túbulo, é menos solúvel aos ácidos e melhor preservada que a DPT durante a preparação dos espécimes para microscopia. Aparentemente, a DPT é composta de uma camada interna hipomineralizada e uma externa, hipermineralizada, que desaparece quando se submetem os espécimes ao condicionamento ácido, por exemplo.

Yoshiyama et al. (1996), estudando biópsias de áreas sensíveis e não sensíveis de LCNC, constataram que as regiões não sensíveis apresentavam 80% dos túbulos desprovidos de seus conteúdos intratubulares, ocorrendo o oposto com as regiões sensíveis, estas “obstruídas” por tais estruturas. Essas observações confirmam o contraste entre a DPT

propriamente dita, solúvel aos ácidos, e o conteúdo intratubular, ácido-resistente. Os mesmos autores observaram, ainda, que as estruturas intratubulares (EITs), quando submetidas à microanálise de Rx (E.D.S.), eram compostas de S, P e Ca, em uma razão S/P de 2.29, Ca/P de 0.76, enquanto apenas Ca e P numa razão de 1.52 foram encontrados na dentina adjacente. Esse conteúdo intratubular teria composição semelhante aos cristais formados na dentina cariada, e foram identificados por Selvig (1968 apud ISOKAWA; TODA; KUBOTA, 1970) e Isokawa, Toda e Kubota (1970) como *whitlockite* ou, mais propriamente, fosfato tricálcio (β TCMP ou β TCP).

Quando se comparou a microestrutura da dentina em LCNC com a de uma dentina normal, notou-se que esta última não apresentava as mesmas EITs, típicas das LCNC (AZRAK, 2003). Assim, parece claro que os fenômenos que regem os processos típicos de esclerosamento (fisiológico) são diferentes daqueles que orientam a deposição mineral nas regiões com LCNC, em que a dentina encontra-se exposta ao meio bucal. Possivelmente, a LL, com sua natureza mucóide (BRADFORD, 1950, 1958, FRANK; STEUER, 1988; ISOKAWA; TODA; KUBOTA, 1970; ISOKAWA; KUBOTA; KUWAJIMA, 1973, THOMAS, 1984; YOSHIBA et al., 2002), recebe comandos moleculares diferentes quando estimulada pelos mesmos fatores que provocam as LCNC e pelos componentes da saliva e da dieta do paciente. Tem sido demonstrado que a LL apresenta elevado conteúdo de glicosaminoglicanas, assim como glicoproteínas que regem a deposição mineral em condições fisiológicas. Bradford (1958) esclarece que a formação de DPT ocorre continuamente ao longo da vida do dente, mas o grau de deposição é, normalmente, reduzido e no momento em que os fluidos tissulares estão supersaturados com relação aos íons cálcio e fosfato é necessário que algum mecanismo controle essa deposição. Tem-se postulado que as glicosaminoglicanas atuam como inibidores dessa deposição, juntamente com outras proteínas não colagênicas, em particular as proteínas que contêm o ácido gama carboxilglutâmico.

As metodologias para a observação da microestrutura dentinária das LCNC, tanto do ponto de vista da obtenção dos dentes, como da fixação e preparação dos espécimes para microscopia eletrônica, são diferentes entre si, embora se compreenda que, qualquer que seja o método empregado, variáveis que prejudicam a completa avaliação da relação entre as estruturas dentinárias sempre são introduzidas. A limpeza da dentina com soluções ácidas ou de efeito semelhante e os métodos de desidratação dos espécimes para M.E.V. promovem a perda de frações importantes da delicada conformação das estruturas tubulares e adjacentes. A exemplo disso seguem algumas das metodologias utilizadas por alguns autores: Yoshiyama et al. (1996) utilizaram ácido clorídrico a 6 mol/l, por 5 minutos, seguido da aplicação de

colagenase a mg/l, pH 7.4, por duas horas. Cagidiaco et al. (1997) empregaram ácido maleico a 10%, por 30 segundos; Isokawa, Kubota e Kuwajima (1973) utilizaram ácido fórmico 1/200N por 90 segundos; Meerbeek et al. (1994) usaram ácido cítrico 10-20%, por 40 segundos; enquanto Gwinnett e Jendrensen (1978) relataram o uso de ácido fosfórico a 50% por 1 minuto.

A melhor compreensão dos processos envolvidos com a obstrução fisiológica ou patológica dos túbulos dentinários é fundamental para as iniciativas de tratamento e controle das etiologias das lesões cervicais não cariosas e da hiperestesia dentinária decorrente. A observação de microestruturas dentinárias nas regiões cervicais mostra variações de estrutura não registradas com a clareza necessária para estabelecer uma relação de causa e efeito entre estímulo e resposta do tecido dentinário (AZRAK, 2003).

Este trabalho foi desenvolvido com o intuito auxiliar na compreensão dos fenômenos que acompanham as alterações estruturais da dentina em LCNC. Assim, pretende-se verificar a ocorrência de EITs na dentina de LCNC e comparar métodos de preparação dos espécimes, no que diz respeito às eventuais alterações que podem provocar na relação entre as estruturas dentinárias, do ponto de vista morfológico. Paralelamente, pretende associar as variações estruturais encontradas, com a ocorrência de HD.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

Têm sido descritas, com bastante frequência na literatura, diferentes formas de destruição crônica que afetam os dentes, e que não são as lesões cariosas, guiando para uma perda irreversível das estruturas dentárias. (IMFELD, 1996). A lesão cervical é um desses processos de destruição.

O termo lesão cervical define toda a alteração que consiste na perda de estrutura dentária localizada ao longo da junção cimento-esmalte (JCE), e pode ser mais especificamente definida como lesão cervical cariada (LCC) e lesão cervical não cariada (LCNC). A LCNC é caracterizada pela perda de tecido mineralizado no terço cervical do dente, na ausência do processo carioso, e a base da lesão aparece constituída por um tecido duro e altamente mineralizado. (ERAMO et al., 2003; CERUTI et al., 2006). Essas lesões se apresentam de diferentes formas, tais como ranhuras rasas, lesões amplas em forma de pires e até grandes defeitos em forma de cunha, com ângulos nítidos ou com margens mal definidas abaixo da JCE. Esses defeitos podem ocorrer nas superfícies vestibulares, onde são mais frequentes, assim como nas linguais e interproximais dos dentes. (LEVITCH et al., 1994).

As lesões cervicais não cariosas são condições comumente encontradas na clínica diária e, sua incidência têm mostrado um notável aumento em concomitância com o aumento de vida média das pessoas e com a diminuição da perda parcial ou total dos dentes. (SMITH; KNIGHT, 1984).

Tais lesões podem-se apresentar em um único elemento, mas estão presentes com maior frequência em vários dentes de ambas as arcadas em um mesmo paciente e, com diferentes níveis de severidade. (CERUTI et al., 2006).

A perda de estrutura dentária na região cervical, desprotegendo a dentina, pode causar desconforto para o paciente devido à HD, problemas estéticos e alteração das funções sendo que, em muitos casos, há necessidade de uma intervenção através de técnicas de dessensibilização e de procedimentos restauradores. (BRÄNNSTRÖM; JOHNSON; NORDENVALL, 1979; IBBETSON; EDER, 1999).

Dessa forma, torna-se de extrema importância conhecer, com detalhes, as estruturas dentárias, suas principais características morfológicas, a fim de que um preciso diagnóstico seja realizado diante das diferentes alterações e um perfeito plano de tratamento seja elaborado para a remoção e separação das possíveis causas.

Essa revisão de literatura estará direcionada, de forma específica, à definição de LCNC e suas etiologias e, principalmente, à micromorfologia dos túbulos dentinários nessas

LCNC. Contudo, não podemos deixar de descrever as características estruturais normais e fisiológicas da dentina para podermos compreender as alterações que ocorrem no tecido dentário devido ao aparecimento das LCNC, por onde iniciaremos este capítulo.

2.1 ESTRUTURAS MORFOLÓGICAS DA DENTINA

O conhecimento das estruturas fundamentais da dentina se completou na segunda metade do século XIX graças ao estudo da anatomia dentária pela microscopia. Historicamente, a descoberta da estrutura dentinária se deve a J. Thomes em 1856 pela observação do conteúdo fibrilar do túbulo o qual, por muito tempo, recebeu o nome de prolongamento de Thomes, hoje chamado processo odontoblástico. (GORACCI; MORI, 1995). Com a invenção da M.E.V., sucessivamente, foi possível analisar a estrutura dentária dura, com um baixo conteúdo de água e com o mínimo de contração no término do preparo do espécime.

O microscópio eletrônico de varredura (M.E.V.) constitui um válido método para observação da dentina, pela relativa facilidade do preparo dos espécimes comparado àquele necessário para análise em microscópio eletrônico de transmissão (M.E.T.), mas, sobretudo, pela facilidade de o feixe de elétron penetrar no espécime e nos dar uma imagem tridimensional. O preparo de um tecido para análise, assim como da estrutura dentária, é relativamente simples e compreendem basicamente o processo de desmineralização e a deposição de uma camada de metal para refletir a imagem. (GORACCI; MORI, 1995).

A dentina, suas propriedades e características são chaves determinantes de quase todos os procedimentos restauradores, processo carioso (primário ou secundário), desenvolvimento, progressão de lesões cervicais e na terapia preventiva e restauradora de dor e sensibilidade dentinária. É importante notar que as características da dentina apresentam influência importante em muitos outros aspectos da prática dental. (MARSHALL JR., 1993).

A maior parte da estrutura dentária é constituída pela dentina, um tecido parcialmente mineralizado, composto em quase sua totalidade por cristais de apatita pobre em cálcio, envolto por matriz de colágeno. (MONDELLI et al., 1998). Essas estruturas têm íntima relação com os prolongamentos odontoblásticos adquirindo, assim, uma característica tubular. (BUTLER, 1995). No total, a dentina é composta por cerca de 70% mineral, 18% de material orgânico e 12% de água. A composição varia de acordo com a idade dentária devido à progressiva deposição mineral da dentina. (MENDIS; DARLING, 1976 apud GORACCI; MORI, 1995). Pode-se considerá-la como um complexo hidratado composto por quatro

elementos: 1- túbulos dentinários preenchidos por prolongamentos celulares e 2- fluidos, 3- uma DPT altamente mineralizada cercada por uma matriz intertubular que é composta amplamente por 4- colágeno e depósito de cristais de apatita. (BUTLER, 1992; MARSHALL JR., 1993).

As fibras colágenas constituem o maior componente estrutural da matriz dentinária intertubular. Essa matriz orgânica é constituída aproximadamente por 90% de colágeno tipo I e geralmente é uniforme em composição e conformação por todo o tecido (BUTLER, 1992). Lipídios, mucopolissacarídeos e alguns componentes protéicos não identificados constituem cerca de 0,2% do conteúdo dentinário, e contém um pouco menos de 1% de ácido cítrico (GORACCI; MORI, 1995).

O conteúdo mineral da dentina é encontrado em duas áreas: na DIT, entre os túbulos dentinários e em íntimo contato com as fibras colágenas, e concentrado na DPT. Os cristais de apatita são muito menores que a apatita encontrada no esmalte e, portanto, mais difíceis de serem estudados. (MARSHALL JR., 1993). Portanto, cada túbulo dentinário possui um colar de DPT hipermineralizada, rica em minerais de hidroxiapatita e concentração insignificante de colágeno, e a DIT, rica em colágeno, que vai diminuindo em direção à polpa (COSTA; MESAS; HEBLING, 2000).

A área ocupada pelos túbulos dentinários, matriz peritubular e matriz intertubular da dentina oclusal foi calculada por Pashley (1986). A área dos túbulos e o diâmetro variaram em torno de 22% e 2,5µm, próximo à polpa, respectivamente e, 1% e 0,8µm, próximo à junção amelo-dentinária (JAD). Cada túbulo dentinário é como um cone invertido, com uma pequena dimensão próxima à JCE e ampliando essa dimensão em direção à polpa (PASHLEY, 1996), convergindo da pré-dentina em direção à junção cimento-esmalte (JCE), na coroa e até o cimento, na raiz. (GORACCI; MORI, 1995).

Mjör e Nordahl (1996) realizaram um estudo com o intuito de examinar a densidade e as ramificações dos túbulos dentinários em diferentes regiões de dentes humanos através de microscópio óptico e M.E.V. A densidade dos túbulos foi anotada após desmineralizar e corar os espécimes para análise em microscópio óptico. As ramificações foram estudadas em espécimes desmineralizados e não desmineralizados, corados ou não, e avaliados em ambos os microscópios. Os espécimes foram fraturados no sentido longitudinal e horizontal para análise dos túbulos. Diferenças estatisticamente significantes foram encontradas entre a densidade dos túbulos, dependendo da localização. Entre a porção periférica e interior, essas diferenças de densidade foram mais marcantes na coroa comparadas à raiz. A média de túbulos presentes na porção mediana da raiz foi significativamente menor que a média de

túbulos na porção mediana da coroa. O número de ramificações dos túbulos foi particularmente abundante nos locais aonde a densidade dos túbulos era menor. O padrão de ramificações revelou-se complexo, com um sistema de anastomoses cruzando toda a DIT.

Goracci e Mori (1995), com o objetivo de observar as mudanças morfológicas nas estruturas tanto na dentina como nos túbulos dentinários, em dentes saudáveis, realizaram análises em M.E.V. em diferentes níveis de amostras de dentina de acordo com a distância pulpar. Após a remoção dos odontoblastos, a pré-dentina apareceu apenas composta por fibras colágenas e com 15µm de espessura. Nesse mesmo nível, os túbulos dentinários apresentaram um diâmetro de 4µm e esse valor foi diminuído progressivamente à medida que a dentina foi se distanciando da polpa. A superfície interna dos túbulos apareceu lisa e mostrou a confluência de muitos canaliculos laterais. Os túbulos dentinários terminavam formando ramificações as quais se difundiam externamente até entrarem em contato com a superfície do esmalte.

Para a análise da composição da parte inorgânica da dentina, são utilizados instrumentos sofisticados e pontas sensíveis para avaliar os componentes anatômicos presentes, sendo que cada instrumento apresenta vantagens específicas e limitações. Entretanto, as informações podem complementar-se e o uso de muitos métodos, freqüentemente é necessário para uma compreensão melhor dos componentes das superfícies. (MARSHALL JR., 1993). Um dos métodos preferidos é a espectroscopia de difração de energia (E.D.S.), que permite uma análise do topo das camadas atômicas da superfície das estruturas, mas não apresenta resolução espacial e não pode distinguir entre DPT e DIT da superfície dentinária exposta.

O maior constituinte inorgânico presente na dentina é o cálcio, seguido do fósforo e em menores concentrações, carbonato, sódio e magnésio, nessa ordem, sendo a razão cálcio-fósforo de 1.57. (DRIESSENS; VERBEECK, 1990 apud MARSHALL JR., 1993).

Desde o estágio de desenvolvimento até seu amadurecimento, a dentina sofre transformações no grau de mineralização de suas partes. É um processo contínuo que pode ocorrer fisiologicamente, com a idade do indivíduo, sendo que depois da formação da dentina primária, os odontoblastos continuam a formar dentina de maneira mais lenta (dentina secundária ou fisiológica) ou patologicamente onde, na presença de determinados estímulos, como uma forma de resposta do complexo dentinopulpar, forma-se a dentina terciária, a curto, médio e longo prazo. (MJÖR; HEYERAAS, 2001). Enquanto houver atividade odontoblástica, haverá deposição mineral que ocorre na superfície da DPT, da JAD em direção à polpa, obliterando os túbulos dentinários. Esse fenômeno é chamado de

esclerosamento dentinário e a consequência mais importante desse processo é que a dentina se torna menos permeável. (MONDELLI et al., 1998).

Em dentes recém-erupcionados, nenhuma DPT foi encontrada próxima à pré-dentina. Como resultado do processo patológico e com o avanço da idade, a DPT vai-se distanciando da polpa e aumentando em espessura e, com o tempo, pode obliterar completamente o orifício do túbulo dentinário. (DUKE; LINDEMUTH, 1991).

Normalmente, a dentina é coberta por esmalte em sua porção coronal e por cemento em sua porção radicular. Quando a dentina é exposta ao meio bucal, o fluido intratubular que preenche os túbulos dentinários fica livre para se movimentar em resposta aos estímulos térmicos, osmóticos, de evaporação e táteis. O movimento desses fluidos através dos túbulos é capaz de causar irritação mecânica, desordem e danos, dependendo da intensidade da força do movimento nos odontoblastos, terminações nervosas, fibroblastos e vasos sangüíneos. Na ausência dos movimentos desses fluidos, os túbulos preenchidos pela água se tornam vias de difusão para substâncias nocivas (como as bactérias) penetrarem e se difundirem para a polpa. (PASHLEY, 1996). Em curto tempo, a polpa responde a esses insultos com uma resposta inflamatória que causa um movimento do fluido externamente à polpa e de macromoléculas. Em longo prazo, o tecido pulpar produz dentina terciária como uma resposta biológica responsável pela redução da permeabilidade do complexo dentinopulpar e com a intenção de devolver a condição normal desse complexo. Essas respostas da polpa diante da irritação na dentina demonstram a natureza dinâmica do complexo dentinopulpar.

A variação na permeabilidade depende da área, das irregularidades tubulares associadas à deposição mineral, componentes inorgânicos dos prolongamentos odontoblásticos e depósitos de colágenos intratubulares. (PASHLEY, 1986).

Pouco se conhece a respeito do controle biológico da aposição de DPT. (PASHLEY, 1996). Presumidamente, esse é um processo lento, menor que a formação de dentina secundária na câmara pulpar. Esse processo de deposição mineral pode ser acelerado por uma atrição oclusal (MENDIS; DARLING, 1976 apud GORACCI; MORI, 1995) e outras formas de irritação pulpar. Quando a dentina é exposta ao processo de atrição, ocorre uma série de movimentos de fluidos para fora dos túbulos dentinários. Entretanto, a completa composição do fluido dentinário é desconhecida, aparentemente formada por um produto iônico de cálcio e fosfato, semelhante ao produto de solubilidade de várias formas do fosfato de cálcio. Isso deve tender a formar depósitos minerais no interior dos túbulos e em diferentes formas, desde que os fluidos dentinários apresentem uma grande quantidade de íons minerais que se movam

externamente para as paredes dos túbulos dentinários, podendo ocorrer, por difusão, o selamento desses túbulos. (MJÖR; FEJERSKOV, 1985).

A perda de estrutura dentária, como nas LCNC freqüentemente, é marcada pela dentina esclerótica ou translúcida, desde que os depósitos minerais obliterem a abertura dos túbulos dentinários. Provavelmente tais depósitos guiam a um aumento na dureza e induzem a mudanças nas características ópticas da dentina, deixando-a com uma aparência transparente.

Mixson et al. (1995) realizaram um estudo com o propósito de caracterizar morfolologicamente e quimicamente *in vivo* as lesões cervicais de erosão e abrasão. Foram selecionados 8 dentes livres de cárie para caracterizar a orientação dos túbulos dentinários em diferentes localizações. Impressões iniciais foram tiradas das lesões cervicais com polivinilsiloxano. As superfícies das lesões foram condicionadas com ácido fosfórico a 37% por 30 segundos, lavadas e secas. Impressões foram feitas após o condicionamento com o mesmo material. Foi vazada resina epóxica em ambas as moldagens das lesões (iniciais e condicionadas), cobertas com ouro-paladium e examinadas em M.E.V. A dentina foi coletada com brocas esféricas nº1/2 e escavadores de dentina para análise em espectroscópio fotoacústico (FTIR). Os resultados mostraram orientação lateral dos túbulos dentinários nas margens gengivais e oclusais das paredes das lesões. Em secção horizontal, os túbulos mostraram-se abertos na porção mais profunda. A razão mineral/proteína no espectro FTIR/PAS da dentina esclerótica sugeriu um aumento no conteúdo mineral da amostra de dentina *in vivo*.

Yoshiyama et al. (1996) mostrou que a eficácia dos sistemas adesivos é reduzida quando aplicada na dentina de LCNC. Esse fato é atribuído à dificuldade de condicionar esse substrato.

Marshall et al. (2000) incluíram em um estudo dentes com lesões cervicais de abfração que apresentavam dentina esclerótica, porém livres de cárie. Eles buscaram determinar as mudanças microestruturais e o intervalo de desmineralização da zona translúcida com ácido cítrico (pH 2.5, 0,018M) através da microscopia de força atômica. Os dentes utilizados foram dentes com lesões de abfração (n=3), dentes sem lesão (n=3) e terço médio coronário de terceiros molares extraídos (n=4). Discos altamente polidos de dentina com espessura de 1 a 1.5mm foram preparados com esses dentes e com as superfícies expostas perpendiculares ao longo eixo dos túbulos dentinários. Desse modo, as amostras foram cortadas paralelas à superfície radicular translúcida e sem lesão e paralelas à superfície oclusal das amostras de dentina oclusal. As amostras foram condicionadas em intervalos de 5 segundos a 1 min e entre longos intervalos até alcançar 30 minutos. Na dentina esclerótica observou-se que

muitos túbulos estavam obstruídos por depósitos cristalinos, sendo claro que esses depósitos desmineralizam mais lentamente que outros componentes da dentina. Exceto pela ausência dos depósitos minerais, as mudanças associadas à desmineralização foram qualitativamente semelhantes entre a dentina esclerótica e a normal. A DIT das amostras com esclerose foi mais resistente à desmineralização comparada à dentina radicular normal.

Pashley (1986) refere-se à dentina como um substrato dinâmico sujeito a contínuas alterações, e o padrão de alteração parece estar diretamente relacionado com o tipo de injúria que o dente sofreu. A resposta dentinária relacionada às mudanças microestruturais e químicas relativas ao processo carioso, tem sido extremamente investigada. Existe um consenso de que a dentina imediatamente adjacente à atividade cariosa (camada translúcida) sofre um aumento no conteúdo mineral comparado com a dentina saudável. Mais impressionante ainda são as mudanças intratubulares observadas nessa zona. As obstruções dos túbulos dentinários com largos depósitos cristalinos têm sido descritas. (BRADFORD, 1958; FRANK; VOEGEL, 1980). Estudos ultra-estruturais e de difração elétrica de raios-X têm demonstrado a natureza de *whitlockite* (beta-tricálcio fosfato) desses cristais que podem ocluir os túbulos completamente. Esses cristais são gradualmente depositados e imediatamente após a progressão da lesão cariosa, possivelmente através da recristalização da apatita dissolvida.

Entretanto, com relação às LCNC, são limitadas as informações sobre as modificações na composição e morfologia que acompanham o desenvolvimento dessas lesões. (DUKE; LINDEMUTH, 1991). Calcificações similares nos túbulos dentinários têm sido relatadas em dentes que apresentam atrição oclusal e abrasão cervical.

Yoshiyama et al. (1989) examinaram a morfologia de dentes sensíveis com abrasão cervical, demonstrando obliterações tubulares em áreas naturalmente dessensibilizadas da dentina com vários cristais romboidais de diferentes formas e tamanhos.

Duke e Lindemuth (1991) submeteram dentes com LCNC a vários exames morfológicos. Dentes com LCNC foram coletados e categorizados. Antes das extrações, os examinadores já calibrados anotaram dados sobre a coloração da dentina, idade, sexo dos pacientes e sensibilidade dentinária. Os dentes foram armazenados em solução salina. Apenas o terço cervical permaneceu para análise, sendo que as lesões cervicais foram seccionadas longitudinalmente. Os espécimes foram submetidos à análise em M.E.V. Consistente com os resultados de Yoshiyama et al., 1989, a superfície dentinária de dentes não-sensíveis apresentaram grande quantidade de túbulos obliterados, revelando os cristais romboidais.

Hoje, as correntes estratégias adesivas em dentina têm sido focadas na composição e estrutura normal da dentina não afetada. Nos casos das LCNC, que apresentam uma grande quantidade de dentina esclerótica, os adesivos dentinários desenvolvidos para estabelecer retenção mecânica nos orifícios tubulares, ou diretamente sobre uma composição específica da dentina, irão falhar. Experimentos clínicos devem ser conduzidos de acordo com os tipos de dentina já definidos.

2.2 ETIOLOGIA DAS LCNCs

Os fatores que induzem à formação das LCNC não foram, ainda, completamente compreendidos. (PEGORARO et al., 2005). Apesar das suas características próprias, o diagnóstico nem sempre é imediato, requerendo atenção aos aspectos clínicos como a presença de HD, a localização e morfologia da LCNC, a anamnese (considerando a história clínica, hábito alimentar e higiene oral), assim como eventual para-função e concomitância multifatorial. (GALLIEN; KAPLAN; OWENS, 1994; ERAMO et al., 2003; PEGORARO et al., 2005).

As LCNC são classificadas fundamentalmente de acordo com o mecanismo de causa inicial das lesões: abrasão, erosão, atrição e abfração ou lesão de estresse oclusal (GALLIEN; KAPLAN; OWENS, 1994; ERAMO et al., 2003; CERUTTI et al., 2006) e, de acordo com a literatura, conclui-se que sejam as terminologias mais aceitas para a perda dos tecidos duros dos dentes sem que haja envolvimento da doença cárie (**tabela 1**).

Tabela 1 – Definição das diferentes etiologias das LCNCs. (Adaptado Kelleher; Bishop, 1999)

ETIOLOGIA	DEFINIÇÃO
EROSÃO	Perda progressiva do tecido dental duro causado por processo químico sem envolvimento da ação de bactérias.
ABRASÃO	Desgaste patológico do tecido dental através de um processo mecânico anormal envolvendo objetos estranhos ou substâncias de forma repetida em contato com os dentes.
ATRIÇÃO	Desgaste do tecido duro dental resultante do contato dente contra dente causado pela mastigação ou contato entre as superfícies oclusais e proximais.
ABFRAÇÃO	Processo mecânico que envolve a deflexão dos dentes devido a forças oclusais excêntricas.

Benevise et al. (1993); Gallien, Kaplan e Owens (1994) consideraram que a etiologia e a classificação das lesões cervicais não cariosas ainda não estão bem esclarecidas, refletindo numa confusa terminologia. Relatam que embora os termos abrasão, erosão, atrição e

abfração tenham diferentes significados, eles são freqüentemente utilizados pelos dentistas de maneira permutável no diagnóstico de LCNC. Segundo Grippo e Simring (1995), devido à confusão que existe na aplicação do termo erosão, é fundamental que uma definição uniforme seja estabelecida entre os cientistas. A adoção dos termos corrosão (deterioração física de um material por ataque químico ou eletroquímico ou erosão dental), estresse por corrosão (estresse na presença de uma substância corrosiva), abfração e lesões combinadas que se referem às lesões dos dentes irão permitir uma descrição mais acurada dos eventos dinâmicos atualmente conhecidos, que acontecem na boca.

A erosão, termo derivado do latim *erodere*, ocorre devido às agressões químicas por ácidos, usualmente pelos processos químico ou eletrolítico que provocam perda de tecido mineralizado, um processo que não envolve bactérias e pode ocorrer em qualquer superfície de qualquer dente. (LEVITCH et al., 1994; GRIPPO; SIMRING, 1995; IMFELD, 1996). Essas agressões devem atuar por um longo período na cavidade oral, caracterizando lesões com perdas uniformes de tecido mineralizado em forma de U ou de pires iniciando-se na margem gengival e estendendo-se em direção à região oclusal. No esmalte, a superfície erodida aparece lisa e polida, as periquimáceas estão normalmente ausentes e a área de erosão pode ou não estar descolorada. Na dentina, os ácidos atuam desmineralizando primeiramente a DIT e depois a peritubular. Entretanto, pouco se sabe a respeito das mudanças morfológicas que ocorrem com o desenvolvimento dessas lesões de erosão na dentina. (LEVITCH et al., 1994; CERUTTI et al., 2006). Meurman e Ten Cate, 1996, em uma revisão, citam que qualquer solução com pH abaixo de 5.5, pH crítico do esmalte, pode causar erosão, principalmente se essa atuação for de longa duração e de repetidas vezes. A saliva e a película salivar controlam a ação do ácido, mas, se a mudança for muito severa, ocorrerá a destruição dos tecidos mineralizados.

De acordo com a revisão dos mesmos autores, estudos têm mostrado que as lesões de erosão são vistas no esmalte prismático como característica do padrão de desmineralização, onde os prismas e as áreas interprismáticas se dissolvem, deixando uma estrutura com característica de cera de abelha. No esmalte aprismático, o padrão de desgaste é mais irregular e são vistas áreas com vários níveis de perda mineral lado a lado. Na dentina, a primeira área a ser desmineralizada é a DPT. Com a progressão da lesão, os túbulos se tornam mais amplos e finalmente é visto um rompimento na DIT. Se a erosão ocorre de forma rápida, a HD aumenta, tornando-se um sintoma presente. Em casos de progressão lenta, o paciente pode relatar ausência de sintomatologia, o que nos leva a crer no bloqueamento dos túbulos dentinários pelo esclerosamento dentinário.

A nomenclatura e a classificação das erosões dentárias normalmente utilizadas na literatura dental são resumidas. Elas estão baseadas na etiologia (extrínseca, intrínseca, idiopática), na severidade clínica (classe I a III), na atividade patogênica (manifestante ou latente) e na localização (perimólise). (IMFELD, 1996).

Os ácidos podem originar-se da dieta (sucos de frutas, bebidas gaseificadas, frutas cítricas, vinagre, iogurtes, etc...), de medicações ou drogas, do ar no ambiente de trabalho como ácidos industriais ou água das piscinas, denominados como erosões extrínsecas. Patologias sistêmicas como refluxo gastroesofágico, alcoolismo, xerostomia, problemas gastrointestinais como esofagites, úlceras duodenais e pépticas, hérnia de hiato e gravidez também estão relacionadas a esse tipo de lesão e possuem causas de origem somáticas. (LEVITCH et al, 1994; IMFELD, 1996; CERUTTI et al., 2006).

A erosão intrínseca é resultado da ação de ácidos de natureza endógena. De acordo com Pereira (1995), a regurgitação pode contribuir para o aparecimento dos ácidos na boca, como resultado de bulimia, anorexia nervosa e causas psicossomáticas que, associadas com distúrbios salivares, levam à exacerbação da doença. As lesões provenientes desses ácidos mostram-se amplas e sem bordas definidas, com aspecto de pires e são comumente encontradas na face palatina deixando essa superfície plana e lisa.

O termo abrasão veio do latim *abradere*, *abrasi*, *abrasum* (lixar, escovar, ranger, esfregar). A causa principal da abrasão são os traumas mecânicos repetitivos envolvendo objetos estranhos introduzidos na boca, como escovação incorreta (técnica horizontal), escova de dente com cerdas duras, pressão excessiva durante a escovação, a abrasividade e a quantidade e o uso sistemático do palito de dentes. A presença comum de lesões cervicais, recessões gengivais e uma boa higiene bucal têm suportado a idéia de que a escovação está envolvida no desenvolvimento da lesão de abrasão, entretanto, as lesões cervicais de abrasão parecem apresentar etiologia multifatorial. Dependendo da etiologia da abrasão e do padrão de desgaste, a lesão pode ser difusa ou localizada. O aspecto desse tipo de lesão é caracterizado pelo formato de pires, com a superfície lisa e brilhante e margens bem definidas. (LEVITCH et al., 1994; IMFELD, 1996; CERUTTI et al., 2006). Entretanto, ela pode apresentar uma grande variedade de formas.

A atrição, termo também derivado do latim: *attere*, *attrivi*, *attritum*, descreve a ação de friccionar contra alguma coisa. Clinicamente falando, a atrição dental é usada para descrever o desgaste fisiológico do dente como resultado do contato dente contra dente, sem a presença de objetos estranhos interferindo nesse desgaste. Tais contatos acontecem durante o processo de trituração, deglutição, fala e quando erguemos objetos pesados. As superfícies proximais

também são afetadas durante a mastigação. Esse tipo de desgaste induz à formação de facetas e o grau de desgaste está relacionado, principalmente, com a idade. (IMFELD, 1996).

Segundo Lee e Eakle (1984), não é possível explicar a formação de todas as lesões cervicais apenas pelo mecanismo de erosão e abrasão. Em um mesmo paciente, nem todo o dente é afetado por essas lesões, e tais lesões podem-se desenvolver na região subgengival a qual deveria estar protegida por injúrias mecânicas e químicas. Eles sugeriram a teoria da oclusão, onde o estresse de tensão das sobrecargas oclusais poderia estar envolvido na patogênese das LCNC; e que o estresse de flexão aplicado nos dentes poderia causar a desorganização da superfície do esmalte, resultando no aumento da susceptibilidade à dissolução e abrasão nos locais afetados e no desenvolvimento das lesões em forma de cunha.

Em 1991, Grippo introduziu o termo abfração como uma quarta classificação das lesões dos tecidos dentais duros descritas por Lee e Eakle (1984). Derivado também do latim, *frangere*, é utilizado para descrever uma forma particular de defeito em forma de cunha com bordas bem nítidas na região da JCE dos dentes (CERUTTI et al., 2006) e raramente como uma forma oval ou crescente dentro do esmalte.

O mecanismo proposto mais recentemente para a formação da LCNC é que ela ocorre durante a função de mastigação normal, mas especialmente durante uma para-função, como bruxismo ou apertamento, componentes de cargas paralelas ou oblíquas ao plano oclusal que podem causar uma deflexão nos dentes. Quando um dente é forçado no seu eixo axial, as forças são dissipadas com o mínimo de estresse para o esmalte e dentina. Se a direção dessa força ocorrer de forma lateral, os dentes serão tencionados em direção lateral. O padrão de estresse na mesma área vai alternando continuamente de compressão para tensão, principalmente na região abaixo do esmalte, sendo que a dentina comporta-se de forma mais resistente que o esmalte quando submetida às forças laterais. (GRIPPO, 1991; LEVITCH et al., 1994). Essa alteração cíclica de compressão para tensão pode atingir o limite de fadiga e conduzir a ruptura química entre a união dos cristais de hidroxiapatita. (COLEMAN; GRIPPO; KINDERKNECHT, 2000). A hipótese dessa ruptura é de que as moléculas de água e substâncias de lítio penetram nas microfraturas entre os cristais, não deixando ocorrer um reparo químico, impedindo a regeneração da união interprismática, gerando a formação de lesões microscópicas.

Na região cervical, onde o esmalte é menos aderido à dentina comparado às outras áreas, ele se desgruda mais facilmente da dentina durante o movimento de flexão, deixando uma área de dentina exposta aos efeitos da erosão e da abrasão (LEE; EAKLE, 1984),

podendo resultar numa HD devido a uma progressiva exposição dos túbulos dentinários. (CERUTTI et al., 2006).

A espessura do esmalte diminui progressivamente da superfície oclusal em direção a superfície cervical, com o intuito de alcançar a superfície radicular composta pelo cimento. (CIANCIONI, 2000 apud CERUTTI et al., 2006). A JCE pode aparecer com três diferentes configurações anatômicas: o esmalte sobrepondo-se ao cimento, cimento e esmalte superpostos pelos terminos e uma fenda entre esmalte e cimento, deixando dentina exposta.

Com o intuito de estabelecer a distribuição das variáveis da junção cimento-esmalte, Muller e Wyk (1994) analisaram 152 dentes com extração indicada. A variável mais comum foi onde o esmalte e cimento encontravam-se sobrepostos pela margem (49,2%), seguido pela sobreposição do esmalte sobre o cimento (33,1%) e a existência de um *gap* entre o esmalte e o cimento (17,7%). Essas proporções apresentaram-se em todas as superfícies dos dentes, com exceção da junção tipo *gap* que ocorreu com maior frequência nas superfícies vestibulares e linguais comparadas as mesiais e distais. Eles acreditam que isso esteja relacionado à abrasão do cimento pelos procedimentos de escovação. Os achados desse estudo foram contrários à corrente que acredita ser mais comum a junção onde esmalte sobrepõe-se ao cimento.

Várias pesquisas observaram que a dentina apresenta projeções no esmalte na região de junção entre eles. Essas numerosas projeções no esmalte possuem uma aparência de múltiplas concavidades onde o esmalte se liga. Doukoudakis et al. (1997) realizaram um estudo com 70 dentes recém-extraídos com o objetivo de analisar a dentina na região da JAD usando o M.E.V. Uma ranhura foi realizada na região de convexidade do dente com uma broca diamantada e com um guia de profundidade até a face oclusal. Os resultados mostraram existência dessa propagação dentinária no esmalte, a qual foi chamada de redes de celas, e que estavam ausentes nas áreas cervicais. Em dentes que apresentavam desgaste ou atrição, essa rede estava ausente. A diminuição da propagação nos dentes posteriores se deu a partir do ponto de contato proximal em direção a área cervical dos dentes, onde a dentina apresentou-se completamente plana. As observações anotadas foram que as forças oclusais podem causar mudanças nas regiões cervicais, chamadas abfrações, e que o esmalte cervical é fino e não apresenta as mesmas orientações que o esmalte oclusal, sendo a ligação entre esmalte e dentina ausente de retenções mecânicas.

Benevius et al., 1993, em seus estudos, documentaram a micromorfologia das LCNC em seis sujeitos (3 homens e 3 mulheres) utilizando o M.E.V. e o microendoscópio. Parâmetros salivares foram avaliados e uma anamnese incluindo higiene bucal, hábitos

alimentares, detalhes médicos e dentais. Os seguintes parâmetros salivares foram anotados: estímulo de secreção e capacidade tampão. Para análise em M.E.V., foram realizadas réplicas das lesões cervicais com silicona de adição e as impressões foram vazadas em resina epóxica. Lesões de diferentes severidades foram observadas em um mesmo sujeito. Fraturas longitudinais no esmalte foram comuns. Nas análises da dieta não foram observadas ocorrências especiais e os valores salivares estavam normais. Nenhuma relação foi encontrada entre hábitos de escovação, localização e severidade das lesões, pois cada indivíduo possuía hábito de dieta e escovação diferente. Anotações óptico-eletrônicas foram realizadas durante o movimento de excursão da mandíbula e foi indicada uma possível relação entre excursão lateral, severidade e localização das lesões, com uma tendência menor e menos severa dessas lesões no lado da mastigação. A conclusão dos autores foi que os hábitos de escovação e a abrasão dos dentifrícios não necessariamente iniciam as lesões, mas influenciam na progressão de uma lesão iniciada por outros fatores.

Levitch et al. (1994), observaram que a maior parte dos dentistas acredita que os possíveis mecanismos associados com o desenvolvimento das LCNCs apresentam-se como fatores isolados quando, em muitos pacientes, os fatores estão associados a mais de um mecanismo. Uma lesão pode ter início devido a um fator químico, entretanto, pode ser exacerbada pela abrasão ou vice-versa. Realizaram um estudo com o intuito de rever as evidências de cada fator etiológico correlacionando-as com as características das lesões, como podemos avaliar na **tabela 2** seguinte.

Tabela 2 – Características das LCNCs de acordo com a etiologia (proposto por Levitch et al., 1994)

	erosão	abrasão	abfração
localização	lingual ou vestibular	vestibular	vestibular
forma	U ou disco, raso	cunha ou ranhuras	cunha
margens	indefinidas	nítidas	nítidas
superfície do esmalte	lisa, podendo ser polida	lisa, com ranhuras	rugosa, inicialmente com aspecto irregular

Devido a estudos prévios que tendem a focar em uma causa específica para as LCNC, Bader et al., 1996 tiveram como objetivo expor resultados de uma análise para examinar a relação entre as LCNCs e a exposição a variados fatores de risco, devido a evidências inconclusivas de possuir etiologia multifatorial. As três supostas causas das LCNC relatadas foram: erosão, abrasão e flexão dentária. Os pacientes selecionados apresentavam idade mínima de 18 anos, mínimo de 20 dentes e ausência de próteses parciais tanto para os casos controles (ausência de lesões) como para os casos com LCNC (com uma ou mais lesões).

Obtiveram-se, dessa forma, 264 pacientes onde 137 eram do grupo com lesões e 127 do grupo controle. Foram realizados exames clínicos das áreas cervicais de cada dente, análise da dieta e do questionário de respostas. Os resultados desse estudo sugeriram que as LCNCs possuem caráter multifatorial.

Com o propósito de investigar *in vivo* a relação entre os fatores de estresse oclusal, o estado de saúde periodontal e o padrão de dieta ácida na presença de LCNC, Mayhew, Jessee e Martin (1998) realizaram um estudo baseados nesses parâmetros, em dentes de adultos. Foram selecionados 43 pacientes que possuíam uma ou mais LCNC, obtendo um total de 178 dentes. Os pacientes passaram por alguns critérios de exclusão. Dados demográficos (como idade, sexo, raça) também foram coletados. A análise da dieta foi baseada em um questionário de 40 perguntas, durante 6 períodos, onde o tipo de comida ingerido era anotado durante as 24 horas, mostrando a típica nutrição diária de cada paciente. As perguntas estavam concentradas em identificar a ingestão, o consumo de comidas e bebidas ácidas. O exame periodontal baseou-se num exame clínico de sondagem de bolsa, avaliação da mobilidade dentária e radiografias periapicais para analisar o nível ósseo mesial e distal dos dentes, pelo método de Schei ruler. Os fatores oclusais avaliados foram: orientação e forma das LCNCs, presença e localização das facetas de desgaste e os sintomas e característica da oclusão em função cêntrica e excêntrica. Os resultados mostraram que 95% dos dentes examinados apresentaram facetas de desgaste funcional indicando uma relação sistemática com a presença das LCNCs, sendo que 48% das LCNCs estavam presentes na face vestibular dos dentes, 64% acompanhadas de interferência no contato de balanceio durante excursão lateral, 98% apresentaram mobilidade com valores ≤ 1 , não havendo associação significativa entre mobilidade e facetas de desgaste presente, e nenhuma relação foi encontrada com os padrões de dieta. A função em grupo, que pode estar relacionada com idade e com fatores de traumas oclusais, pode ser considerada etiologia das LCNCs. Os resultados desse estudo continuam suportando o conceito da etiologia multifatorial das LCNCs e que controles clínicos longitudinais são necessários para confirmar a suspeita da etiologia e estabelecer tratamento para as LCNC.

Sobral e Garone Netto (1999) selecionaram 32 pacientes que relataram HD e examinaram os dentes com LCNC para identificar a etiologia, sendo avaliados 97 dentes. Com base na anamnese e nos exames clínicos efetuados, classificaram as LCNCs em: abrasão, erosão ou abfração. Observaram-se a presença de dor a diferentes estímulos como escovação, jato de ar, alimentos frios e quentes, número de escovação diária, tratamento periodontal nos últimos seis meses e ingestão diária de frutas, sucos de frutas ou refrigerantes.

O exame clínico foi realizado aplicando a ponta fina de uma sonda exploradora e jato de ar na região sensível. Eles concluíram que em relação à etiologia das LCNCs relacionadas à HD destacam-se fatores como: melhor e constante (excessiva) higienização, tratamento periodontal, consumo de alimentos ácidos e trauma oclusal. Também associaram as LCNCs pequenas e radiculares à HD, sendo os pré-molares os dentes mais afetados. As LCNCs de abrasão foram as que apresentaram maior grau de sensibilidade.

Uma variedade nas teorias sobre a patogênese da LCNC tem sido colocada à frente. Segundo Burke et al., 2000 existem algumas evidências de que a sobrecarga oclusal pode ser um fator que contribui na formação das LCNC por gerar uma resposta inflamatória na membrana periodontal e produzindo enzimas responsáveis pela reabsorção do terço cervical. As lesões de reabsorção osteoclástica em felinos (FORL) estão associadas a mudanças nos níveis enzimáticos antes e subseqüentemente ao desenvolvimento dessas lesões. Essas lesões de reabsorção são caracterizadas por concavidades na estrutura dos dentes e são mais comumente encontradas na JCE. Histologicamente, a destruição do tecido dental é caracterizada pela digestão celular por células gigantes semelhante aos osteoclastos e as lesões estão circundadas por essas células. As FORL são extremamente dolorosas e estão associadas com irritação e movimentos de ranger durante a mastigação dos felinos e ocorrem devido ao trauma oclusal crônico. A patogênese da LCNC tem sido relacionada ao trauma oclusal, por isso os autores sugerem que pesquisas devam ser desenvolvidas para observar se existe uma correlação entre esses dois tipos de lesão, pois a morfologia das mesmas é semelhante àquela da esfoliação dos dentes decíduos causado pela atividade de reabsorção dos osteoclastos.

Telles, Pegoraro e Pereira (2000) realizaram um estudo para avaliar as LCNCs em pacientes jovens e estabeleceram uma possível relação com aspectos oclusais. Foram investigados 48 estudantes, sendo 28 homens e 20 mulheres entre 16 e 24 anos de idade. A avaliação envolveu um questionário, exame clínico e análise de modelos. Após o exame clínico, foram tiradas impressões dos arcos dos 44 estudantes que possuíam LCNC, utilizando silicona de condensação. Uma lente de aumento de 4 vezes foi utilizada para a análise dos modelos, para facilitar a visualização de facetas de desgaste e relacioná-las com a presença das LCNC. Os resultados mostraram que os primeiros molares inferiores (21.3%), os primeiros molares superiores (16.0%), os primeiros pré-molares superiores (12.8%), os primeiros pré-molares inferiores (11.7%) e os segundos pré-molares inferiores (11.7%) foram os dentes mais afetados por essas lesões. Os estudantes que apresentaram as LCNCs foram os mais velhos. Entre os 79 dentes que apresentaram lesões cervicais, 62 (78.5%) apresentaram

facetas de desgaste, sugerindo que o estresse oclusal possui algum efeito no desenvolvimento das LCNCs.

Pintado et al. (2000) tiveram como propósito investigar se o desgaste oclusal possuía alguma correlação com o aumento no tamanho das LCNCs. Eles utilizaram 3 dentes de um paciente onde a perda de contorno cervical e oclusal foi medida utilizando-se técnicas digitais e de visualização em 3 intervalos de tempo, por um espaço de tempo de 14 anos. Modelos-base foram feitos em 1983, 1991, 1994 e 1997, os quais foram replicados com resina epóxica. A superfície de todas as réplicas foi digitalizada com um sistema de contato e foram sequencialmente colocadas juntas e analisadas por um software AnSur-NT. Clinicamente, a perda do contorno da superfície em volume e em profundidade do primeiro molar inferior esquerdo e primeiro e segundo pré-molares foi anotada. A correlação entre a perda de volume cervical e oclusal foi forte ($r^2=0.98$) e significativa ($p< 0.0001$), mostrando haver uma correlação direta entre o desgaste oclusal e o aumento de LCNC.

O pH dos sucos de fruta e das bebidas gaseificadas é baixo e, portanto, são relacionados com o aumento da incidência da erosão, dependendo da habilidade de uma bebida resistir às mudanças de pH induzidas pela capacidade tampão da saliva. Edwards et al. (1999) tiveram como objetivo medir o pH inicial de uma ampla variedade de bebidas leves e determinar a capacidade tampão de cada uma. Os seguintes grupos de bebidas foram testados: suco de fruta puro, bebidas gasosas à base de frutas, bebidas gasosas sem a presença de frutas, águas aromatizadas e água mineral gasosa. A aferição do pH foi feito usando-se um eletrodo de pH conectado ao analisador iônico Orion EA940. Cem mililitros de cada bebida foi tratado com 1M de hidróxido de sódio, adicionado em incrementos de 0,5 ml até o pH chegar a 10. Cada tratamento foi repetido três vezes. A média inicial do pH foi menor para as bebidas sem frutas (2.81 ± 0.274) e maior para água mineral (7.4 ± 0.1002). A capacidade tampão pode ser ordenada da seguinte forma: suco de frutas > bebidas gasosas à base de frutas > bebidas gasosas sem frutas > água mineral gasosa > água mineral. Concluiu-se que os sucos de frutas e as bebidas gasosas à base de frutas, com suas capacidades tampão, podem induzir uma prolongada queda no pH oral.

Young e Khan, 2002, realizaram um estudo em um grupo selecionado com desgaste excessivo nos dentes e patologia cervical. O objetivo foi caracterizar e contrastar as regiões onde o problema oclusal estava associado com as lesões cervicais vestibulares ou palatinas/linguais. A hipótese foi a de que as áreas dos dentes mais afetadas seriam aquelas menos protegidas pela secreção salivar serosa e não às áreas onde a atrição oclusal estava associada com as lesões cervicais atribuídas às abfrações. A significância dos achados nesse

estudo seria que a erosão dental causada pela falha na proteção salivar é mais significativa na formação das LCNCs que a hipótese das forças oclusais. Analisaram-se 450 pacientes com desgaste oclusal e identificados 174 pacientes apresentando LCNC. Foi feita uma associação entre atrição oclusal ou erosão ou ausência de desgaste com lesões cervicais de 72 regiões vestibulares e linguais registrando-se as réplicas da dentição dos pacientes com resina epóxica. Utilizou-se um critério para discernir a erosão da atrição e lesões com formas rasas ou em cunha foram delineadas por um M.E.V. Na ausência de patologia oclusal, as lesões cervicais mostraram-se raras (<1%). Na presença de patologia oclusal, as lesões cervicais estavam presentes em 27.71% na região vestibular e 2.61% na região lingual. A região que comumente apresentou lesão cervical foi a face vestibular dos incisivos superiores (36%). A área menos comum foi a região dos molares inferiores (1.7%). Essas diferenças podem refletir o papel de proteção natural da saliva serosa e na película formada pela saliva (principalmente na face lingual dos molares inferiores), não apoiando a teoria de que a abfração é o primeiro fator etiológico das LCNCs.

Segundo Litonjua et al., 2003, o conceito de abfração é controverso. A teoria da abfração é baseada primeiramente em poucos e recentes modelos projetados, como a análise do elemento finito e métodos fotoelásticos. Essas técnicas mostram teoricamente a concentração do estresse na área cervical dos dentes com a aplicação, na maioria das vezes, de cargas estáticas. Evidências clínicas e experimentais são necessárias para mostrar como e se, realmente, esse fenômeno acontece. Desde que evidências têm sido voltadas para uma etiologia multifatorial no desenvolvimento das LCNCs, o papel da abfração como um fenômeno isolado é incerto. Os dados que suportam as hipóteses da abfração permanecem frágeis e dados mais definitivos são necessários para suportar a abfração como uma entidade clínica distinta ou como o primeiro fator das LCNCs. A observação de que o estresse oclusal pode estar associado com as LCNCs não está necessariamente provando que a carga oclusal é o fator primário envolvido no aparecimento dessas lesões.

Litonjua et al., 2004, tiveram como propósito comparar a morfologia de lesões cervicais de abrasão induzidas experimentalmente por escovação em dentes já extraídos que apresentavam LCNC *in vivo*. Dezoito pré-molares extraídos por razão ortodôntica foram sujeitos a 80 horas (1.4 milhões de movimentos) de escovação horizontal em uma máquina de escovação fabricada e adaptada. Uma mistura de pasta de dente e água foi ejetada continuamente e os espécimes foram expostos a 300 g de força na escovação. Foi utilizada uma base de resina para simular a recessão gengival de 1mm e sulco com espessura de 0.1mm. As abrasões cervicais foram avaliadas pelos microscópios óptico e eletrônico de

varredura e classificadas em formato de cunha e formato de pires. Quando as lesões apresentavam ambas as conformações, eram classificadas como mistas. Os formatos das abrasões induzidas experimentalmente foram comparados àquelas lesões de dentes extraídos *in vivo*. Os resultados mostraram metade dos espécimes apresentando lesões do tipo cunha (9/18), 28% (5/18) apresentaram lesões mistas e 22% (4/18) lesões do tipo pires. A abrasão aparentemente teve início na porção apical da JCE, progredindo para a dentina e então chegando ao esmalte com a perda da JCE. As lesões de cunha apareceram com o ápice voltado tanto para apical como coronal ou de forma simétrica.

Pegoraro et al. (2005) conduziram um estudo com o intuito de avaliar a presença de LCNCs em adultos e a possibilidade da associação com aspectos oclusais. Foram examinadas 70 pessoas (35 homens e 35 mulheres) com idade entre 25 e 45 anos, determinando-se a presença e o tipo de LCNC, presença de facetas de desgaste, os contatos dentais na posição de máxima intercuspidação e movimentos laterais e protrusivos. Os pacientes responderam a um questionário e passaram por exames clínicos quando, com uma sonda exploradora, avaliou-se a presença de irregularidades na região da JCE. A presença ou ausência de facetas de desgaste foram relacionadas à presença ou ausência de LCNC. Dentre os dentes avaliados, 17,23% apresentaram lesões cervicais, os quais 80,28% possuíam facetas de desgaste, mostrando haver relação significativa entre elas, ou seja, a presença das facetas deve ser considerada no tratamento das LCNC.

Já, Estafan et al. (2005), com o mesmo propósito de Pegoraro et al. (2005), mostraram ausência de relação entre desgaste oclusal/incisal e a formação de LCNC, assim também como entre os parâmetros avaliados. Eles fizeram moldes (n=299) dos dentes de estudantes, os quais foram articulados em articuladores semi-ajustáveis e avaliados. Os dados anotados incluíram a presença e o contorno das LCNC e a presença, localização e severidade de qualquer desgaste oclusal/incisal. Também foi incluída a classificação de Angle, analisando o padrão da guia oclusal, linha média, presença de saliências, restaurações dentais, mordida cruzada, mordida aberta e a presença de contatos excursivos posteriores. Após a calibração de dois examinadores, estes avaliaram separadamente os moldes. O primeiro examinador avaliou a presença e severidade das LCNCs, presença e extensão das restaurações oclusais e proximais e a presença de mordida cruzada e aberta de todos os dentes. Todas as margens dos dentes foram, então, cobertas por uma tira de cera vermelha com o intuito de cegar o segundo examinador o qual, por sua vez, avaliou a severidade e localização dos desgastes oclusais, presença e ausência de contatos excursivos posteriores, classificação de Angle, padrão de guia oclusal, discrepância da linha média e presença e ausência de saliências.

A variedade de respostas reflete a confusão na compreensão ou, talvez, na falha de concordar na etiologia e na imprecisão do uso das terminologias. (LEE; EAKLE, 1996).

No entanto, o aumento freqüente dessas patologias tem mostrado a necessidade de encontrar um tratamento terapêutico mais adequado. (CERUTTI et al., 2006). O correto diagnóstico é um pré-requisito para um bom tratamento.

Essas lesões de classe V são comumente encontradas em pacientes idosos durante a fase de plano de tratamento, resultado das cáries de raiz, abrasão por escovação, erosão química ou abfração. Além de causar acúmulo de alimentos e retenção de placa bacteriana, os pacientes relatam hipersensibilidade ao ar, aos estímulos mecânicos, térmicos e osmóticos. Entretanto, algumas vezes, a remoção da dor não é suficiente, sendo necessário o uso de materiais restauradores para proteger a superfície dentinária exposta. (COX, 1994; GALLIEN; KAPLAN; OWENS, 1994). A localização radicular da lesão cervical em relação à JCE é de extrema importância, pois quando ela está localizada na porção coronária do dente e cercada por esmalte podemos tratá-la com um procedimento restaurador tradicional. Entretanto, quando a lesão cervical se apresenta mais apical, cercada apenas por cimento, o tratamento clínico se torna mais difícil e muitas vezes impossível pelos métodos restauradores convencionais. Caso essa lesão cervical seja deixada sem tratamento, uma destruição progressiva da raiz irá ocorrer e o aumento da profundidade da lesão colocará em risco a integridade do periodonto, da polpa dental e, conseqüentemente, a oclusão.

Muitos materiais têm sido propostos para restaurar as LCNC como: amálgama (em desuso), cimento de ionômero de vidro, compômeros e resina composta. Os materiais restauradores devem apresentar as propriedades necessárias para suportar as cargas de oclusão mastigatórias e resistência ao desgaste e abrasão. Falhas precoces têm sido descritas na literatura e essas falhas terapêuticas se dão, provavelmente, devido aos mesmos fatores que causam o início das lesões originais. (LEE; EAKLE, 1996; KING, 1999; CERUTTI et al., 2006).

Segundo King (1999), o uso da resina composta associado ao condicionamento ácido do esmalte produzirá um resultado estético satisfatório e duradouro. No entanto, a situação clínica mais encontrada é a presença de lesões cervicais com margens em dentina ou cimento. Nessa situação é necessário um agente de união à dentina, como adesivos dentinários em combinação com a resina composta ou o cimento de ionômero de vidro. A vantagem do ionômero de vidro seria a liberação de flúor, reduzindo a possibilidade de infiltração marginal em pacientes susceptíveis à cárie.

Segundo Lee e Eakle (1996), o acúmulo de evidências durante as últimas décadas tem contribuído significativamente na compreensão do papel da oclusão na etiologia de certas LCNC dos dentes. Mais importante é que esse conhecimento nos tem guiado a compreender as causas de os tratamentos restauradores dessas lesões induzidas pelo estresse falharem. Uma delas pode ser atribuída ao estresse oclusal que fica concentrado na região cervical resultando na falha de adesão, infiltração, falha de retenção e, por último, falha da restauração. Compreendendo esse processo, materiais restauradores que combinam adesão química e materiais com propriedades elásticas apropriadas mostram-se promessas de sucesso em longo prazo.

Os resultados, de Yoshiyama et al., 1996; Marshall Jr. et al., 2000, já descritos, também contribuíram para a compreensão da dificuldade em restaurar tais lesões com os procedimentos adesivos atuais.

Lopes et al. (2004) tiveram como objetivo avaliar a força de microtração adesiva de dois sistemas adesivos, após o condicionamento ácido total por dois intervalos de tempo diferentes (15 e 30 segundos). A hipótese nula a ser testada foi que a força adesiva na dentina esclerótica cervical não aumentaria, aumentando o tempo de condicionamento. Entretanto, a hipótese nula foi rejeitada, pois dobrando o tempo de condicionamento houve um aumento na força adesiva e, clinicamente, a capacidade de desmineralização da dentina é um fator importante a ser considerado quando formos restaurar LCNCs.

O conhecimento detalhado das estruturas dentinárias, especialmente aquelas relacionadas com os túbulos dentinários é essencial a fim de se entender a permeabilidade dentinária e interpretar dados das investigações realizadas com materiais adesivos dentinários. (MJÖR, NORDAHL, 1996).

2.3 TEORIA HIDRODINÂMICA

A lesão cariiosa tem-se destacado como sendo a maior responsável pela sintomatologia dolorosa dos pacientes ultimamente. Nota-se, porém, um crescimento do surgimento das LCNCs produzidas por abrasão, erosão ou abfração as quais, ao promoverem a exposição dentinária, podem desencadear a HD cervical. (SOBRAL; GARONE NETTO, 1999). O conhecimento da anatomia e função dos túbulos dentinários é importante na compreensão da HD. A HD é vista como um fenômeno complexo (GALLIEN; KAPLAN; OWENS, 1994) que envolve tanto alterações fisiológicas como psicológicas do indivíduo. Para se obter êxito no

tratamento da HD, é indispensável descobrir o fator etiológico da LCNC, eliminá-lo e, então, realizar o tratamento.

Algumas vezes, devido aos distúrbios causados pela cárie ou exposição dentinária, os odontoblastos morrem e são substituídos por outros odontoblastos responsáveis pela formação de dentina terciária. Muitas mudanças podem acontecer alterando profundamente a permeabilidade dentinária. Caso os novos odontoblastos não substituam a posição original dos antigos odontoblastos nos túbulos dentinários, novos túbulos poderão ser formados sem continuidade com os antigos, deixando a permeabilidade reduzida. (PASHLEY et al., 2002). Pode ocorrer, ainda, da dentina neo-formada ser atubular, pois muitas vezes os novos odontoblastos não apresentam prolongamentos odontoblásticos e, uma vez mineralizada, essa camada de dentina atubular sela a dentina primária, reduzindo quase a zero a permeabilidade. Outra reação comum da dentina exposta é a deposição de cristais mineralizados no lúmen tubular (dentina esclerótica) os quais também causam redução da permeabilidade caso os odontoblastos sofram apenas uma irritação. Algumas vezes, esses cristais podem obliterar completamente os túbulos, tornando-os impermeáveis.

A sensibilidade dentinária, baseada na teoria hidrodinâmica proposta por Gysi e desenvolvida por Brännström e Aström (1972), se deve a pequenos movimentos dos fluidos dentinários, em direção à polpa ou em sentido contrário, que ocorrem devido a uma resposta a estímulos tácteis, térmicos, mecânicos ou osmóticos, estimulando as terminações nervosas presentes na interface polpa-dentina provocada pela variação de pressão intrapulpar (PASHLEY, 1986; PEREIRA, 1995; SOBRAL; GARONE NETTO, 1999; COLEMAN et al., 2000), dor essa que desaparece imediatamente após a remoção do estímulo gerador.

A ausência de fibras nervosas na dentina explica os seguintes achados experimentais de Brännström e Äström (1962 apud BRÄNNSTRÖM, 1972): a aplicação de cloreto de potássio em uma superfície dentinária exposta não causa dor e a exposição da dentina ao jato de ar e à fricção de uma sonda na superfície dentinária exposta causam.

Brännström e Aström (1972) puderam concluir que a dor causada na dentina pode ser de duas formas. O principal tipo de resposta é a dor aguda imediata, a qual pode ser causada por muitos estímulos como secagem, fricção, jato de ar e frio. Esse tipo de estímulo parece causar um movimento rápido do conteúdo dos túbulos nas terminações nervosas da polpa, causando uma deformação nas fibras nervosas. O segundo tipo de sensação de dor é aquele gerado pelo calor. Esse tipo de estímulo causa movimentação do fluido nos túbulos, de fora para dentro, explicando porque esse tipo de estímulo leva mais tempo para acontecer, pois há

necessidade de um volume maior de dentina para aquecer antes de causar deslocamento do conteúdo tubular.

A partir disso, os túbulos dentinários que se apresentam esclerosados não são sensíveis, pois não permitem a movimentação dos fluidos através deles. Portanto, a condição que fundamenta a teoria hidrodinâmica de dor é que a dentina sensível é a dentina permeável. (PASHLEY, 1986). Se a teoria hidrodinâmica da dentina sensível está correta, qualquer substância que obstrua os túbulos dentinários expostos ou diminua o movimento dos fluidos dentinários deverá diminuir ou eliminar a hipersensibilidade.

Existem vários mecanismos físico-químicos que guiam as reduções na permeabilidade e sensibilidade da dentina exposta. Isso acontece quando os túbulos estão cobertos por cálculo, obstruídos próximo à polpa devido a uma resposta do complexo dentinopulpar a uma irritação, a depósitos de colágenos, depósitos minerais ou pelo aumento da DPT com a intenção de diminuir a permeabilidade dentinária. A formação de cristais no interior dos túbulos se deve à deposição de minerais provenientes da saliva ou dos fluidos dentinários, da adsorção das proteínas do plasma no interior da superfície dos túbulos dentinários ou formação da *smear layer* na superfície da dentina exposta. (PASHLEY, 1986).

Várias terapias para a obstrução dos túbulos têm sido desenvolvidas, as quais mostraram-se esperanças como agentes de dessensibilização dentinária. O conceito da oclusão dos túbulos como um método de dessensibilização – como, por exemplo, aplicação de resinas fluidas, de sais de oxalato, aplicação de flúor associada ao polimento e pastas dessensibilizantes que contêm finos materiais de granulações - é uma extensão da lógica da teoria hidrodinâmica. (PASHLEY, 1986; COX, 1994).

Oda, Matos e Liberti (1999) realizaram um estudo *in vitro* propondo avaliar, por meio do M.E.V., a possível formação de película impermeabilizadora quando da aplicação de substâncias dessensibilizantes após condicionamento ácido da dentina. Discos de dentina foram utilizados, sobre os quais foi preparado um esfregaço padronizado, realizando o condicionamento ácido e aplicação das substâncias testadas à base de glutaraldeído, oxalato e fluoretos. Para compor o grupo controle, um corpo-de-prova foi mantido sem tratamento e outro apenas condicionado com ácido. A partir dos resultados morfológicos, pode-se concluir que o condicionamento ácido prévio ao tratamento com substâncias à base de glutaraldeído e oxalato não é capaz de formar uma película uniforme e impermeabilizante sobre a dentina. O uso de fluoreto forma uma película facilmente removível, não produzindo efeitos a longos prazos nesses tipos de tratamento.

Arrais, Chan e Giannini (2004) tiveram como objetivo avaliar as características de obliteração dos túbulos dentinários de três agentes dessensibilizantes: produtos à base de oxalato (Oxa-gel), à base de HEMA e glutaraldeído (Gluma Desensitizer) e à base de flúor fosfato-acidulato (AF), testados em dentes humanos extraídos. Os espécimes foram avaliados em M.E.V. O Oxa-gel promoveu oclusão pela deposição de cristais no interior dos túbulos, o Gluma criou uma camada delgada sobre a superfície da dentina e a aplicação do AF produziu a formação de precipitados que ocluíram os túbulos. De acordo com as análises em M.E.V., todos os agentes testados foram capazes de obliterar os túbulos dentinários.

Entretanto, nem todos os agentes diminuem a sensibilidade dentinária através da obstrução dos túbulos. Um outro mecanismo envolve o bloqueio da atividade neural da polpa pela alteração da excitabilidade dos nervos sensoriais. (PASHLEY, 1986).

Absi, Addy e Adams (1987) realizaram uma investigação usando M.E.V. para comparar áreas cervicais expostas de dentes hipersensíveis e não sensíveis. Também avaliaram o grau de penetração de corantes através da dentina exposta desses dentes. Foram utilizados 71 dentes vitais hígidos, com lesão cervical, indicados para extração. Deles, 34 apresentavam sensibilidade e 37 não, após serem avaliados por reação a três estímulos: frio, 3 segundos de aplicação de ar e raspagem da superfície com sonda dental de forma suave. Os dentes foram extraídos e preparados para análise em M.E.V. Os dentes sensíveis apresentaram um aumento significativo no número de túbulos por unidade de área, aproximadamente 8 vezes, comparados aos dentes não sensíveis, assim como o diâmetro dos túbulos dentinários, maiores em 2 vezes. A penetração do corante de azul de metileno na superfície da lesão cervical foi maior e mais profunda nos dentes hipersensíveis comparados com os dentes não sensíveis. Esses resultados mostram evidências na transmissão de estímulos através da dentina mediada pelo mecanismo hidrodinâmico, causando hipersensibilidade.

Nem todo paciente com dentina cervical exposta apresenta HD. Rimondini, Baroni e Carrassi (1995) tiveram como objetivo determinar a relação existente entre a estrutura dentinária e os sintomas clínicos em pacientes com exposição dentinária cervical. Foram selecionados 10 pacientes sem nenhum problema de saúde, sendo 5 homens e 5 mulheres com idade média de 31 anos, obtendo um total de 28 dentes. Esses dentes foram escolhidos mediante os seguintes critérios: apresentação de lesão cervical por abrasão ou recessão gengival, ausência de lesões cariosas, de restaurações, de placa bacteriana e de sangramento gengival e que nunca tivessem sido submetidos à ação de agentes dessensibilizantes. A hipersensibilidade foi avaliada com ar frio e sonda exploradora aplicados suavemente sobre a superfície da lesão. Foram feitos modelos desses dentes antes e depois de serem

condicionados com ácido fosfórico a 37% por 20 segundos, com o intuito de expor os túbulos dentinários. As réplicas das lesões foram montadas em *stubs* de alumínio e cobertas com ouro para análise em M.E.V. Os seguintes dados foram anotados: presença e morfologia da *smear layer* (amorfa ou cristalina), densidade e diâmetro dos túbulos dentinários. O teste X^2 foi utilizado para análise estatística. Nos espécimes não condicionados, as superfícies não sensíveis apresentaram-se cobertas por uma *smear layer* amorfa (88%), ocasionalmente (2.7%) por uma *smear layer* cristalina e poucos e estreitos túbulos (9.3%) foram observados. Já os dentes hipersensíveis não condicionados apresentaram uma menor quantidade de *smear layer* amorfa (31.3%), 33.3% cristalina e muitos e amplos túbulos dentinários, chegando a se apresentar 10 vezes maiores por unidade de área, concordando com Absi, Addy e Adams, 1987. Algumas vezes, notou-se a perda da DIT conectando os túbulos. As diferenças foram estatisticamente significantes ($p < 0.01$). Nas regiões hipersensíveis, o condicionamento ácido sempre removeu a *smear layer*, enquanto que nas regiões não sensíveis a remoção foi parcial ou ausente. Esses achados suportaram a teoria de que o aumento da permeabilidade causa sensibilidade dentinária.

Coleman, Grippo e Kinderknecht (2000) realizaram um estudo para observar a relação entre HD cervical e presença de lesões de abfração. Foram examinados em torno de 250 pacientes, acima de 20 anos, entre os anos de 1979 a 1996. As lesões foram identificadas como uma fenda angular na região cervical ou formato oval no esmalte. Os pacientes foram divididos em grupos I e II com base somente na presença ou ausência de sensibilidade após aplicação de ar na dentina cervical. Uma associação significativa foi encontrada entre a presença de hipersensibilidade cervical e lesão de abfração, e a principal localização de ambas se deu na face vestibular dos dentes posteriores. Os fatores etiológicos da lesão de abfração como hiperfunção oclusal, cargas excêntricas e parafuncionais podem também ser fatores etiológicos no desenvolvimento da HD.

Yoshiyama et al. (1989) mostraram através da análise em M.E.V. que os orifícios de muitos túbulos dentinários estavam abertos em áreas hipersensíveis e que uma estrutura membranosa aparecia na parede desses túbulos. Já em dentes não sensíveis, a maioria dos túbulos estavam obstruídos por cristais romboidais de todos os tamanhos e as estruturas membranosas não foram observadas. Os resultados mostraram que a hipersensibilidade ocorre em dentes com dentina exposta quando a maioria dos túbulos apresentam-se abertos.

As constantes recidivas dos tratamentos preconizados para a HD são as causas de estudos para essa patologia.

2.4 MICROMORFOLOGIA TUBULAR DENTINÁRIA

A dentina da região cervical, por apresentar característica morfológica peculiar, quando é exposta a uma agressão externa, responde com os três clássicos quadros de resposta histopatológica de defesa dentinária: dentina reparatória, tratos mortos e esclerose dentinária patológica. (ERAMO et al., 2003).

Os fundamentos da histologia da dentina foram revelados na metade do último século, antes mesmo de a dentina ser conhecida como uma matriz calcificada transpassada por vários túbulos. O primeiro real avanço foi feito por Tomes, J. (1852), que descreveu a presença de longos processos filamentosos, aparentemente os processos odontoblásticos, no interior dos túbulos. Ele também observou que esses filamentos apresentavam certa resistência e que se projetavam na superfície da dentina fraturada como hastes rígidas que podiam ser estendidas sem se fraturar durante o preparo dos espécimes. (BRADFORD, 1950).

Segundo Bradford (1950), é extremamente difícil compreender a histologia da dentina porque o conhecimento dos detalhes é escasso e as teorias aceitas por certos autores contradizem a de outros. Dessa forma, o autor realizou uma revisão com o intuito de combinar e explicar algumas dessas teorias, correlacionando-as com fenômenos observacionais. Ele classificou as estruturas em corte transversal de dentina normal como: fibras de Tomes, área translúcida, matriz da DIT e linha de junção entre a matriz da DIT e área translúcida, sugerindo que não são entidades separadas, mas que elas podem ser identificadas nesse tipo de corte. As observações levaram às seguintes conclusões: 1- a estrutura isolada da dentina foi a fibra de Tomes através do condicionamento da superfície com ácido nítrico a 5%, causando uma separação entre as fibras e a matriz intertubular. Esse tratamento, ainda, provocou contração da matriz e desaparecimento da zona translúcida. A linha de junção ficou representada por uma camada de tecido circundando os espaços e que corou mais fortemente comparado ao resto da dentina. 2- Relatou que outros autores observaram estruturas similares à fibra de Tomes em homens pré-históricos. 3- As fibras de Tomes coraram diferentemente, o centro com uma coloração citoplasmática e a bainha externa com uma coloração nuclear. 4- A camada externa corou meta-cromaticamente com azul de toluidina depois de fixado em acetato de chumbo, corando em azul de metileno em pH menor que 3.0, indicando a provável presença de um tecido mucóide. 5- O centro citoplasmático da fibra de Tomes é muito frágil e fratura rapidamente após a extração dos dentes. 6- A diferença entre as duas porções pode ser observada em secções desgastadas de material embutido em acrílico e em espécimes descalcificados, concluindo que as fibras de Tomes são compostas de duas camadas: um

centro citoplasmático correspondente ao processo odontoblástico da célula e uma bainha externa formada por um tecido mucóide.

Miller, 1954, realizou um estudo através da microrradiografia dos túbulos dentinários e mostrou que a área translúcida ao redor da fibra de Tomes é mais fortemente calcificada que a matriz da DIT, sendo, também, birrefratário, assim como Bradford, 1950. Foi demonstrado através dos cortes em série que o tamanho da área translúcida e o diâmetro da fibra de Tomes são inversamente proporcionais entre a polpa e a junção amelo-dentinária.

Bradford, 1958, sugeriu uma revisão no conceito da estrutura e maturação do tecido dentinário e se apoiou no estudo das mudanças que ocorrem no tecido dentinário sobre ação da atrição, cáries pequenas, grandes ou paralisadas e com hipoplasia de esmalte. As amostras foram primeiramente embebidas em metil-metacrilato, desmineralizadas em uma solução neutra de EDTA e embebidas em polietilenoglicol. Foi empregada uma variedade de corantes. Uma série de secções desmineralizadas foi obtida mostrando o desenvolvimento da dentina desde o estágio inicial de deposição mineral em dentes adultos. Nos estágios iniciais de maturação, uma matriz argirófila apareceu em secções transversais na pré-dentina, como um retículo. As fibras da matriz passavam tangenciando os espaços desses retículos, aparentemente no mesmo plano do corte. Devido a esse arranjo das fibras, os espaços do retículo pareciam poligonais e completamente preenchidos por um material que se cora. A uma pequena distância, dentro da pré-dentina (10-20 μ m), os espaços do retículo pareciam circulares ou ovais, caracterizando a típica aparência da pré-dentina inicial, próxima à junção polpa-dentina. O conteúdo desses espaços separou-se em duas partes: a matriz da área translúcida e uma estrutura central a qual, *in vivo*, forma o conteúdo dos túbulos dentinários. As mudanças no tecido dentinário que levam à obstrução total dos túbulos foram também estudadas em áreas de atrição, cáries e cáries paralisadas. Em fases iniciais de obstrução, muitas etapas do processo puderam ser observadas, mostrando que o processo era intermitente e que não ocorre com a mesma velocidade em todos os túbulos. A substância que obstrui os túbulos pode ser contínua ou indistinguível da área translúcida ou pode estar separada dessa área por uma bainha escura, aparentemente hipocalcificada ou, em adição a essa bainha, a parte central do material de obstrução pode ser escuro e hipocalcificado.

Blake (1958) utilizou dentes sadios fixados em formalina a 5%. Cortes transversais entre dentina e polpa foram utilizados para comparar as zonas translúcidas antes de depois da descalcificação. Pelo método de fixação picrotionina Schmorl's foi confirmado que a zona translúcida peritubular não foi representada em cortes não descalcificados preparados pelo método de embebição em parafina. Os achados sugeriram que a zona translúcida é um

processo de calcificação em uma matriz não colágena, mas essa calcificação não acontece independente da calcificação da matriz colágena.

Frank (1959) realizou um estudo utilizando secções ultrafinas de dentes recém-irrompidos, que não sofreram ação de esforços mastigatórios. Os blocos de dentina foram fixados em ácido ósmico a 1% por 4 horas, incluídos em n-butil metacrilato sem descalcificação prévia, seccionados em micrótomo com espessura de 100-200Å e analisados em M.E.V. Foi realizado E.D.S. em regiões limitadas da dentina também. Na região da pré-dentina e dentina próxima à polpa, os prolongamentos odontoblásticos pareceram ser extensões citoplasmáticas que preenchiam o lúmen dos túbulos dentinários em forma de bastão. Notou-se a presença de uma estrutura parecida com um anel opaco envolvendo as paredes dos tubulares internamente e encostando-se nelas, parecidas com os prolongamentos odontoblásticos. A DPT circundava as estruturas tubulares e as porções citoplasmáticas dos prolongamentos odontoblásticos. Também observou-se que os prolongamentos odontoblásticos estavam conectados na substância intertubular por uma delicada rede de fibras. A grande intensidade de absorção de elétrons exibida pela DPT junto com as observações das áreas selecionadas para análise de difração de elétrons mostrou a presença de apatita, levando-nos à conclusão de que essa zona é mais calcificada que a substância intertubular. Ocasionalmente, os túbulos dentinários mostraram ausência da zona peritubular.

Johansen e Parks (1962) realizaram um estudo utilizando dentes permanentes sadios. Dentes completos e seccionados longitudinalmente foram preparados para análise em M.E.V. depois de fixados por 1-4 horas em solução tamponada de ácido ósmico a 1% em pH 7.2-7.4, ou fixados e armazenados em formalina neutra a 10% ou álcool a 70%. Nos espécimes fixados em formalina, alguns foram descalcificados em uma solução de ácido fórmico e citrato de sódio antes da fixação, e alguns homogeneizados e examinados sem tratamento posterior. Apenas a dentina coronária foi estudada. O método de preparo dos tecidos moles foi o mesmo utilizado pelos mesmos autores em 1961. A fase mineral da dentina foi estudada em secções de material não descalcificado, e a fase orgânica foi estudada em secções de dentina descalcificada que foi fixada em ácido fósforo-tungústico ou hidróxido de chumbo ou em secções de dentina não descalcificadas que foram, simultaneamente, descalcificadas e fixadas com ácido fósforo-tungústico. A observação de secções não descalcificadas confirmou a ocorrência de uma zona hipermineralizada pericanalicular bem definida. As áreas intercanaliculares mostraram-se menos mineralizadas e com falha de uniformidade na densidade de deposição mineral. As secções descalcificadas tratadas com ácido fósforo-tungústico revelaram uma rede de fibras colágenas na matriz dentinária. O lúmen dos canais

tubulares apareceu circundado por uma estrutura membranosa. Não pôde ser determinado se essa estrutura membranosa representa uma condensação da matriz de colágeno ou da membrana plasmática do processo odontoblástico. Secções fixadas revelaram, ocasionalmente, a ocorrência de fibras colágenas dentro do lúmen dos túbulos dos canais. Os preparos homogeneizados mostraram que os cristais de apatita estão intimamente associados com as fibras colágenas, com o longo eixo de ambas as estruturas arranjadas paralelamente. Na dentina mais madura, os cristais eram consideravelmente maiores que os localizados na borda dentina/pré-dentina.

Harcourt (1964) realizou um estudo com o propósito de investigar a natureza das zonas translúcidas peritubulares usando microrradiografia e microscopia por fluorescência. Foram utilizados dentes permanentes não irrompidos, dentes decíduos e dentes de pacientes que receberam altas doses de tetraciclina. Todos os dentes foram fixados em formol a 10% antes de serem seccionados. As secções foram orientadas de maneira longitudinal e transversal ao longo eixo do dente e possuíam espessura de 30 a 50 microns. As tomadas radiográficas foram de 5 minutos. Alguns dos espécimes foram corados com azul de metileno e picrotianina Schmorl's. Os resultados mostraram, pela análise microrradiográfica em dentes mais velhos, a presença de uma DPT hipermineralizada. Em alguns casos foram observados túbulos completamente ocluídos, principalmente próximos da polpa, e a análise microrradiográfica evidenciou que esses *plugs* são mais mineralizados que a matriz que os cercam. A análise por fluorescência mostrou que as zonas de DPT se desenvolvem depois da mineralização da própria matriz dentinária. Em áreas de secção em dentes com atrição e lesão cáries, tanto na região de coroa como raiz, a dentina mostrou-se translúcida, os canais pulpares estavam amplamente obliterados por dentina secundária, especialmente na região da coroa, e muitos túbulos estavam parcialmente ou completamente obliterados por *plugs* hipermineralizados. Os autores concluíram que essa hipermineralização parece ser uma manifestação da maturação da dentina e, provavelmente, parte do mecanismo de defesa da dentina que parece reagir às injúrias bloqueando os túbulos afetados através de *plugs* hipermineralizados para proteger a polpa.

Após Tomes descrever a presença de uma estrutura membranosa de origem celular dentro dos túbulos dentinários, estudos têm mostrado controvérsia com relação à localização da porção terminal dos prolongamentos odontoblásticos. De acordo com alguns autores, esse prolongamento celular alcança a junção esmalte-dentina e outros acreditam que esses prolongamentos estão presentes apenas até o terço da dentina

Isokawa, Toda e Kubota, 1970, utilizaram em um estudo trinta dentes permanentes os quais, imediatamente após a extração, foram fraturados em sentido transversal aos túbulos dentinários. Em seguida, foram fixados em formalina neutra a 10% ou acetona fria. As superfícies fraturadas de alguns dentes foram condicionadas com ácido fórmico a 1/20N e 1/200N, durante 5-20 e 30-200 segundos, cobertas com ouro e examinadas em M.E.V. Pôde-se observar de forma distinguível nas superfícies dentinárias não descalcificadas o processo de Tomes, DPT e DIT. Entretanto, as superfícies condicionadas revelaram uma variação nas estruturas. Essa variação pareceu estar relacionada com o tempo de condicionamento e com a concentração do ácido. Os autores concluíram que existe uma camada externa hipermineralizada e uma camada mais interna hipomineralizada que formam a DPT, e que a porção interna mostrou-se menos solúvel e foi muito mais preservada que o resto da DPT após condicionamento ácido e que, ainda, a haste remanescente apresenta uma característica membranosa a qual, por ser pouco espessa, pode ser confundida com o processo de Tomes.

Isokawa, Kubota e Kuwajima (1973) realizaram um estudo com o intuito de investigar as mudanças que ocorrem na dentina quando exposta por facetas na superfície proximal e abrasão cervical em forma de cunha. Foram utilizados dentes caninos e pré-molares nas condições descritas. Após a extração, os dentes foram fixados em formalina e imersos em hidróxido de hyamina durante 48 horas para remover substâncias aderidas às superfícies dentinárias expostas. Os dentes foram lavados e desidratados em álcool e acetona. Alguns dentes foram fraturados em duas partes, dividindo as facetas e as áreas abrasivas ao meio. Tanto as facetas, as lesões de abrasão e as superfícies fraturadas foram cobertas com ouro para observação em M.E.V. Alguns espécimes foram condicionados com ácido fórmico 0,005 N por 60 segundos antes da cobertura em ouro. Os resultados mostraram que as superfícies desgastadas são irregulares, pois apresentaram pequenas elevações de depósitos inorgânicos. Os túbulos apresentaram-se fechados, não havendo separação entre DIT e conteúdo tubular, apesar da diferença de textura. Nas superfícies fraturadas, longitudinalmente, pôde-se observar um estreitamento dos túbulos devido à deposição de material calcificado intratubular. Outros tinham aparência semelhante à ranhura devido à separação entre material intertubular e parede do túbulo durante a fratura. Alguns túbulos estavam parcialmente ou totalmente mascarados por um conteúdo tubular mineralizado, concluindo-se que esse material não é peritubular. Próximos às superfícies de abrasão, os túbulos apresentaram-se preenchidos em maior quantidade com substâncias inorgânicas que os túbulos mais afastados. No interior dos túbulos notou-se a presença de um depósito sólido em forma de bastão. As superfícies condicionadas mostraram um maior número de túbulos expostos e a presença de

estruturas semelhantes a anéis no interior dos túbulos. Os autores acreditam que essas estruturas se formam devido ao depósito de material inorgânico nos processos odontoblásticos. O motivo da oclusão dos túbulos pode ser atribuído à atividade dos processos odontoblásticos que são estimulados antes que sejam tocados pela abrasão, e que esses estímulos motivam o processo de formação da matriz calcificada, sendo que essas estruturas não são altamente calcificadas.

Em 1976, Garberoglio e Brännström analisaram 30 dentes humanos permanentes intactos, em grupos de várias idades, em M.E.V. Todos os dentes foram fixados em formalina a 10%, fraturados depois de congelados em nitrogênio líquido ou propano por 2 minutos, desidratados e secados pelo método *freeze-drying*. Todos os túbulos mostraram-se vazios, exceto nos dentes *freeze-drying*, nos quais os prolongamentos odontoblásticos puderam ser vistos no interior dos túbulos próximos da polpa e aproximadamente 0.5mm no interior da dentina. Também foi notada a presença de fibrilas de vários tamanhos nos túbulos e algumas delas conectadas a um material amorfo na parede do túbulo. Tais estruturas amorfas puderam ser vistas, também, em túbulos situados distantes da polpa.

Gwinnet e Jendrensen (1978) realizaram um estudo com o intuito de compreender as características micromorfológicas da dentina em lesões de erosão, o efeito do condicionamento ácido sobre essas lesões e a relação morfológica entre a dentina erodida condicionada e a resina composta. Foram formados dois grupos para análise. No grupo I, metade das lesões de erosão foi condicionada com ácido fosfórico a 50% por 1 minuto para que pudesse ser realizada uma comparação com a superfície não condicionada. Os dentes foram lavados por 20 segundos, secados em ponto crítico, montados em *stubs* de alumínio e cobertos com ouro para análise em M.E.V. Após a análise das superfícies condicionadas e não condicionadas, os dentes foram fraturados no sentido longitudinal separando-se as superfícies tratadas e não tratadas. No grupo II, as lesões de erosão foram condicionadas e receberam adesivo e resina. Utilizando um disco diamantado, as lesões foram cortadas longitudinalmente para observar a interface dentina e restauração. Os espécimes foram desmineralizados em ácido hidrocloreídrico a 10% por 1 minuto, lavados em água e colocados em uma solução de hipoclorito de sódio a 7%, por 1 minuto, para remover a matriz orgânica desmineralizada. As amostras foram lavadas, secadas e cobertas com ouro para análise em M.E.V. Na superfície não condicionada, a superfície dentinária apresentou-se lisa e puderam-se observar nas partes centrais muitas elevações, comparáveis à localização dos túbulos. As estruturas tubulares típicas foram observadas nas superfícies condicionadas, os túbulos mostraram-se abertos e alargados, embora alguns deles estivessem obstruídos por uma estrutura relativamente

insolúvel de formato colunar. Nas amostras fraturadas, observou-se a formação da dentina reparadora em resposta à erosão e os canais estavam reduzidos em tamanho, algumas vezes completamente obstruídos. Os túbulos expostos pela fratura na dentina condicionada mostraram depósitos intratubulares, a DPT parcialmente dissolvida ou túbulos dentinários vazios. No exame da interface dentina e resina observou-se uma penetração de 30 micrometros de resina dentro da dentina erodida condicionada, sendo que na dentina normal chega a 100 micrometros. Concluiu-se que a superfície condicionada da dentina erodida é significativamente diferente da dentina normal condicionada.

Thomas (1979) demonstrou, após a desmineralização e subsequente perda da DPT, uma estrutura eletrodensa localizada no interior dos túbulos dentinários. Essas estruturas foram claramente distinguíveis dos prolongamentos odontoblásticos quando observadas juntas. As estruturas eletrodensas estavam presentes em toda a dentina, desde a junção da pré-dentina até a junção esmalte-dentina. A conclusão foi que essas estruturas correspondem à camada interna hipomineralizada da DPT observada por outros autores.

Brännström e Garberoglio (1980), examinaram túbulos dentinários fraturados transversalmente da superfície dentinária saudável e de regiões de atrição. Os cortes foram feitos aproximadamente 1.5mm abaixo da região de atrição incisal ou ponta de cúspides dos dentes. Foram utilizados 10 dentes incisivos vitais de pacientes de diferentes idades que apresentavam as lesões, e oito pré-molares humanos de pacientes entre 12 e 14 anos os quais foram fixados em próteses totais removíveis. Os canais coronários dos pré-molares foram preenchidos com cimento de óxido de zinco e eugenol e a parte mais elevada das cúspides vestibulares foi desgastada, removendo-se o esmalte e expondo a dentina. Os pacientes utilizaram as próteses com os dentes por três anos. Esses dentes foram tratados e avaliados em M.E.V. assim como os dentes incisivos. Como grupo controle, foram extraídos 4 dentes pré-molares hígidos e sem atrição. Os resultados mostraram que no grupo controle nenhum dente estava obliterado no nível da fratura, mas o tamanho do lúmen dos túbulos variou. Nos dentes com atrição natural, a maior parte dos túbulos mostraram-se completamente obliterados, mas alguns espécimes e algumas áreas apresentaram apenas redução parcial. Nenhuma linha foi observada entre a DPT e o conteúdo de obstrução, parecendo que ambos apresentavam a mesma estrutura densa. Em 4 dentes removidos das próteses, notaram-se reduções similares aos dentes com atrição nos lumens dos túbulos, mas as mudanças variaram entre ausência de redução e completa obliteração. Nos outros 2 dentes, onde foram avaliados os lumens próximos à polpa, foi observada ausência de redução do diâmetro dos túbulos. Os resultados suportam a idéia de que o ambiente oral - saliva - contribui na formação da dentina esclerótica

e obliteração dos túbulos sobre ação da atrição dentinária, assim como a contínua deposição de minerais na parede da DPT.

Com o intuito de reexaminar a dentina e a extensão dos prolongamentos odontoblásticos no interior de seus túbulos, Kelley, Bergenholtz e Cox (1981) realizaram um estudo utilizando uma técnica de fixação por perfusão controlada. Dois macacos foram perfurados no ventrículo com soro fisiológico a 0,9%, seguido do fixador Karnovsky (tampão fosfatado de glutaraldeído e formalina – PBF-GTA). Imediatamente após a administração do agente fixador, dois molares de cada macaco foram extraídos. As metades apicais das raízes foram removidas e as porções coronárias gentilmente agitadas no PBF-GTA por 24 horas. Os dentes foram armazenados em uma mistura de 50% EDTA e 50% PBF-GTA por 14 dias, sendo trocados diariamente. Após essa etapa, foram congelados em um gás líquido e fraturados de forma longitudinal obtendo-se assim 2 ou 3 espécimes de cada dente. Em seguida, as amostras foram desidratadas em uma série crescente de etanol (70, 80, 95 e 100%) por 1 hora em cada um e armazenados por uma noite em etanol 100%. Os espécimes foram secados em ponto crítico e metalizados em ouro para análise em M.E.V. Os resultados mostraram as células odontoblásticas na região da pré-dentina e seus prolongamentos odontoblásticos se estendendo, aproximadamente, até o terço dentinário mais próximo da polpa, no interior dos túbulos. Estruturas idênticas aos prolongamentos odontoblásticos foram observadas próximas à JAD. Todos os prolongamentos observados que preenchiam os túbulos incompletamente, tanto próximos da JAD como próximos da polpa, sugeriram contração devido ao pré-tratamento. Em todas as amostras, os túbulos da porção média dentinária estavam vazios. Os autores concluíram que a aparente falha dos prolongamentos odontoblastos na porção média ocorreu devido a algum artefato do mecanismo de preparo dos espécimes e que o ponto crítico deve ser utilizado para secagem dos espécimes por reduzir a destruição das células odontoblásticas e seus prolongamentos. Eles acreditam que a administração do agente fixador pelas vias sangüíneas permite uma melhor preservação dos tecidos da polpa.

Vasiliadis, Darling e Levers (1983) examinaram a microestrutura da dentina esclerótica radicular utilizando três métodos de análise: o microscópio óptico, a microrradiografia e o M.E.V. Apenas dentes caninos humanos foram utilizados. Foi revelada uma deficiência de contraste entre a DIT e os túbulos, dificultando a visualização dos mesmos. Entretanto, nos cortes transversais, com foco acurado sobre a superfície dos espécimes, foi possível observar túbulos abertos ou não. Os cortes longitudinais mostraram que na zona de esclerose, próxima à polpa, o número dos túbulos dentinários reduziu-se

drasticamente e apresentou forma irregular. Já nos cortes transversais dessa zona, o número de túbulos, os quais tiveram o lúmen com o mínimo de abertura, variaram entre os túbulos parcialmente abertos, a maioria, e túbulos fechados. A microrradiografia foi utilizada para estabelecer o grau de mineralização, a distribuição dos minerais, o tamanho e preenchimento dos cristais na dentina e, especialmente, as zonas de translucidez. Na análise microrradiográfica, nos cortes transversais nas zonas de esclerose dentinária, o lúmen dos túbulos pareceu estar drasticamente reduzido ou completamente obstruído. Isso foi observado em todos os espécimes e o material de obstrução foi sempre mais radiodenso comparado à DIT. Apenas uma linha de separação entre a DIT e o material radiodenso que ocupava o lúmen dos túbulos foi detectada nesse exame. A absorção pelos raios-X do material de obstrução do lúmen dos túbulos foi similar ao da DPT em dentina normal. Nenhuma diferença foi encontrada entre a absorção de raios-X pela DIT da zona esclerótica e dentina normal. O exame em M.E.V. mostrou variação no brilho nas diferentes zonas dos espécimes. Foram avaliados 29 cortes com espessura de 250µm. As áreas brilhantes da dentina foram consideradas DPT quando contornavam os túbulos dentinários ou revelavam outros aspectos, como a lisura. A aparência da dentina esclerótica foi caracterizada pela realocação das zonas translúcidas nas margens fraturadas dos cortes. A aparência dos túbulos da dentina esclerótica variou de acordo com as regiões. A maioria dos túbulos se mostrou parcialmente abertos até as áreas onde estavam completamente obstruídos. Essas aparências foram anotadas em várias distâncias do canal radicular. Em alguns casos, as imagens mostraram um aumento da densidade do material de obstrução comparada com a DPT ao redor dos túbulos adjacentes. Em outros casos, o material de obstrução apresentava um aspecto de bastão e alguns deles apresentavam um diâmetro menor que o lúmen dos túbulos deixando um espaço entre o bastão e a DPT. Esses bastões estavam sempre em contato com algum ponto da DPT. Em outros casos, obstruíam completamente os túbulos dentinários. Nos espécimes não tratados com hipoclorito de sódio, esses bastões foram encontrados ocasionalmente. Eles eram apenas observados quando os espécimes eram fraturados e ocorria uma separação entre o bastão e a DPT, formando um espaço entre eles. Nos espécimes tratados com hipoclorito, um delgado espaço entre o bastão e a DPT foi normalmente observado em alta magnificação (5000x). Ocasionalmente, corpos esféricos com diâmetros entre 0.1 a 0.4 µm foram encontrados no lúmen ligados às paredes dos túbulos. O material de obstrução e a DPT eram quase indistinguíveis, mas observações sugerem que esse material não é uma continuação da DPT e que o espaço entre eles pode ser resultado de uma diferença de estruturas. O absoluto aumento da quantidade mineral nas zonas de esclerose dentinária indicou que o material de obstrução

não derivou da DIT adjacente, mas de outras origens. Provavelmente esses bastões dentro do lúmen se formam na ausência dos prolongamentos odontoblásticos no interior dos túbulos.

Thomas e Carella (1983) tiveram como propósito examinar a dentina humana mineralizada e desmineralizada. Vinte dentes terceiros molares completamente formados foram obtidos imediatamente após a extração. As raízes de todos os dentes foram removidas, fraturando-os na altura da JCE e, depois, as coroas foram divididas em partes vestibulares e linguais. Os espécimes foram armazenados em fixador Karnovsky a 4°C, aí deixados por toda a noite. Metades dos dentes foram mantidas em estado mineralizado e as outras metades foram desmineralizadas em solução de ácido fórmico e cítrico pH 2.8 por 48 horas. Todos os espécimes foram lavados em tampão cacoditato em pH 7.4, desidratados em séries graduais de etanol e secados em ponto crítico. Os espécimes foram montados em *stubs* metálicos, cobertos com ouro e analisados em M.E.V. Foram observadas as partes externas, médias e profundas da dentina de todos os espécimes. Com o intuito de determinar os efeitos da fixação nos tecidos, 4 espécimes foram preparados da mesma forma, mas sem fixação prévia e armazenados em tampão ou secos ao ar. Após a desmineralização, foram preparados para análise em M.E.V. Os resultados mostraram que nenhum prolongamento odontoblástico se estendeu além da junção pré-dentina até a dentina. Os túbulos da dentina mais profunda mineralizada ou desmineralizada estavam, na maioria das vezes vazios, embora algumas fibras colágenas estivessem presentes no interior do lúmen. Nos espécimes mineralizados, uma DPT precoce foi ocasionalmente vista, mas, no geral, era a DIT que ocupava a área entre os túbulos adjacentes. Os túbulos estavam cercados por um material amorfo freqüentemente fragmentado. Nos espécimes desmineralizados, a mesma estrutura amorfa foi observada, entretanto ela apareceu nitidamente separada da parede dos túbulos. Nas partes média e externa da dentina, notou-se com mais clareza a presença da DPT. Nos espécimes mineralizados, os túbulos dentinários apresentaram uma camada de DPT com aparência cristalina mais homogênea que a DIT, e no lúmen dos túbulos a estrutura amorfa circundando suas paredes internas. Os espécimes desmineralizados perderam a DPT e apenas a DIT estava visível, sendo que cada túbulo apresentou uma estrutura em forma de lâmina que estava separada da parede dos túbulos por um espaço correspondente à matriz peritubular. A matriz da DIT pareceu estar ligada à estrutura em forma de lâmina através de um material fibrilar que se estendia ao longo do espaço peritubular. Os dentes que foram desmineralizados, mas não fixados, mostraram-se semelhantes aos pré-fixados. As estruturas em forma de lâmina também foram observadas em todos os túbulos deste grupo e estavam separadas das paredes dos túbulos pelo espaço peritubular. Nos espécimes secos no ar, essa estrutura pareceu estar

retalhada em algumas áreas, revelando uma rede de fibras. A conclusão foi a de que existe um material amorfo que circunda os túbulos dentinários desde a pré-dentina até a JCE. Como esse material resistiu à desmineralização, acreditou-se possuir natureza orgânica, correspondendo à camada mais interna hipomineralizada da DPT, sugerindo o nome de LL. Eles também concluíram que o grau de separação dessa estrutura da parede do túbulo foi menor na parte mais interna e maior na porção mais externa de dentina, presumindo ser reflexo da espessura da DPT, mínima próxima da polpa e aumentando conforme se aproxima da JCE.

Symons (1967 apud THOMAS; CARELLA, 1983) sugeriu que a estrutura em forma de lâmina observada por muitos autores é uma estrutura que contém alto índice de tecido mucopolissacarídico. Entretanto, Thomas e Carella, 1983, explicam que esse termo não é mais utilizado porque não se sabe a natureza exata dessa estrutura, mas que a técnica de coloração indica a presença de partículas de açúcar, sugerindo a presença de glicosaminoglicanas, glicoproteínas ou ambas. Sherft (1972 apud THOMAS; CARELLA, 1983) descreveu uma estrutura que circunda a matriz orgânica da cartilagem mineralizada e do osso a qual foi chamada LL e sugeriu que sua origem vem do acréscimo ou adsorção de material orgânico sobre a superfície da matriz mineralizada, estando presente em áreas onde a calcificação é retardada. Sherpad e Mitchell (1981 apud THOMAS; CARELLA, 1983) mostram o alto conteúdo de glicosaminoglicanas presentes na LL. E Wasserman e Yaeger (1965 apud THOMAS, CARELLA, 1983) sugeriram que a LL pode atuar como uma barreira reguladora das trocas de substâncias entre o plasma e a matriz óssea, e que isso pode ser transferido para a dentina e DPT. A formação de DPT é contínua durante toda a vida do dente (BRADFORD, 1958), mas o índice de deposição é normalmente lento. Como os fluidos dos tecidos estão supersaturados de íons cálcio e fosfato, algum mecanismo inibitório pode ser necessário para controlar essa deposição.

As glicosaminoglicanas (GAGs) têm sido consideradas como componentes importantes da matriz orgânica dos tecidos mineralizados influenciando na fibrinogênese do colágeno monomérico, na capacidade de ligar o cálcio ao colágeno e na possibilidade das ligações interfibrilares.

Engfeldt e Hjerpe (1972) fizeram um estudo analisando a presença das GAGs na dentina e pré-dentina de filhotes de cachorros. Os dois tecidos foram obtidos pelo procedimento de microdissecção, digeridos com papaína, as GAGs foram precipitadas com cloreto de cetilperidíneo e avaliadas. Os resultados indicaram que o maior polissacarídeo presente na dentina e pré-dentina são as galactosaminas identificadas como condroitino

sulfato. Foram observadas as hexosaminas em pequena quantidade e que existe maior quantidade de condroitino-6-sulfato na pré-dentina que na dentina.

Jones e Leaver (1974) desenvolveram uma pesquisa com a intenção de esclarecer os conflitantes artigos em torno da natureza e quantidade dos constituintes das GAGs na dentina humana. Foram extraídos dentes permanentes, removidas as coroas e as raízes foram limpas com broca removendo o cimento. A parte radicular foi transformada em pó, que foi desmineralizado com EDTA e digerido com papaína. As GAGs foram precipitadas com cloreto de cetilperidíneo e centrifugados. Uma pequena quantidade de *Keratan sulfato* foi separada do sobrenadante formado após precipitação das partículas. Hexosaminas individuais foram determinadas. Os resultados indicaram que condroitino-4-sulfato é a maior GAG e que o condroitino-6-sulfato, ácido hialurônico, dermatosulfato e galactosamina não sulfatada também estavam presentes só que em menor quantidade.

Sauk Jr. et al. (1976) tiveram como propósito estender a análise das GAGs à DPT. Tais investigações podem definir melhor o papel do condroitino sulfato na mineralização da matriz extracelular. Dentes pré-molares permanentes foram extraídos e com formação incompleta da raiz. A pré-dentina, dentina e DPT foram isoladas de acordo com o método descrito por Engfeldt e Hjerpe (1972). As GAGs foram isoladas pela adição do cloreto de cetilperidíneo (CPC). Os espécimes foram centrifugados e o CPC removido do sobrenadante por lavagens repetidas de álcool isopentil. Foram isolados 50 ml de GAGs da pré-dentina, 50 ml da DPT e 150 ml da dentina e depois seguidos por uma sequência de soluções. Os resultados mostraram que a pré-dentina e DPT apresentaram mais GAGs que a dentina.

Takagi et al. (1990) examinaram imunocitoquimicamente os tipos e distribuições das GAGs e proteoglicanas na pré-dentina e dentina de incisivos de ratos, desmineralizadas em EDTA depois de fixadas em aldeído, usando quatro anticorpos monoclonais que reconhecem a condroitina não sulfatada, condroitino-4-sulfato, condroitino-6-sulfato e *Keratan sulfato*. Os resultados indicaram que não existe apenas uma diferença definida entre as proteoglicanas da pré-dentina e dentina, mas também, uma diminuição seletiva nas concentrações ou alterações dessas macromoléculas durante a dentinogênese e mineralização.

Com o objetivo de determinar a extensão dos prolongamentos odontoblásticos, Maniopoulos e Smith (1983) avaliaram 23 dentes humanos, pré-molares, molares e terceiros molares impactados, explorando as diferenças que os métodos de preparo dos espécimes causam. Os pacientes tinham os dentes totalmente livres de cárie ou superficialmente cariados. Os espécimes examinados foram preparados utilizando quatro métodos diferentes. Método I: os dentes foram colocados imediatamente após a extração em nitrogênio líquido

causando fratura espontânea. Após serem descongelados, foram fixados em glutaraldeído a 2.5% em tampão cacodilato de sódio a 0.1M, pH 7.4, contendo cloreto de cálcio a 0.01%, durante 24 horas, desidratados em etanol e depois secados em ponto crítico. Método II: imediatamente após a extração, os dentes foram fraturados em 2 partes usando-se um cinzel. Os espécimes foram fixados em glutaraldeído a 2.5% em tampão cacodilato, desidratados em etanol e secados em ponto crítico. Método III: após a extração, as raízes dos dentes foram removidas usando-se um disco diamantando sob refrigeração ou um cinzel a uma distância de 2-3mm da borda do esmalte. Com a polpa coronária exposta, os espécimes foram fixados em glutaraldeído a 2.5% em tampão cacodilato ou formalina neutra a 10% durante 24 horas, desidratados e secados em ponto crítico. Método IV: após a extração, as raízes dos dentes foram removidas e a coroa fixada em glutaraldeído 2.5% ou formalina a 10% como no método III. Depois de fixados, as coroas foram fraturadas em nitrogênio líquido e os espécimes secados em *freeze-drying* (FD). Depois de secas, as superfícies de todos os espécimes foram metalizadas em ouro-paládio e examinadas em M.E.V. Na região da pré-dentina de todos os espécimes observou-se a presença dos prolongamentos odontoblásticos. Os prolongamentos odontoblásticos apresentaram formato tubular independentemente do método de preparo e de secagem. Na dentina mais próxima da polpa, os prolongamentos odontoblásticos foram facilmente identificados independente do método de preparo. Entretanto, nos espécimes secos com FD foram observados menos prolongamentos comparados ao ponto crítico. Nos espécimes preparados com FD, os prolongamentos pareceram preencher quase completamente os túbulos, ao contrário dos preparados com ponto crítico. Na parte média e externa da dentina até a JAD, os prolongamentos odontoblásticos foram observados nos dentes preparados pelo método I e apenas um caso observado pelo método II não preenchendo totalmente o lúmen dos túbulos. Pelos outros métodos foram observadas apenas fibras margeando os túbulos. Concluiu-se que outros autores tiveram problemas em fixar os elementos celulares mais externos dos túbulos dentinários por cortarem apenas a raiz e que o uso de discos de brocas contribui na destruição dos elementos celulares. O uso do nitrogênio líquido para clivar os dentes imediatamente após as extrações teve como vantagem o mínimo de tempo perdido, mínima contração e acesso direto dos agentes de fixação sob as estruturas.

Segundo Thomas (1983), a fixação por imersão é o único método possível para examinar a dentina humana e preservar os conteúdos dos túbulos dentinários depende, na maior parte das vezes, de quão rapidamente o agente fixador penetra nos túbulos. Dessa forma, o autor teve como objetivo examinar a ultra-estrutura dos túbulos dentinários humanos

usando três diferentes fixadores com diferentes capacidades de penetração de fixação, com particular atenção aos efeitos dos fixadores na extensão dos prolongamentos odontoblásticos no interior dos túbulos dentinários. Foram utilizados 10 dentes terceiros molares. Imediatamente após a extração, as raízes foram cortadas na altura da JCE. As coroas dos dentes foram divididas entre os grupos de forma randomizada e colocadas nos agentes fixadores. Os dentes do grupo I foram mantidos por toda noite em solução Karnovsky em tampão cacodilato de sódio a 0.1M, pH 7.2 a 0-4°C. Os dentes do grupo II foram fixados durante toda a noite em solução de glutaraldeído a 2% em tampão cacodilato de sódio a 0.1M em pH 7.2 a 0-4°C. Os dentes do grupo III foram fixados durante toda a noite em uma solução de tampão fosfatado, ácido pícrico e formaldeído, pH 7.3 a 0-4°C. Todos os dentes foram desmineralizados em solução de EDTA a 10% contendo glutaraldeído em pH 7.4. Os blocos de dentina foram cortados na região das cúspides, pós-fixados em tetróxido de ósmio a 2%, desidratados, divididos em 3 partes correspondentes à porção mais profunda, média e externa da dentina e prensados em resina epóxica. Os espécimes foram corados com acetato de urânio e citrato de chumbo e examinados em M.E.T. Os resultados mostraram que os prolongamentos odontoblásticos se limitaram à porção do terço mais profundo da dentina em todos os espécimes examinados, independente do agente fixador utilizado. Nos dentes do grupo I, na porção mais interna da dentina, as estruturas presentes dentro dos prolongamentos foram bem preservadas, mostrando em alta amplitude microfilamentos em abundância, microtúbulos e vesículas. Áreas de formação da DPT estavam aparentes e a matriz da dentina periubular contrastou com a DIT. Estruturas eletrodensas, claramente distinguíveis da membrana celular dos prolongamentos, foram notadas circundando o interior dos túbulos. Em algumas áreas observou-se um espaço entre os prolongamentos e as estruturas eletrodensas. Esse espaço coincidiu com áreas da matriz de formação da DPT e não foi possível diferenciar o mesmo como espaço periodontoblástico ou artefato de contração. Já no grupo II, na mesma região, os conteúdos dos prolongamentos não foram preservados tão bem quanto no grupo I. Um espaço estava presente ao redor dos prolongamentos, que não correspondia à área de formação da DPT. As estruturas eletrodensas foram observadas em todas as secções. Os espécimes do grupo III foram os que mostraram os piores resultados na preservação das estruturas intracelulares dos prolongamentos, sendo difícil identificar a membrana celular. As características dos túbulos dentinários das porções médias e periféricas da dentina de todos os grupos foram semelhantes. Nenhum prolongamento odontoblástico foi observado. A DPT foi aumentando conforme ia em direção à superfície dentinária e as estruturas eletrodensas estavam presentes em todos os túbulos examinados. Os autores concluíram que os espécimes

fixados com Karnovsky foram os melhores preservados. Esses resultados sugeriram que somente o glutaraldeído não é suficiente para preservar as estruturas finas, mas a incorporação do paraformaldeído permite uma rápida penetração do agente fixador no tecidos. Outro fator adicional que deve ser considerado é a osmolaridade das soluções fixadoras. Geralmente, soluções hipotônicas causam expansão dos tecidos e as hipertônicas causam contração. Os autores sugerem a imersão da coroa nos agentes de fixação antes de fraturar, pois o trauma mecânico envolvido pode alterar a superfície das estruturas presentes.

Fox, Senia e Zeagler (1984) realizaram um estudo com o intuito de estabelecer o comprimento dos prolongamentos odontoblásticos em raízes em desenvolvimento. Terceiros molares e pré-molares humanos recém-extraídos com raízes sem formação completa foram criofraturados em nitrogênio líquido e colocados no fixador Karnovsky. Os espécimes foram descalcificados com ácido fórmico e hidrocloreídrico, seguidos da digestão por uma colagenase. Depois, foram fixados em ósmio, desidratados, dissecados e recobertos com ouro-paládio para análise em M.E.V. Após análise, um espécime foi incluído, seccionado, corado com citrato de chumbo e analisado em M.E.T. Os resultados demonstraram que os prolongamentos odontoblásticos se estendem até o limite dentino-cementário em todos os espécimes avaliados.

Thomas e Carella (1984), tiveram como propósito examinar áreas da dentina humana, com M.E.V. e o M.E.T., para determinar se as estruturas observadas dentro dos túbulos dentinários possuíam estruturas celulares ou correspondiam à camada interna hipomineralizada da DPT. Foram selecionados 10 terceiros molares não erupcionados e formados completamente. Imediatamente após as extrações, as raízes foram removidas na altura da JCE. Cinco dentes foram divididos ao meio, separando vestibular e lingual. Os outros 5 dentes foram montados em blocos e fatias de dentina coronária mais externa, média e interna, foram obtidas do plano ocluso-cervical. Todos os espécimes foram fixados em solução Karnovsky durante 4 horas, lavadas em tampão cacodilato de sódio em pH 7.4 e desmineralizados em solução de ácido fórmico e cítrico. Após essa etapa, foram pós-fixados em tetróxido de ósmio a 1% por 4 horas, lavados em tampão cacodilato de sódio e banhados em uma solução de hidróxido tiocarbono a 1%, por 20 min. A secagem foi feita em ponto crítico. Os resultados mostraram os processos odontoblásticos saindo do corpo celular e penetrando na pré-dentina, em M.E.V. Nas mesmas áreas, em M.E.T., foram observados esses processos odontoblásticos. A degeneração de alguns processos odontoblásticos pôde ser observada e alguns deles apareceram encolhidos fora da pré-dentina. Entretanto, nenhuma membrana foi observada entre a pré-dentina e os prolongamentos odontoblásticos. Os

prolongamentos odontoblásticos não foram observados em M.E.V. no terço médio da dentina. Já em M.E.T., pôde-se observar a presença dos prolongamentos e as estruturas eletrodensas puderam ser claramente identificadas nessa região e distinguidas da membrana celular dos prolongamentos. Tanto no terço médio quanto externo pôde-se observar em M.E.V. a presença das estruturas em forma de lâmina contornando as paredes internas dos túbulos. Um espaço estava presente entre essa estrutura e a matriz da DIT devido à desmineralização da DPT, o que pôde ser visto, também, em M.E.T. A separação entre a lâmina e a matriz da DIT aumentou à medida que se distanciava da polpa e isso se deve ao aumento na formação da DPT. Estruturas similares puderam ser vistas nos cortes transversais. Segundo os mesmos autores, a LL não é o mesmo que os prolongamentos odontoblásticos, pois não apresenta uma estrutura tri-laminar e é muito fina para representar uma membrana celular.

Szabó J., Trombitás e Szabó I. (1984), em estudo com o intuito de analisar os prolongamentos odontoblásticos e suas ramificações, em dentes humanos, fixaram 27 dentes saudáveis em solução de aldeído e tampão fosfatado pH 7.2 a 4°C durante dois dias. As raízes foram removidas após a extração. Após 5 horas, as coroas foram divididas em 4 partes no sentido mesio-distal e vestibulo-lingual refrigerando com tampão fosfatado a 4°C. Após a desidratação em etanol e propileno óxido, os quartos foram prensados em resina de baixa viscosidade por 1 hora a 36°C. Os espécimes foram imersos em nitrogênio líquido e fraturados com um cinzel em direção paralela à superfície oclusal ou incisal. Os fragmentos foram transferidos para óxido de propileno para remover a resina. Após a secagem em ponto crítico, os espécimes envolvendo toda a extensão da dentina, foram cobertos com ouro e examinados em M.E.V. Os prolongamentos odontoblásticos foram observados por toda a extensão dentinária. Os prolongamentos das partes mais internas da dentina estavam intimamente próximas das paredes dos túbulos dentinários. Alguns túbulos apresentavam uma fibra delgada ao lado do prolongamento. Na parte média, os prolongamentos se tornaram mais finos, com aparência de corda, com ramificações laterais e um amplo espaço periodontoblástico pôde ser observado. Os prolongamentos puderam ser notados em apenas poucos túbulos da porção mais externa da dentina e estavam divididos em ramificações longitudinais e laterais, entrando ou saindo dos túbulos. Tanto na parede dos túbulos como na superfície dos prolongamentos foi possível observar a presença de corpos esféricos e de vários diâmetros, além de depósitos minerais nos prolongamentos, ocasionalmente, quase ocluindo os túbulos.

Thomas, em 1984, propôs um estudo para investigar a ultra-estrutura da LL, usando uma combinação de desmineralização e digestão por uma enzima da matriz dentinária.

Foram selecionados 20 terceiros molares não erupcionados com formação completa. Após as extrações, as raízes foram removidas na altura da JCE, e cortadas com broca sob refrigeração. Foram feitas ranhuras no sentido mésio-distal das coroas e elas foram fraturadas ao meio separando vestibular e lingual. Formaram-se, dessa forma, dois grupos contendo 20 metades cada um. Os espécimes do grupo 1 ficaram de um dia para outro na solução fixadora Karnovsky a 4°C. Os espécimes do grupo 2 ficaram armazenados em tampão cacodilato de sódio 0.1M, pH 4, na mesma temperatura. Todos os espécimes dos dois grupos foram desmineralizados em hipoclorito de sódio 6N durante 60 min a 60°C, lavados várias vezes em tampão fosfatado (pH 6.8) e, seqüencialmente, digeridos por uma collagenase. Os espécimes de cada grupo foram subdivididos em 3 outros grupos cada, sendo que os grupos 1a e 2a foram preparados para análise em M.E.V., os grupos 1b e 2b sofreram ação da hialuronidase e os grupos 1c e 2c serviram de controle, armazenados apenas em tampão. Para o preparo em M.E.V. os espécimes foram fixados em tetróxido de ósmio a 1% em tampão cacodilato 0.1M (pH 7.4) durante duas horas, desidratados, secados em ponto crítico e cobertos por ouro. A desmineralização seguida da digestão pela collagenase removeu uma grande quantidade de matriz dentinária. Entretanto, a LL não foi afetada por esse tratamento, remanescendo no interior dos túbulos dentinários. Essa estrutura foi observada em todas as regiões do tecido, desde a junção da pré-dentina até a JAD. No grupo 1b, previamente fixado, não foi observada alteração das estruturas, apresentando as mesmas características dos espécimes não tratados com a hialuronidase. Entretanto, no grupo 2b, não fixado, pôde-se observar a perda total da LL, mostrando a digestão dessa estrutura por essa enzima, indicando alto grau de glicosaminoglicanas em sua constituição evidenciando sua natureza extracelular e mostrando não fazer parte do processo odontoblástico. A hialuronidase não teve efeito sobre os espécimes fixados, talvez pelo fato de o agente fixador prevenir a ação dessa enzima, não deixando ocorrer clivagem das proteínas dessa estrutura.

A natureza das EITs na dentina mineralizada tem sido muito discutida. Nesse sentido, Szabó J., Trombitás e Szabó I. (1985) tiveram como intuito examinar a estrutura da parede dos túbulos dentinários humano e sua relação com o processo odontoblástico. Foram utilizados 21 dentes pré-molares. Após a extração, os dentes foram fixados em solução tamponada de aldeído fosfatado pH 7.4 por dois dias. As raízes foram removidas imediatamente após a extração. Após 5 horas, as coroas foram divididas em 4 partes no sentido mésio-distal e vestibular-lingual, usando uma serra e irrigando com a solução fixadora. Os espécimes foram embutidos em resina, fraturados congelados e depois secados em ponto crítico para análise em M.E.V. Na região da pré-dentina, os túbulos estavam

revestidos por uma estrutura membranosa e lisa que era contínua com a parede tubular da dentina mineralizada e foi observada por toda a dentina em quase todos os túbulos até a JAD. Uma camada de fibras foi notada entre as estruturas membranosas e as paredes mineralizadas da DPT. Essa estrutura membranosa pôde ser removida pelo processo de fratura sem alterar a camada fibrilar. A bainha da parede tubular foi distinta dos processos odontoblásticos e melhor observada no terço médio da dentina onde o diâmetro do prolongamento é menor que o diâmetro do túbulo. Quando o túbulo foi exposto longitudinalmente, tanto o prolongamento quanto a bainha puderam ser observados. Na parte mais externa da dentina, onde o lúmen tubular ficava mais constricto, contactava o processo odontoblástico. Os autores concluem que a parte interna da bainha é formada por uma estrutura membranosa e a parte externa por fibras, e que essas duas camadas podem ser separadas pelo processo de fratura. Na porção mais externa da dentina, a maioria dos túbulos continha apenas a bainha. É possível que apenas alguns prolongamentos apresentem o mesmo comprimento de seus respectivos túbulos dentinários ou que, devido ao preparo dos espécimes, muitos prolongamentos sofram contração e são destruídos, por isso não são vistos nas porções mais externas da dentina.

Sigal e Chernecky (1988) realizaram um estudo com o propósito de examinar a superfície dentinária digerida pela collagenase em áreas desmineralizadas da JAD para avaliar a morfologia do término dos prolongamentos odontoblásticos. Foram utilizados 4 dentes de ratos albinos fêmeas e 8 terceiros molares humanos. Após as extrações, os dentes foram armazenados em solução salina fosfatada a 0.1M sucrose em temperatura ambiente. Os dentes foram fraturados longitudinalmente. Os espécimes foram desmineralizados em EDTA a 18%, pH 7.4 contendo 0.1M de sucrose em temperatura de 37°C por 2 horas - dentes de ratos, e 6 horas - os dentes humanos - devido à diferença de tamanho dos espécimes. Os dentes foram lavados em tampão fosfatado por 1 hora e digeridos em collagenase por 1 hora - dentes de rato - e 2 horas - dentes humanos. Foram fixados em solução de glutaraldeído a 2% em tampão cacodilato 0.1M e 0.1M de sucrose, durante toda a noite. No outro dia, foram pós-fixados em tetróxido de ósmio a 1% por 1 hora e lavados em tampão cacodilato 0.1M. Os espécimes foram desidratados em uma série ascendente de etanol, secados em ponto crítico e metalizados em ouro para análise em M.E.V. Os resultados mostraram-se semelhantes para os dois grupos. Em todas as amostras examinadas foi possível observar o término distal de algumas das estruturas semelhantes aos prolongamentos ligeiramente abaixo da JAD ou até ela. Os termos dessas estruturas mostraram-se como pequenas dilatações esféricas. Em amostras humanas, algumas dessas estruturas mostraram-se vazias ou com uma concavidade dentro delas. Esses termos eram contínuos, com estruturas parecidas com prolongamentos

que emergiam dos túbulos dentinários. Os autores também citam que não há diferença na ordem do tratamento da superfície dos espécimes, pois, em outro trabalho, foi realizada inicialmente a fixação e depois a desmineralização e digestão pela collagenase, não havendo alteração na morfologia das estruturas. Entretanto, os autores concluem que mais estudos são necessários para confirmar se é de fato os terminos dos prolongamentos odontoblásticos e como essas estruturas interagem com a matriz orgânica e mineralizada que os cercam.

Frank e Steuer (1988) realizaram um estudo para analisar a porção radicular de 45 dentes pré-molares completamente formados. Após a extração, os dentes foram imediatamente imersos em nitrogênio líquido de 30 a 60 minutos e fragmentados em pequenos pedaços. Os fragmentos foram fixados por duas horas em solução de glutaraldeído a 2% e paraformaldeído a 2% em tampão cacodilato a 0.1M. Os fragmentos de dois dos 5 pré-molares foram fixados adicionando-se à solução acima 10% de dimetilsulfóxido (DMSO) ou 10% de glicerol - crioprotetores - e pós-fixados em tetróxido de ósmio a 1% durante 2 horas. O segundo método constituiu-se em fixar por 24 horas 5 pré-molares em solução de 2% de glutaraldeído e 2% de paraformaldeído em tampão cacodilato 0.1M seguido da imersão em nitrogênio líquido. Os dentes foram fraturados da mesma maneira que o 1º método e fixados novamente na solução de glutaraldeído-paraformaldeído por 12 horas. Isso foi seguido de uma pós-fixação em tetróxido de ósmio a 1% em tampão cacodilato por 12 horas. O esquema geral de fixação foi na solução de glutaraldeído-paraformaldeído e os 5 dentes de cada grupo receberam a adição do seguinte produto: glicerol a 10%, 10% DMSO, 10mg/l de papaína, 5g/100ml de EDTA com sal desidratado de sódio, 10 mg/100ml de nefedipina que é um antagonista do cálcio. Os fragmentos dos nove grupos de 5 pré-molares foram embebidos em resina epóxica, cortados com micrótomo e corados para análise em M.E.T. A qualidade da fixação dos tecidos foi evidente de acordo com o conteúdo no interior dos túbulos dentinários de qualquer região da dentina. Dois dos nove métodos estudados apresentaram melhores resultados. O uso do nitrogênio líquido depois da extração dos dentes e seguido da adição do DMSO ou após a fixação e seguido da adição de DMSO preservaram satisfatoriamente as EITs da dentina coronária e radicular. Quando comparada com a técnica sem o uso do DMSO, pôde-se observar que o DMSO preservou de maneira mais eficaz o material orgânico retido nos prolongamentos odontoblásticos e nos espaços periodontoblásticos, além de contrair menos as estruturas. Na porção interna da dentina, os prolongamentos odontoblásticos quase preenchiam totalmente o lúmen dos túbulos. Na porção média, os prolongamentos estavam presentes e o espaço periodontoblástico, geralmente amplo, preenchido com um denso material granular. Nas secções não desmineralizadas não foi possível observar a presença da

LL. Na porção mais superficial foi possível observar a presença dos prolongamentos odontoblásticos onde apenas um prolongamento era observado por túbulo que era limitado por uma membrana plasmática e preenchida por numerosos microfilamentos orientados paralelamente a ele. Raros grânulos também estavam presentes, sendo o espaço periodontoblástico semelhante a parte média da dentina. O uso do glicerol, papaína, EDTA e nifedipina sob as condições usadas não mostrou preservação satisfatória dos conteúdos tubulares.

Yoshiyama et al., 1989, tiveram como objetivo investigar mudanças nas estruturas dos túbulos dentinários em espécimes obtidos de áreas de dentes hipersensíveis e naturalmente dessensibilizadas, em defeitos em forma de cunha na mesma superfície cervical de dentina exposta de dentes hipersensíveis. Os dentes foram examinados estimulando-se a superfície da dentina exposta da lesão cervical de três formas diferentes: mecânico com sonda exploradora, água por 5 segundos e ar por 5 segundos. Vinte e dois dentes hipersensíveis foram selecionados. Em seguida, foram realizadas biópsias das regiões hipersensíveis e não sensíveis dos dentes. Espécimes de dentina cilíndricos com diâmetro de 0,8mm e altura de 0,5-0,8mm foram obtidos utilizando uma broca cilíndrica diamantada, em alta rotação e sob refrigeração, após anestesia dos pacientes. Quatorze, dos 22 pares de biópsias, foram analisados em M.E.V. e os outros oito espécimes submetidos à análise microrradiográfica. Para análise em M.E.V., os espécimes foram armazenados em solução salina e colocados em ultra-som por 5 minutos. Os espécimes foram fixados em glutaraldeído a 4% em tampão cacodilato de sódio (pH 7.4) por 18 horas. Então, foram desidratados, secados em ponto crítico e cobertos com ouro. Para microanálise de raios-X, os espécimes foram fixados em tetróxido de ósmio em tampão cacodilato (pH 7.4) por 12 horas, embebidos em resina epóxica e, depois, cortados verticalmente à lesão para análise. Os dentes que sofreram biópsia foram restaurados com ionômero de vidro e, após 3 meses, apresentaram redução da hipersensibilidade. Os resultados microrradiográficos mostraram que a radiolucidez dos túbulos foi mais alta que a da DIT nas áreas hipersensíveis. Nas regiões naturalmente dessensibilizadas, foi possível observar que os túbulos estavam obliterados e que uma camada hipermineralizada estava presente na área da superfície dentinária exposta. Em M.E.V., as superfícies dos espécimes hipersensíveis mostraram que a maior parte dos túbulos dentinários estavam abertos. Nos espécimes fraturados, alguns dos túbulos possuíam intimamente as suas paredes uma estrutura membranosa seguindo todo o eixo longitudinal. Nos espécimes não sensíveis, uma grande porcentagem dos túbulos estava obstruída e a superfície da dentina exposta estava extremamente plana. Cristais com formato romboidal foram observados

depositados bem próximos ao interior do lúmen da DPT, alguns deles com 0,3µm de diâmetro. A conclusão foi a de que a hipersensibilidade acontece em áreas onde os túbulos estão abertos. No caso, 75% dos túbulos das áreas hipersensíveis apresentaram-se abertos, enquanto que nas áreas não sensíveis apenas 24% dos túbulos estavam abertos e 70% obliterados por cristais na região intratubular. Os cristais em forma romboidal eram parecidos com os cristais de *whitlockite*. Também foi observada nos túbulos hipersensíveis uma estrutura semelhante com a LL, mas não foi observada nas áreas não sensíveis. Ela deve ter sido destruída ou camuflada pelos cristais depositados dentro do lúmen dos túbulos.

Em 1990, Yoshiyama et al., tiveram como propósito investigar a ultra-estrutura dos túbulos dentinários em áreas expostas da dentina radicular, com e sem sensibilidade, e a composição dos cristais intratubulares através da microanálise de raios- X. Foram selecionados pacientes com HD e lesões cervicais em forma de cunha. Os métodos para exame da sensibilidade foram os mesmos que de 1989, utilizando a mesma técnica de biópsia nas regiões hipersensíveis e não sensíveis. Foram utilizados oito pares de dentina. Os espécimes foram fixados em glutaraldeído a 4%, pós-fixados em tetróxido de ósmio a 2% e embebidos em resina epóxica. Cortes verticais às lesões, com 80µm de espessura, foram obtidos dos espécimes. Para análise em M.E.T., os espécimes foram cobertos com carbono. Os resultados em microrradiografia mostraram os túbulos obstruídos por um material radiopaco nas áreas não sensíveis, e nas áreas hipersensíveis a maioria dos túbulos estavam vazios. Em M.E.T., foi possível observar que a maior parte dos túbulos das áreas hipersensíveis estava vazios e cercados por uma área altamente eletrodensa, aparentemente a DPT. Um material eletrodenso que contornava a DPT internamente foi observado em alguns dos túbulos vazios. Já nos espécimes não sensíveis foi possível observar os túbulos obstruídos por um material altamente eletrodenso, aparentemente contínuo com a DPT. Em alto aumento, foi possível observar que os lúmens dos túbulos estavam preenchidos pelo aumento da DPT e cristais com tamanhos menores 0.1µm contínuos com a DPT ou largos cristais romboidais no centro do lúmen. Na microanálise de raios-X, a razão entre Ca/P da DIT, peritubular e material de obstrução dos túbulos das áreas dessensibilizadas naturalmente foram medidos. A presença do Ca e P foram claramente identificados e não houve diferença significativa entre os valores nessas estruturas. Nas áreas hipersensíveis, nas estruturas eletrodensas dentro do lúmen dos túbulos, o Ca e P não foram encontrados, demonstrando que essas estruturas consistem de componentes orgânicos. Essas estruturas eletrodensas que circundam a DPT foram encontradas apenas nos espécimes com sensibilidade e com túbulos abertos. Esse estudo suporta a teoria hidrodinâmica da dentina hipersensível em túbulos abertos.

Pagavino, Pace e Pierleoni (1991) tiveram como objetivo examinar o estado do componente orgânico em condições normais e posteriormente condicionados com ácido cítrico, para traçar um perfil morfológico de tal estrutura laminar em uma visão tridimensional. Os dentes foram extraídos, fixados em formalina e as raízes removidas fraturando das coroas. Os fragmentos coronários foram divididos fraturando ao meio sem tocar em dentina. Metade das coroas foi mantida em formalina tamponada a 10% e as outras metades em ácido cítrico a 10% por 24 horas, posteriormente lavadas com água deionizada por 5 minutos e mantidas em formalina tamponada a 10%. Todos os espécimes foram desidratados em álcool etílico e acetona e secados em ponto crítico. Depois foram metalizados em ouro para análise em M.E.V. A desmineralização fez com que a DPT desaparecesse e uma estrutura parecida com uma lâmina estava presente e se estendia por todo o túbulo. As amostras que não foram desmineralizadas não demonstraram estrutura similar por causa de sua adesão às paredes internas dos túbulos. Essa formação, as quais os outros autores chamaram de LL devido a seu alto conteúdo de glicosaminoglicanas, pode ser o fator chave no controle da formação da DPT e esclerose dentinária e deve seguir de guia para outras pesquisas.

Em muitos estudos tem sido observada a presença de fibras colágenas delineando as paredes dos túbulos livremente, mas nenhum estudo tem procurado determinar a extensão e a distribuição dessas fibras colágenas na dentina humana. Dai, Ten Cate e Limeback (1991) procuraram corrigir essa deficiência estudando os túbulos e verificando a presença e a configuração dessas fibras colágenas com a intenção de fornecer informações definitivas para estudos de esclerose dentinária e permeabilidade. A dentina de 27 dentes humanos incisivos, caninos, pré-molares e molares de pacientes, com mínima atrição, sem lesão cariosa ou com lesão cariosa incipiente, foi examinada em M.E.V. Foi encontrado colágeno tubular em 65% dos túbulos dentinários na dentina próxima da polpa, com 16% dos túbulos contendo feixes largos de colágeno ocupando mais do que 1/5 do lúmen tubular. Na dentina média, os números correspondentes foram de 42% dos túbulos com colágeno sendo 7% de largos feixes e, na dentina externa, 12% dos túbulos com colágeno intratubular e 0%. Esse padrão de distribuição foi o mesmo para todas as famílias de dentes examinadas e pareciam não estar relacionados com a idade.

Oyama e Matsumoto (1991) realizaram um estudo para examinar a morfologia da superfície dos túbulos dentinários hipersensíveis de 105 dentes em modelos replicados e impedância elétrica. A idade dos pacientes variou entre 20-60 anos. Um campo seco foi assegurado antes de serem feitas as réplicas da dentina hipersensível. O grau de

hipersensibilidade foi avaliado de duas maneiras: com uma sonda sendo friccionada cuidadosamente na dentina e a medida de impedância elétrica. Pontos com grau de impedância baixa eram considerados hipersensíveis. As áreas hipersensíveis foram fotografadas e comparadas com os modelos replicados. As réplicas foram preparadas para M.E.V. Os resultados mostraram que a dentina cervical hipersensível foi mais freqüente em indivíduos entre 40-50 anos e menos freqüente em pacientes com 20, 30 e 60 anos. Os pontos de hipersensibilidade mostraram-se mais numerosos nas partes mais profundas e centrais dos defeitos. A M.E.V. dos modelos dos pontos hipersensíveis mostrou túbulos dentinários alargados, túbulos alargados e aglutinados, grupos de túbulos aglutinados similares a faixas e casos em que a cervical hipersensível variou de 15 a 150 Ohms. Concluiu-se que existe significativa correlação entre a morfologia dos túbulos dentinários e a hipersensibilidade.

Os autores Goracci et al. (1993) examinaram alguns espécimes de dentina fraturada de terceiros molares saudáveis de pessoas com idades entre 20 e 30 anos. Após a extração, os dentes foram fixados em solução neutra de formalina tamponada a 10%, e neles foram confeccionadas cavidades V e I com profundidade de 2,5mm de forma a ficar a uma distância de 1mm da polpa. Os espécimes foram fraturados pois, segundo os autores, esse representa um método melhor para obter uma visão tridimensional da organização de um tecido mineralizado como a dentina. Os fragmentos foram desidratados em soluções à base de álcool etílico em concentrações crescentes (30%, 50%, 70%, 90% e 100%) e secados em ponto crítico. Os espécimes foram metalizados em platino com espessura de 200Å. Para que os espécimes não sofressem reidratação, eram mantidos em estufa. Conectando o M.E.V. a um sistema de análise computadorizado de espectrometria (E.D.S.), foi possível fazer uma análise simultânea dos diferentes elementos que um espécime contém, e essa técnica foi utilizada para analisar todos os elementos com números atômicos maiores que cinco. Os autores descreveram as estruturas tubulares saudáveis, a DPT e intertubular, a sinuosidade dos túbulos dentinários e em alguns espécimes a presença de umas estruturas cilíndricas no interior dos túbulos, notando-se claramente serem estruturas distintas. A análise em E.D.S, mostrou que as EITs apresentam a mesma composição da DIT, podendo-se observar a presença de fosfato de cálcio e magnésio. Já a DPT é constituída quase que exclusivamente de fosfato de cálcio. Foi possível demonstrar a presença das estruturas cilíndricas, que são definitivamente mineralizadas, em dentes sadios e livres de cárie. Entretanto, a presença de tais estruturas não foi concomitante com o desaparecimento da DPT, que é uma modificação estrutural típica que acontece com o avanço da lesão cariosa.

Carvalho et al., em 1996, num estudo com o propósito de avaliar os efeitos de três diferentes métodos na contração da dentina desmineralizada dos espécimes durante preparo para análise em M.E.V., prepararam bastões de dentina, com aproximadamente 0.7 X 0.7 X 5.0 mm, de terceiros molares humanos extraídos. Os espécimes foram desmineralizados em EDTA a 0.5 M (pH 7.0) por 3 dias e seus volumes medidos com um micrometro digital sob um microscópio. Os espécimes foram divididos de forma randomizada para os grupos experimentais e, quimicamente dissecados em acetona. No outro dia foram submetidos a secagem em hexametil-dosiloxano, peldri II ou ponto crítico. As dimensões foram aferidas novamente, e as mudanças em volume expressas em porcentagem do volume original da dentina desmineralizada. A desidratação em acetona causou uma pequena, mas significativa redução no volume dos espécimes demineralizados e fixados em formalina, mas nos espécimes não fixados essa alteração não foi significativa. No geral, os três procedimentos de secagem causaram alguma contração nos espécimes desmineralizados. Os espécimes não fixados apresentaram uma contração volumétrica de 15-20% depois de secados em qualquer método e os espécimes fixados, entre 25-35%. Independente da técnica de secagem, os espécimes contraíram entre 10-20% quando medidos na câmara a vácuo do M.E.V. Dos três métodos empregados para secagem, hexametil-dosiloxano pareceu ser uma alternativa viável para preparo de espécimes em M.E.V.

Em 1996, Yoshiyama et al. realizaram um estudo com o intuito de determinar se existem diferenças na distribuição das estruturas em forma de tubo no interior dos túbulos em espécimes de dentes humanos hipersensíveis e não sensíveis nas regiões cervicais da dentina radicular. Dez pares de dentina foram coletados da dentina exposta de pacientes com hipersensibilidade. As biópsias foram feitas de acordo com Yoshiyama 1989, assim como a verificação da sensibilidade. Para análise das estruturas foram utilizados o M.E.V. e o EDS. Cinco pares dos espécimes foram imersos em solução salina fosfatada (pH 7.4), colocadas em ultra-som por 5 minutos e fixadas em uma solução de glutaraldeído a 2% e paraformaldeído a 2% em tampão cacodilato 0.1M (pH 7.4) por 18 horas. Foram desmineralizados em ácido clorídrico por 5 minutos, lavados em tampão cacodilato e digerido por collagenase. Os espécimes foram desidratados, submetidos a secagem em ponto crítico e cobertos com ouro para análise em M.E.V. Para o preparo dos dentes em cortes longitudinais, os outros cinco pares de espécimes foram colocados em ultra-som, fixados como já descrito acima e embebidos imediatamente em moldes de acrílico com uma resina composta. Dois cortes longitudinais feitos foram digeridos pelo tratamento ácido clorídrico e collagenase. Os outros cortes longitudinais foram utilizados para avaliar a composição dos materiais intratubulares,

permitindo avaliar qualitativamente o material cilíndrico dentro dos túbulos. O material mostrou-se rico em enxofre, fósforo e cálcio. A razão S/P foi de 2.29 e Ca/P de 0.76, sendo que, nas estruturas dentinárias adjacentes, apenas Ca e P foram encontrados numa razão de 1.52. A sílica e o titânio foram claramente detectados apenas nos *tags* de resina. Os resultados mostraram todos os túbulos abertos nos espécimes tratados com ácido clorídrico. Uma considerável quantidade de matriz dentinária foi removida com ácido clorídrico e collagenase. Nas áreas hipersensíveis, as estruturas em forma de tubo, com espessura de 0.2µm, foram detectadas em grande parte dos túbulos dentinários. A aparência dessas estruturas pôde ter sido modificada pelo tratamento que receberam durante o preparo para análise em M.E.V. Nas áreas não sensíveis, todos os túbulos estavam abertos como resultado do tratamento com ácido clorídrico-collagenase usados para remover os cristais mineralizados, mostrando ausência das estruturas tubulares. Nos espécimes hipersensíveis e embebidos em resina, foi possível observar a formação de *tags* de resina que não penetraram mais que 5µm dentro dos túbulos e mostraram-se mais finos que as estruturas em forma de tubos. Já nas áreas não sensíveis, as superfícies embebidas em resina apresentaram-se lisas e a resina não penetrou nos túbulos, pois os mesmos estavam originalmente ocluídos. Os achados indicaram que essas estruturas em forma de tubos podem atuar como fatores inibidores da obliteração tubular, prevenindo a precipitação fisiológica dos cristais minerais e mantendo a desobstrução e a hipersensibilidade tubular.

Desde que a dentina exposta ao meio bucal resistiu a importantes transformações composicionais e morfológicas, a adesão da mesma passou diferir significativamente daquela dentina normal não afetada. Meerbeek et al. (1994) tiveram como objetivo investigar a interface entre a dentina esclerótica e a resina composta, sendo essa dentina tipicamente encontrada nas lesões cervicais por abrasão e erosão. A dentina foi morfológicamente caracterizada pelo M.E.V., depois de condicionada com ondas de íons-argônio e foram comparadas com a microestrutura da interface produzida na dentina normal. A superfície dentinária foi condicionada com ácido cítrico a 10-20% por 40 segundos, lavadas e submetidas a secagem com ar e, em seguida, aplicados sobre ela primer, adesivo e resina composta. Esses dentes foram, então, armazenados por 8 horas em formalina a 10% e cortados no sentido longitudinal, passando pelo centro da lesão. Os espécimes foram polidos e submetidos ao procedimento de condicionamento por ondas de íon-argônio. Também foram analisadas em M.E.V. superfícies das lesões com esclerose condicionando-as com ácido cítrico a 10-20%, por 40 segundos, fixados em glutaraldeído a 2.5% em tampão cacodilato 0.1M, pH 7.4 e secados em ponto crítico. Nos orifícios tubulares, a DPT apareceu delgada e

observaram-se projeções na zona de interdifusão como um arranjo esclerótico mineral estendendo-se acima da superfície dentinária mineralizada não tratada. A observação da dentina esclerótica tratada apenas com ácido cítrico evidenciou áreas completamente hipermineralizadas, sem expor os túbulos, que variaram com áreas onde se observava a presença das projeções escleróticas minerais estendendo acima da dentina mineralizada sem tratamento. O aumento da formação da DPT e a obstrução parcial ou total dos túbulos dentinários pela precipitação dos depósitos minerais cristalinos impediram a formação dos *tags* de resina ou formaram *tags* de resina muito curtos. Pôde-se concluir que a baixa retenção das resinas em restaurações classe V, em dentina esclerótica, se deve, em parte, à falha de uma adequada penetração da resina no interior dos túbulos e na DIT desmineralizada. Se as dentinas intertubular e peritubular são mais ácido-resistentes que a dentina normal, a *smear layer* produzida nessa dentina mais mineralizada será menos solúvel em ácido comparada à *smear layer* normal.

Grötz et al., 1998, 2000, 2003 tiveram como objetivo demonstrar o potencial em três dimensões do microscópio eletrônico confocal a laser (CLSM) para analisar a JAD que é caracterizada por uma micromorfologia de diferentes tecidos como o esmalte, dentina e prolongamento odontoblástico. Foram utilizados, nessa pesquisa, 50 dentes molares humanos impactados. Após a extração, os dentes foram desinfetados em solução de azidro de sódio a 0.02% por duas horas. Os dentes foram cortados em duas partes no sentido vestibulo-lingual. Metade dos espécimes foram submetidos à análise em CLSM e armazenados em solução fisiológica de cloreto de sódio. A outra metade foi embutida em Technovit, fixada em etanol a 50%, sendo realizados cortes de 20µm de espessura nesses espécimes e analisados com CLSM. Os grupos foram comparados, concluindo-se que o CLSM permitiu uma visualização histomorfométrica do tecido úmido duro e mole dos dentes. A microscopia da sub-superfície dos espécimes praticamente excluiu artefatos mecânicos devido ao polimento e corte, e a técnica provou ser particularmente apropriada para análise histológica dos prolongamentos odontoblásticos em sua completa extensão entre a polpa e a JAD.

Breschi et al. (1999), em estudo das superfícies dentárias utilizando o FEISEM (microscópio eletrônico de varredura de emissão de elétrons), trataram fatias de dentina cercadas com esmalte intacto com EDTA (pH 7.4) ou com ácido fosfórico (pH 7.0). As amostras foram fixadas, sequencialmente desidratadas em etanol e secadas em ar (método A) ou em ponto crítico (método B). Após cobertura com metal, as superfícies foram examinadas. Na dentina, a superfície ultra-estrutural - com cristais mineralizados e fibras colágenas - foi observada tanto na amostra tratada como na sem tratamento. Finas estruturas medindo em

torno de 6 nm foram observadas nas amostras tratadas com EDTA e revelaram a distribuição dos cristais e das fibras colágenas no tecido dental. Em alta ampliação (50.000X), e focando próximo à periferia do orifício tubular nas amostras tratadas com ácido fosfórico e secadas pelo método B, foi possível observar uma superfície mais porosa e, nos túbulos, a presença de estruturas fibrosas e amorfas, sendo esta última, provavelmente, remanescente da LL. Também observou-se uma anastomose entre as fibras que estavam próximas ao orifício dos túbulos circundando a abertura criando um colar de colágeno espesso, conectando os túbulos com a DIT. De acordo com os achados microscópicos, demonstrou-se que os diferentes ácidos tiveram efeitos diferentes sobre as superfícies dentinárias e que o método de secagem dos espécimes permitiu efeito na visualização da ultra-estrutura dentinária.

Goracci, Mori e Baldi (1999) tiveram como objetivo observar o comprimento dos prolongamentos odontoblásticos, com um auxílio do M.E.V. e C.L.S.M, que permitem um escaneamento tomográfico das amostras biológicas. Foram utilizados 12 dentes pré-molares onde, sob isolamento absoluto, foram confeccionadas cavidades classe V com 2mm de diâmetro e 3mm de profundidade e restauradas com cimento de óxido de zinco e eugenol. Após 4 semanas, esses dentes foram extraídos, cortados no centro da raiz para facilitar a penetração do agente de fixação e imediatamente colocados dentro da solução de glutaraldeído a 2.5% em tampão fosfatado a 0.1M. Metade das amostras, após imersão em nitrogênio líquido, foi fraturada para obter secções longitudinais ao plano da cavidade preparada. Os espécimes foram preparados para análise em M.E.V., sendo desidratados em álcool, submetidos a secagem em ponto crítico e metalizados com platina. A outra metade foi desmineralizada em EDTA a 0.3M, lavada em água destilada, tratada com álcool N-butil e embebida em resina. Seguidamente, foram seccionadas em cortes longitudinais ao plano da cavidade, com espessura de 15-20µm usando-se um micrótomo. A análise em M.E.V., que se deu desde a junção dentina-polpa até a JAD, revelou que a extensão celular dos odontoblastos terminou em 0.5-0.7µm no interior dos túbulos. Também observou-se que os túbulos que possuíam as extensões odontoblásticas não apresentavam DPT. Os túbulos mais afastados da polpa pareceram estar vazios, mas a DPT estava presente. Entretanto, as amostras examinadas pelo microscópio confocal apresentaram estruturas tubulares tanto na junção dentina-polpa, como na porção média da dentina estendendo-se até a JAD. Segundo os autores, foi interessante observar que essas estruturas tubulares encontradas foram vistas em continuidade com a dentina terciária formada, em áreas onde não há processo odontoblástico, mostrando ser a LL, composta de glicosaminoglicanas e sem dúvida, de origem extracelular; e que o que ainda permanece para ser esclarecido é a função fisiológica da LL. No osso, essa lâmina atua

como uma barreira que regula a passagem de substâncias entre o plasma e a matriz mineralizada e isso pode ser o que acontece com a LL nos dentes, controlando as trocas entre os fluidos tubulares e a DPT.

Muylle, Simoens e Lauwers (2000) investigaram os túbulos dentinários de 20 dentes incisivos permanentes de cavalos. A idade dos animais variou entre 5-20 anos. Os dentes foram extraídos e imediatamente armazenados em solução aquosa de cloramina 0.5% a 4°C. Oito dentes foram utilizados para análise das superfícies oclusais e foram tratados com ácido fosfórico a 20% por 10 segundos. Vinte dentes foram fraturados no sentido vestibulo-lingual atravessando a polpa. As metades mesiais foram deixadas intactas e as metades distais condicionadas com ácido fosfórico a 20% por 20 segundos. A fratura em plano longitudinal permitiu uma visualização dos túbulos expostos desde a pré-dentina até a JAD. Para análise em M.E.V., os dentes foram processados de acordo com Perdigão et al. (1995), cobertos com ouro e observados em Jeol. Nas fraturas longitudinais, os odontoblastos puderam ser vistos juntos à borda periférica da cavidade pulpar, formando uma camada contínua, adjacente ao tecido da pré-dentina, e cada um apresentou uma extensão dentro dos túbulos da pré-dentina. O diâmetro dos prolongamentos foi de 0.5µm. Prolongamentos conectados com o corpo celular foram apenas observados em uma estreita zona próxima à borda da cavidade pulpar. As porções mais periféricas dos túbulos dentinários mostraram-se vazios ou abrigavam estruturas cilíndricas. Essas estruturas foram observadas nos cortes longitudinais e nas superfícies oclusais condicionadas. Não houve nenhuma evidência mostrando haver correlação entre essas estruturas e os prolongamentos odontoblásticos. Essas estruturas cilíndricas possuíam aparência de bainha e uma superfície levemente granulada. Nos dentes não desmineralizados, elas estavam presentes, mas raramente foram observadas.

Yoshida, et al. (2002) utilizaram um corante fluorescente com Dil e rondamina-paloidina para marcar a F-actina intracelular em conjunção com observações em M.E.T., com o propósito de mostrar com precisão o padrão de distribuição dos prolongamentos odontoblásticos na dentina humana. Foram utilizados 10 dentes pré-molares erupcionados e sem cárie onde, após a extração, o terço apical das raízes foi cortado e descartado. As porções remanescentes dos dentes foram fixadas em paraformaldeído a 4% e glutaraldeído a 0.1% em tampão fosfatado a 0.1 M por 24 horas. Os dentes foram descalcificados em EDTA a 10% e fatiados longitudinalmente no sentido vestibulo-lingual, passando pela câmara pulpar (5 dentes) e transversalmente até a JAD (5 dentes), com espessuras de 100µm cada espécime. Os espécimes foram corados em Dil (que cora a membrana celular de células em dentes descalcificados) e rondamina-paloidina. Para análise em M.E.T., os espécimes, após serem

observados em CLSM, foram pós-fixados em tetróxido de ósmio a 1%, desidratados em etanol e embebidos em resina. No exame com CLSM, a marcação fluorescente com Dil mostrou intensa coloração na polpa e dentina próxima à polpa, a qual foi diminuindo em direção à porção média da dentina. Uma marcação leve do Dil foi observada por toda a extensão dos túbulos até a JAD. A marcação da F-actina também foi observada apenas na parte mais interna da dentina, estando ausente na porção média e mais externa. Na porção mais interna, o M.E.T. mostrou os prolongamentos no interior dos túbulos dentinários, os prolongamentos cercados por uma membrana celular, contendo uma abundância de estruturas filamentosas e uma estrutura eletrodensa, correspondente à *lamina limintans* circulando o lúmen tubular. O número e diâmetro dos prolongamentos odontoblásticos diminuíram conforme iam em direção à porção média da dentina. De acordo com o M.E.T., os túbulos circundados pela estrutura eletrodensa estavam, de fato, vazios em seus terços médios e porções externas. Imediatamente abaixo da JAD, entretanto, os túbulos manifestaram concentrações densas de um material granuloso fino, porém a presença de membrana celular não foi reconhecida. Os autores concluíram que os prolongamentos odontoblásticos não se estendem além da dentina mais interna em dentes pré-molares humanos completamente erupcionados e observaram que, a LL se estende por todo o comprimento dos túbulos dentinários e que baseados nos resultados de fixação por Dil, o lipídio é o componente primário dessa estrutura.

A dentina é um tecido dinâmico que tende a modificar com o tempo de forma quantitativa e qualitativa no curso de um processo patológico e em condição fisiológica. As maiores partes dos estudos realizam testes das propriedades dos sistemas adesivos em dentes saudáveis não afetados pelo processo carioso, pelos fenômenos abrasivo e erosivo não representando, dessa forma, a real condição clínica. A esclerose dentinária é uma variável clínica capaz de comprometer a fidelidade da técnica adesiva e a intensidade e prevalência desta se acentua com o aumento da idade.

Segundo Pashley et al., 2002, os túbulos dentinários da dentina esclerótica são ocluídos por cristais de *whitlockite* que são ácido-resistentes. A resina, não podendo penetrar dentro dos túbulos, anula a contribuição dos *tags* de resina na força de adesão. Existe ainda uma discussão sobre a presença desses cristais na DIT, os quais talvez a deixem mais resistente ao condicionamento ácido. A presença desses cristais de *whitlockite* nos túbulos da dentina esclerótica permanece como um problema na compreensão da adesão de resina, principalmente nas lesões cervicais não cariosas.

Tem sido observado que a dentina afetada pela cárie apresenta depósitos de β -tricálcio fosfato (β -TCP) – *whitlockite* - nos túbulos dentinários. (DACULSI et al., 1987; DUKE; LINDEMUTH, 1991). Os cristais de *whitlockite* são menos solúveis que os cristais de hidroxiapatita em um pH menor que 5.5 (FRANK; VOEGEL, 1980; VERBEECK; De BRUYNE, 1989) devendo prevenir, dessa forma, uma rápida desmineralização. Comparando o mineral residual após o condicionamento ácido confirmou-se a presença de depósitos de TCP ácido-resistentes. O magnésio têm mostrado ser um íon estável na mineralização do β -TCP e Mg-*whitlockite*. Esses cristais têm mostrado ocluir completamente os túbulos dentinários da dentina de lesão cariada e tem-se sugerido que ele é a reprecipitação dos produtos dissolvidos na dentina. (DACULSI et al., 1987). Em outras palavras, a obstrução dos túbulos dentinários impede o uso desses túbulos como caminho para a penetração dos monômeros resinosos. (WANG; SPENCER; WALKER, 2007). A penetração dos monômeros resinosos pode apenas ocorrer através de uma estreita e interfibrilar difusão dos canais. Em adição, essa desmineralização parcialmente profunda e irregular que acontece nesse tipo de dentina na presença dos cristais ácido-resistentes, resulta em maior quantidade de água residual depois da lavagem do ácido podendo comprometer ainda mais a integridade marginal da restauração e comprometendo a fotopolimerização.

Lefèvre, Frank e Voegel, em 1976, teve como objetivo estudar a dentina humana através do uso do microscópio de íons secundários e difração de elétrons. Ele utilizou discos de dentina coronária com superfícies altamente polidas as quais foram cobertas com alumínio e analisadas com SMI 300. A análise em microscópio de íons secundários demonstrou uma distribuição qualitativa do cálcio, fósforo, magnésio, sódio e potássio. A informação mais interessante fornecida pela microanálise foi em relação ao alto conteúdo de alguns elementos químicos presentes na DPT. Quando presente, esta estrutura apareceu como anéis brancos circundando o lúmen dos túbulos dentinários. Um alto conteúdo de cálcio e magnésio foi observado nesse local e algumas vezes um alto conteúdo de potássio e sódio. Na microanálise dos túbulos esclerosados, observou-se, além de um alto conteúdo de cálcio e fósforo, a presença de magnésio, potássio e sódio e a obliteração do lúmen dentinário não pôde ser diferenciada da DPT. Devido à presença de magnésio na DPT, mostrada pela microanálise, foi realizado um estudo de difração de elétrons dessa dentina com um microscópio Jeol 100B e pôde ser facilmente identificado, pelos valores da difração, que os anéis brancos correspondiam à hidroxiapatita. Em adição aos anéis, observou-se a presença de certo número de pontos nos diafragmas. Esses pontos adicionais apresentaram diferentes equidistâncias pertencendo, portanto, a outra espécie de mineral. Comparando os valores de difração com os

valores do *whitlockite* pôde-se concluir que o *whitlockite* estava presente na DPT. Se o magnésio está incorporado na trama de *whitlockite* é porque existe uma substituição de íons cálcio por íons magnésio. Com base nos valores encontrados pelo autor, estimou-se que 1% do magnésio em peso está incorporado na estrutura de *whitlockite* na DPT.

Frank e Voegel (1980) tiveram o propósito de estudar a ultra-estrutura dos prolongamentos odontoblásticos na dentina e pré-dentina interpostas entre a zona translúcida e a polpa durante a cárie dental. Foram utilizados 20 molares que apresentavam na fissura oclusal lesão cariosa, onde a cavidade não ultrapassasse 1mm de profundidade. Após a extração, as raízes foram removidas e as partes coronárias divididas ao meio. Os fragmentos dentários foram fixados em solução de paraformaldeído a 2%, glutaraldeído a 2% em tampão cacodilato de sódio 0.1M por 1 hora e meia. Depois foram pós-fixados em solução de ácido ósmico a 2% com o mesmo tampão. Os dentes foram avaliados pelo M.E.T. e E.D.S. Os resultados não evidenciaram sinais de degeneração dos prolongamentos odontoblásticos os quais se mostraram ricos em microfilamentos, microtúbulos e amplos vacúolos. A calcificação intratubular ocorreu tanto por uma mineralização inicial do espaço periodontoblástico seguido da calcificação dos prolongamentos como pela calcificação inicial intracitoplasmática seguida da mineralização do espaço periodontoblástico. Os cristais inorgânicos depositados no espaço periodontoblástico consistiram dos *whitlockite* com a presença de hidroxiapatita em estágios mais tardios.

Os artigos mostram uma variedade de condições indicando que existem muitos padrões de mineralização, alguns dos quais envolvem os prolongamentos odontoblásticos. Com isso, Hawkinson e Eisenmann (1983) tiveram como objetivo, seguindo um período de tempo, avaliar as mudanças ultra-estruturais no conteúdo tubular da dentina em regiões de dentina exposta em dentes de rato. Os ratos foram anestesiados e foi feita a perfusão no ventrículo com solução de glutaraldeído a 4% em 0.04 m de tampão cacodilato em pH 7.2. Os dentes molares foram extraídos e montados na máquina de corte de onde se obtiveram corte longitudinais no sentido méso-distal de 400µm. Os dentes foram fixados por mais uma hora em glutaraldeído a 4% em tampão cacodilato, pós-fixados em tetróxido de ósmio a 1% e preparados para análise em M.E.T. Secções transversais dos túbulos também foram examinadas. Muitos túbulos dentinários continham prolongamentos odontoblásticos encolhidos, fibras colágenas largas e/ou acúmulos de minerais de várias formas. Os padrões de mineralização sugeriram mecanismos de obliteração dos túbulos, além da simples formação de DPT. A degeneração dos prolongamentos odontoblásticos e as fibras colágenas pareceram fornecer uma rede orgânica para o depósito de minerais.

Sakae, Mishima e Kozawa (1988) tiveram como objetivo descrever as mudanças nos cristais dentinários induzidos pelo tratamento com hipoclorito de sódio e obter alguma informação sobre a natureza dos cristais dentinários por meios da termogravimetria (TG), análise de diferença térmica (DTA), espectrometria de absorção infravermelha (IR) e E.D.S. Amostras de dentina foram preparadas de 6 dentes incisivos centrais permanentes de boi. Foram mantidas apenas as partes radiculares da dentina, que foram pulverizadas. O pó de dentina (100 mg) foi tratado com 300 ml de hipoclorito de sódio a 10% por 30 minutos em temperatura ambiente com suave vibração. Depois, foi peneirado em um filtro de membrana de celulose, lavado com água e secos no ar. DTA indicou a remoção do material orgânico das amostras de dentina seguido do tratamento, após o desaparecimento da reação exotérmica a 320°C. Os estudos em E.D.S. revelaram uma mudança na cristalinidade dos cristais da dentina e a formação de calcita depois do tratamento. O IR mostrou que a faixa dos íons carbono ficou mais fraca depois do tratamento, enquanto que o EDS mostrou que os íons magnésio tinham sido dissolvidos das amostras. *whitlockite* foram sempre encontrados nas amostras não tratadas e aquecidas, enquanto que estavam ausentes nas amostras tratadas e aquecidas. A dimensão dos cristais do *whitlockite* indicou parcial substituição do magnésio por cálcio. Os íons de magnésio parecem ser mais efetivos que os íons carbonos em formar o *whitlockite*. Os resultados mostraram que alguns íons de magnésio e carbono foram removidos dos cristais da estrutura dentinária pelo hipoclorito juntamente com o material orgânico. Sugeriu-se que os cristais na dentina tratada com hipoclorito foram similares aos cristais de esmalte do ponto de vista cristalográfico.

Daculsi et al. (1987) realizaram um estudo com o propósito de explicar a presença dos cristais β -TCP Mg-substituto em cáries paralisadas. Esse estudo consistiu de observações ultra-estruturais da formação dos cristais de *whitlockite in vitro*. Foram, também, selecionados dentes que apresentavam lesão cariosa dentinária. Eles foram fixados em formalina neutra em tampão a 4% ou solução de glutaraldeído a 2%, preparados para análise em M.E.T., para análises de difração e das estruturas em regiões menores que 10 nm de diâmetro. O β -TCP Mg-substituto foi obtido por um método de precipitação de soluções com Mg/Ca em razão de 5/95. Tais correlações guiam a proposta de uma possível seqüência cronológica dos eventos físico-químicos que ocorrem no cristal durante o progresso e paralisação da lesão cariosa na dentina. Foram observados, nos dentes cariados, túbulos completamente obstruídos por densos cristais muito maiores que aqueles vistos na DPT. Os autores sugeriram que o mecanismo inicial para o acontecimento observado dos largos cristais de *whitlockite* e de

apatita no lúmen tubular deve-se à dissolução da dentina mineral (CO_3^- e Mg ricos em apatita) e reprecipitação em β -TCP Mg-substituto (CO_3^- e Mg pobres em apatita).

Arnold, Konopka e Gaengler (2001) tiveram como objetivo investigar quantitativamente e qualitativamente a dentina esclerosada usando o M.E.V. e E.D.S e comparar os elementos existentes na dentina intratubular, DPT e dentina secundária com aquela dentina desmineralizada e dentina sadia, para obter mais informações sobre elas. Dezoito dentes que apresentavam lesões cariosas profundas foram extraídos e armazenados em 0.9% de NaCl contendo 0.1% de timol antes de embutir em Technovit 9100 e, cortes seriados de 80 μm de espessura foram realizados no sentido mésio-distal. Esses cortes foram analisados com microscópio de luz polarizada para identificar as lesões cariosas. Dois cortes de cada lesão foram cobertos com carbono e estudados em M.E.V. Dos 18 dentes estudados, 8 deles estavam ocluídos com dentina intratubular exclusivamente em áreas periféricas que se entendiam às zonas translúcidas e, em grande aumento, a densidade elétrica desse mineral intratubular mostrou-se maior que a densidade da DIT. O índice de elementos foi medido usando-se E.D.S. A proporção Ca/P, a qual indica a cristalização de hidroxiapatita, dentro de escala decrescente foi: dentina sadia, dentina desmineralizada, DPT e dentina secundária e, em menor proporção, a dentina intratubular. A razão Ca/P foi significativamente diferente ($P < 0.01$) entre a dentina sadia/intratubular, dentina sadia/hidroxiapatita e dentina sadia/a desmineralizada. Nenhuma diferença foi encontrada entre dentina sadia/peritubular e dentina sadia/secundária. O índice de magnésio foi significativamente diferente entre a dentina sadia e a secundária. O maior índice de magnésio encontrado foi na DPT. A razão P/Mg indicou um alto conteúdo de magnésio em relação ao fósforo na dentina intratubular e menor quantidade de magnésio em relação ao fósforo na dentina secundária. Diferença estatisticamente significativa na razão Mg/P foi encontrada apenas entre a dentina sadia e dentina secundária. Os resultados mostraram uma redução no índice dos elementos Ca e P e na razão Ca/P, a qual difere da dentina sadia, intertubular e desmineralizada. Isso supõe que a mineralização intratubular difere da aposição de dentina normal. De acordo com a proporção P/Mg na dentina intratubular, concluiu-se que existe mais Mg na dentina intratubular, comparada a qualquer outro tipo de dentina, o que suporta a hipótese de que o Mg está envolvido no processo de biomineralização. O material que estava obstruindo os túbulos dentinários era mais parecido com um mineral não-apatita e os autores concluíram que os odontoblastos sobreviventes contribuíram para a mineralização intratubular.

Por ser oportuno, portanto, Giachetti et al. (2002) realizaram exames conduzidos pelo M.E.V. e M.E.T. em amostras que apresentavam lesão cariosa e erosão cervical. As amostras

mostraram mudanças no conteúdo e diâmetro dos túbulos dentinários, conduzindo a vários níveis de obstrução do lúmen dos túbulos, justificando a diferença na permeabilidade dentinária. Existe um consenso de que essa obstrução acontece devido a uma neo-aposição de DPT associada com uma deposição intratubular de cristais de *whitlockite*, embora o debate ainda esteja aberto sobre como tais deposições acontecem. Os *whitlockite* se manifestam frequentemente como estruturas romboidais ou cubóides de dimensões entre 0,25-0,64 μ m ou, raramente, como um precipitado cristalino laminar que se dispõe transversalmente ao lúmen do túbulo. Foram observados *casts* de esclerose dentro dos túbulos, ocluindo completamente o lúmen dos túbulos ou apresentando uma cavidade central. Em geral, esses *casts* estavam circundados por uma fina fissura, que gerou várias interpretações. Muitos acreditam que a dentina esclerótica apresenta um aumento no seu componente mineral, mas sem explicar se este é apenas um aumento quantitativo ou se é devido a uma hipermineralização de uma dentina pré-existente. Após uma revisão literária feita pelos autores, foram reveladas numerosas hipóteses a respeito da origem da dentina esclerótica: alguns dizem que a formação é um fenômeno passivo da dissolução e precipitação e outros sugerem envolvimento ativo do prolongamento odontoblástico e da polpa. Desde que nenhum estudo tenha confirmado ou rebatido essas teorias, pode-se continuar pensando na esclerose dentinária como um evento multifatorial devido ao aumento da espessura da DPT e à precipitação intratubular de sais de cálcio associada com a mineralização de estruturas orgânicas dentro do lúmen dos túbulos.

Pashley et al., 2002 procuraram testar a hipótese de que a zona transparente afetada pela lesão cariada é condicionada diferentemente da dentina normal. Em seqüência, conduziu-se um estudo da superfície condicionada com ácido cítrico (0.018M, pH 2.5), usando um microscópio de força atômica (AFM). O objetivo desse estudo foi determinar o padrão de remoção de DPT e intertubular condicionados na dentina transparente afetada pela lesão cariada. Dentes cariados e terceiros molares usados como grupo controle foram obtidos. Após a extração, os dentes foram armazenados em água purificada e filtrada a 4°C até o preparo, e seccionados longitudinalmente. Os dentes cariados foram examinados em baixa potência em um microscópio ótico para determinar as áreas que possuíam a dentina transparente afetada pela lesão cariada. Cortes paralelos às superfícies oclusais foram feitos a fim de expor as áreas de dentina transparente para serem examinadas, assim como nos dentes controles, objetivando-se a comparação. Os cortes foram polidos e limpos em ultra-som. Os discos foram condicionados em diferentes intervalos de tempo (5 segundos até 30 minutos), para serem examinados. Nesse estudo, a DPT e intertubular tanto da dentina normal como da dentina afetada pela lesão cariada exibiram comportamento similar. A maior característica

distinguível da dentina cariada transparente foi a presença de depósitos minerais ácido-resistente no interior dos lúmens tubulares. A presença desses depósitos parece não ter influenciado na desmineralização da DPT e intertubular.

Azrak (2003) teve como objetivo avaliar, através do M.E.V., a morfologia da dentina cervical de lesões não cariosas e comparar com a dentina normal do mesmo dente, em lesões cervicais criadas do lado oposto ao das lesões naturais. Foram utilizados 15 pré-molares extraídos por razões periodontais, sem lesões cariosas e com diferentes níveis de esclerose. A parede lingual foi preparada, simulando a lesão cervical em forma e extensão. Os dentes foram, então, seccionados longitudinalmente no sentido cérvico-oclusal, separados as faces vestibulares das linguais, ficando assim com um total de 30 espécimes. As superfícies das lesões foram condicionadas com ácido fosfórico a 5% por 5 segundos para remoção da *smear layer*. Para permitir, no mesmo espécime, a observação da superfície da lesão e de seus componentes tubulares, cada secção foi novamente dividida, por fratura, longitudinalmente ao seu longo eixo. Os espécimes foram desidratados em solução ascendente de álcool e metalizados para subsequente análise por M.E.V. Constatou-se que, de modo geral, os túbulos nas LCNC se apresentaram obstruídos por estruturas mineralizadas de formato semelhante aos túbulos dentinários, projetando-se para além dos limites das superfícies da dentina. Verificou-se que a presença dessas estruturas variava de acordo com a região da lesão, com tendência a ocorrerem em sua porção mais central, correspondente ao ápice da lesão. Parte dos espécimes mostrava que tais estruturas se estendiam por todo o comprimento dos túbulos. Já, nas lesões artificiais, os túbulos encontravam-se invariavelmente amplos e abertos, destituído das estruturas vistas nas LCNC. A autora conclui que essas EITs são resultados de estímulos direto sobre a superfície dentinária exposta nas LCNC, independente da etiologia. Ao mesmo tempo, concluiu-se que os fenômenos que regem os processos típicos de esclerosamento dentinário são diferentes daqueles que orientam as deposições minerais nessas regiões de lesão cervical. Sugeriu-se, também, que as EITs encontradas no lúmen dos túbulos podem desempenhar um papel importante no controle da sensibilidade dentinária.

Segundo Porter et al. (2005), a dentina esclerótica é uma forma de alteração da dentina que deve ser bem compreendida. Foi realizado um estudo utilizando M.E.T. para investigar os efeitos do envelhecimento na fase mineral na dentina e as observações sustentam o mecanismo de dissolução e reprecipitação na formação da dentina transparente (esclerótica).

Frank (1999) relata que, em 1959, na primeira edição da revista *Archives of Oral Biology*, a primeira observação em M.E.T. foi apresentada secções na dentina humana madura sem descalcificação. Os prolongamentos odontoblásticos foram claramente mostrados

como sendo extensões dos odontoblastos. A DPT mostrou-se mais calcificada que a DIT e contendo hidroxiapatita, como demonstrado pela análise de difração de elétrons. Nos 40 anos que se seguiram, progressos significantes foram feitos pela metodologia do M.E.T., incluindo melhorias na fixação e inclusão, nos métodos histoquímicos e imuno-histoquímicos e o uso do microscópio eletrônico auto-radiográfico. Ainda, o advento do M.E.V. e da microscopia eletrônica de alta resolução (H.R.T.E.M.). Dessa forma, novos conhecimentos foram obtidos como o odontoblasto e seus prolongamentos e a LL, os nervos fibrilares dentinários e os aspectos em HRTEM da dentina. Determinações do nível de cálcio, fósforo, magnésio e mesmo flúor têm sido obtidas. O uso de secções finas de dentina humana não descalcificada nos permitiu obter informações cristalográficas importante sobre os minerais dentinários tais como a hidroxiapatita, *whitlockite* e fosfato-octocálcico por áreas seletivas de eletrodifração. O autor concluiu que o método de obtenção de finas secções de dentina não descalcificada, apresentado em 1959, é ainda amplamente usado em T.E.M. e H.R.T.E.M. Mais pesquisas são necessárias para o entendimento da extensão e propriedades dos prolongamentos odontoblásticos. A exata composição do fluido dentinário é incerta e a exata relação entre prolongamentos e fibrilas nervosa não está clara. Apesar do significante progresso na área de mineralização dentinária, um melhor entendimento desse mecanismo complexo envolvendo a deposição inicial e adicional dos cristais de hidroxiapatita, bem como a íntima relação da apatita e as proteínas colagenosas e não colagenosas, componentes lipídicos e carboidratos, são ainda de grande necessidade.

3 PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

O presente trabalho tem como propósito estudar, comparativamente, em microscópio eletrônico de varredura (M.E.V.) a microestrutura dentinária de LCNC, a partir de dentes extraídos e armazenados sob condições controladas, levando-se em conta o método de preparação dos espécimes.

As hipóteses nulas a serem testadas são:

- 1 Não há diferença entre os métodos utilizados para preparação dos espécimes no que diz respeito à integridade das estruturas dentinárias.
- 2 A conformação estrutural da dentina da região da LCNC é semelhante à da dentina da superfície lingual sem lesão, do mesmo dente.
- 3 Não há diferença estrutural entre a dentina da LCNC hipersensível e a das lesões que não apresentam HD.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DOS DENTES

Para a realização deste estudo foram coletados dentes, independente do grupo dentário, que apresentassem em sua superfície lesão cervical não cariosa (LCNC), extraídos por razões terapêuticas ou protéticas. Os dentes foram utilizados mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, segundo as normas do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru. Em fichas próprias foram anotadas as seguintes informações, além da identificação do paciente: idade do paciente, sexo, grupo dentário, características da lesão cervical (tamanho, forma e extensão), a provável etiologia (erosão, abrasão, abfração ou a associação dos fatores), estado vital da polpa (normal, inflamada, necrótica ou ausente) e testes de sensibilidade dentinária foram realizados (ABSI et al., 1987; RIMONDINI; BARONI; CARRASI, 1995; COLEMAN; GRIPPO; KINDERKNECHT, 2000), utilizando-se jato de ar e sonda exploradora sobre as superfícies das LCNCs. Essas anotações tinham a finalidade de permitir eventuais associações com as características microestruturais das lesões. Os dentes foram extraídos evitando o contato de instrumentos com a superfície da lesão cervical não cariosa para não introduzir modificações nas características dessa região do dente.

Foram selecionados 14 dentes com lesões cervicais não cariosas bem características, de modo geral, apresentando forma de cunha ou pires, entretanto com diferentes profundidades e extensão (**Fig.1**).

Figura 1 – Exemplos de alguns dentes com diferentes formas de LCNC

4.2 ARMAZENAGEM E PREPARAÇÃO DOS ESPÉCIMES

Após a extração, os dentes foram limpos com uma gaze umedecida em soro fisiológico e imediatamente armazenados em Karnovsky, solução fixadora composta de glutaraldeído a 2,5% e paraformaldeído a 2,0%, em 0,1M tampão cacodilato, pH 7.0. Em seguida, os dentes foram montados em discos de resina, apoiados por uma das faces proximais e fixados pela porção coronária e radicular com cera pegajosa, evitando-se a contaminação das lesões. Os dentes foram, então, seccionados transversalmente aos seus longos eixos, removendo-se parte da coroa e da raiz, preservando apenas a região correspondente ao terço cervical contendo a LCNC. As faces vestibulares e linguais foram separadas seccionando-se os espécimes no sentido méso-distal na máquina de corte (Modelo 650- SBT – South Bay Technology - San Diego/Califórnia) (**Fig.2**), com um disco diamantado (Extec Corp - 102mm X 0.3mm X 12.7mm, Enfield/USA), sob refrigeração abundante, sem ultrapassar os limites da lesão. Em seguida, foram novamente armazenados na solução de Karnovsky, devidamente identificados para o posterior reconhecimento das faces vestibulares e linguais.

Em etapa subsequente, os segmentos vestibular e lingual foram, por sua vez, divididos no sentido do longo eixo da lesão, em duas partes, de forma que cada dente contribuiu com quatro amostras: duas mesiais (uma vestibular e uma lingual) e duas distais, da mesma forma, uma vestibular e outra lingual. As amostras homólogas mesiais (vestibular e lingual) e distais (vestibular e lingual) foram agrupadas conforme o método de secção e o tratamento das superfícies a serem estudadas, conforme será descrito mais adiante. Assim, foram constituídos 3 grupos e seus respectivos sub-grupos, com o mínimo de 8 e o máximo de 10 amostras cada um (**Fig.3**).

Figura 2 – Máquina de corte utilizada para a secção dos dentes e dos espécimes

Figura 3 – Sequência de preparo dos espécimes de todos os grupos, para posterior sequência de tratamentos das superfícies dentárias a serem analisadas. A- Dente após a extração. B- Remoção das partes coronárias e radiculares e armazenamento em solução Karnovsky. C- Segmento dental correspondente ao terço médio dos dentes, onde se localizam as lesões cervicais não cariosas. D- Faces vestibulares separadas das faces linguais. Divisão das lesões cervicais não cariosas e faces linguais em mesial e distal, seccionando com disco diamantado (Grupo I) ou fraturando (Grupo II e III) E- Grupos formados após divisões dos segmentos. Todos os grupos A eram constituídos pelas faces mesiais (vestibulares e linguais homólogos) e os grupos B pelas faces distais (vestibulares e distais homólogos)

Os espécimes de todos os grupos foram lavados em tampão cacodilato de sódio (Electron Microscopy Science, Hatfield/USA) a 0,1M, pH 7.4, realizando-se três banhos de 20 minutos. Os espécimes foram, então, pós-fixados na seguinte ordem:

-pós-fixação 1 - solução aquosa de tetróxido de ósmio a 1%, por duas horas, em temperatura ambiente.

-lavagem - água destilada, por 10 minutos.

-solução mordente intermediária - ácido tânico a 1% (LabSynth Produtos para Laboratórios Ltda, SP/Brasil), por duas horas, em temperatura ambiente.

-pós-fixação 2 - solução aquosa de tetróxido de ósmio (Koch Instrumentos Científicos Ltda - SP/Brasil) a 1%, por 2 horas, em temperatura ambiente.

-lavagem - 3 banhos de água destilada, por 10 minutos cada.

Grupo I – Espécimes seccionados.

Os espécimes do Grupo I foram seccionados com disco diamantado, longitudinalmente ao dente, no sentido vestibulo-lingual, separando a LCNC, assim como a face lingual correspondente, conforme descrito acima, em porção mesial e distal. Para tanto, os segmentos dentais foram novamente montados em discos de resina com cera pegajosa, com os mesmos cuidados descritos anteriormente.

Grupo IA – Constituído 10 amostras mesiais (5 vestibulares e 5 linguais homólogas), as superfícies seccionadas dos espécimes desse grupo foram polidas em seqüência com discos de lixa de carbeto de silício (Extec Abr Disc SiC W/D 8” - Extec Corp. - Enfield/USA), de granulação 800 e 1200, seguidos de disco de feltro e pasta de diamante (Extec I Diamond Compound - Extec Corp. - Enfield/USA), montados na máquina politriz (Modelo APL-4, Arotec S.A. Indústria e Comércio - SP/ Brasil). Em seguida, as amostras foram armazenadas em tubos Eppendorff contendo água deionizada e submetidas ao ultra-som por 15 minutos.

Grupo IB – As amostras distais, formadas por 5 amostras vestibulares e 5 linguais, foram submetidas aos mesmos tratamentos do grupo anterior, exceto pelo fato de que, após o ultra-som (Ultrasonic-Cleaner - Arotec S.A. Indústria e Comércio - SP/Brasil) por 15 minutos, tanto a superfície da lesão como a superfície seccionada, foram secas com papel absorvente, condicionadas com ácido fosfórico a 5% (Farmácia Específica- Bauru/SP), por 15 segundos, e lavadas com água deionizada pelo dobro do tempo de condicionamento.

Grupo II – Espécimes fraturados.

Diferentemente do Grupo I, os espécimes do Grupo II foram fraturados no sentido ocluso-gengival, de maneira que, na vestibular, a fratura se desse dividindo a lesão ao meio. Para orientar a fratura, foram feitas canaletas de orientação nas extremidades oclusal e

gingival dos espécimes. As fraturas foram realizadas com o auxílio de alicate 141 de ponta reta (Duflex - SSWhite) e chave de fenda.

Grupo IIA – Também constituído de 10 amostras mesiais (5 vestibulares e 5 linguais), foram tratadas de forma semelhante ao Grupo IA, entretanto, submetidas ao ultra-som por 30 minutos.

Grupo IIB – Os espécimes (10 amostras distais, 5 vestibulares e 5 linguais) desse grupo foram simplesmente submetidos ao condicionamento com ácido fosfórico a 5%, por 15 segundos, tanto na superfície fraturada quanto na superfície da lesão.

Grupo III – Espécimes fraturados.

Os espécimes foram fraturados da mesma forma descrita no Grupo II.

Grupo IIIA – Nenhum tratamento foi realizado nos espécimes desse grupo, que serviram como controle. Esse grupo foi composto de 8 amostras mesiais (4 vestibulares e 4 linguais)

Grupo IIIB – Após fratura, os espécimes, no total de 8 distais, sendo 4 vestibulares e 4 linguais, foram imersos em hipoclorito de sódio a 2% (Farmácia Específica- Bauru/SP), por 5 minutos.

A **tabela 3** permite melhor visualização dos tratamentos realizados nos diferentes grupos.

Tabela 3 – Sequência do processo de fixação e tratamento que cada grupo recebeu

Grupos	<u>Nº de espécimes</u>	<u>Tratamento</u>
<i>1-Lavagem: 3 banhos de 20 min com tampão cacodilato</i> <i>2-Pós-fixação com tetróxido de ósmio-2h</i> <i>3-Lavagem com água destilada – 10min</i> <i>4-Lavagem em ácido tânico-2h</i> <i>5-Pós-fixação com tetróxido de ósmio-2h</i> <i>6-Lavagem com água destilada – 3 banhos de 10min</i>		
Grupo I (Seccionado)		
Grupo IA	10	Ultra-som
Grupo IB	10	Ultra-som + H ₃ PO ₄ , 5%
Grupo II (Fraturado)		
Grupo IIA	10	Ultra-som
Grupo IIB	10	H ₃ PO ₄ , 5%
Grupo III (Fraturado)		
Grupo IIIA	08	Sem tratamento
Grupo IIIB	08	NaOCl 2%, 5 min.

4.3 PREPARO DOS ESPÉCIMES PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (M.E.V.)

Devidamente identificados conforme seus respectivos grupos experimentais, os espécimes foram submetidos ao processo de desidratação em série ascendente de etanol de 50, 70, 80, 90 e 100%, por quarenta minutos em cada banho. A secagem foi realizada em um aparelho de ponto crítico (Critical Point Drying – CPD 030 – Balzers) em CO₂ líquido. Essa operação foi realizada por 6 vezes, para garantir remoção total do etanol. Imediatamente após a secagem, os espécimes, foram fixados em “stubs” metálicos com fitas adesivas de carbono dupla face (Koch Instrum Cient – São Paulo-SP). Em seguida foram metalizados com uma camada de ouro de 100-200Å de espessura, empregando-se o Sputter Coater- SCD050 (Bal-Tec - Liechtenstein). Os espécimes foram mantidos em sílica gel, hermeticamente fechados, para evitar contaminação por umidade, até o momento da análise em M.E.V. (Zeiss-DSM 940A, Germany-Digital Scanning Microscope). O microscópio foi configurado para operar a numa voltagem entre 10-25 Kv e distância de trabalho entre 7-10 µm.

4.4 ANÁLISE DESCRITIVA EM M.E.V.

Para a análise foram considerados os planos superficial, correspondente à superfície natural da LCNC, e laterais, correspondentes à superfície interna (seccionada ou fraturada), inclusive dos segmentos linguais dos dentes. Os aspectos morfológicos relevantes para este estudo estão descritos na **tabela 4**.

Tabela 4 – Aspectos considerados para a análise descritiva da morfologia dentinária das lesões cervicais não cáries e das superfícies seccionadas e fraturadas

Dentina Peritubular	Túbulos	Conteúdo tubular
Presente	Abertos	Amorfo
Ausente	Parcialmente obstruídos	Aspecto tubular
	Obstruídos	Cristalino

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 ANÁLISE DESCRITIVA DAS LCNCs COMPARADAS ÀS CARACTERÍSTICAS MICROMORFOLÓGICAS DA DENTINA.

Neste estudo, foram utilizados 14 dentes com LCNC de seis pacientes. Os dados registrados levaram em conta idade do paciente, sexo, etiologia aparente da lesão, características das lesões, grau de sensibilidade e características microscópicas da dentina. Seis LCNC mostraram características de cunha, e oito, forma de pires, de acordo com as características das lesões cervicais descritas por Levitch et al. (1994). Os pacientes apresentaram idade média de 50,8 anos. Feitos os testes de sensibilidade dentinária, apenas quatro lesões apresentaram ausência de HD, correspondendo a 28,5%, enquanto 10 (71,5%) das lesões acusaram HD. A **tabela 5** resume os registros de identificação e características das lesões.

Tabela 5- Agrupamento dos dentes considerando os dados de identificação e características das LCNC

		GRUPO I					GRUPO II					GRUPO III			
		01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14
Dente		24	14	15	16	13	15	12	14	26	13	15	34	23	14
Idade		47	47	47	47	41	52	47	46	59	47	67	71	47	46
Sexo		M	M	M	M	M	F	M	M	M	M	M	M	M	M
HD		S	S	S	S	S	N	S	S	N	S	S	N	S	N
EIT	V	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	L	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Forma		C	P	P	P	P	C	C	P	P	C	C	C	P	P
Vitalidade		S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Média de Idade		50,8													
Masculino		13					93,0%								
Feminino		01					07,0%								
HD-S		10					71,5%								
HD-N		04					28,5%								
EIT-V		14					100,0%								
EIT-L		14					100,0%								
CUNHA		06					42,9%								
PIRES		08					57,1%								

A maior parte das lesões tinha, aparentemente, etiologia sugestiva de abfração, dada a desarmonia oclusal decorrente da ausência de muitos dentes. Um dos pacientes apresentou

lesão cervical bem característica de abfração, localizada bem abaixo da gengiva marginal livre. (LEE; EAKLE, 1984). Em muitos casos, as recessões eram nítidas, relacionando as lesões com o processo de abrasão. (LITONJUA et al., 2004). Entende-se, entretanto, que os fatores etiológicos, em muitos casos, caracterizam uma associação de fatores, e que um fator pré-existente pode ser agravado pela sobreposição de outro. (BENEVIUS et al., 1993; LEVITCH et al., 1994; LINTONJUA et al., 2003). Portanto, esses dados não foram considerados na análise, mesmo tendo sido registrados nas fichas. Em um caso, foi clara a etiologia erosiva, pois o paciente relatou ser consumidor assíduo de frutas cítricas. Nesse caso, a lesão era bem característica, em forma de pires. (PEREIRA, 1995; IMFELD, 1996; CERUTTI et al, 2006).

Das lesões não sensíveis, duas apresentaram forma de pires e duas, forma de cunha. No entanto, a maior parte dos túbulos estava obstruída ou parcialmente obstruída. A superfície das LCNCs dos dentes do Grupo IA, IIA, IIIA e IIIB mostrou-se totalmente obstruída por uma substância amorfa. Em poucos túbulos dentinários observou-se a embocadura sem partículas sobre eles. Nos Grupos IB e IIB foi possível observar túbulos parcialmente obstruídos pelas estruturas tubulares. Nas amostras seccionadas, o Grupo IA mostrou-se totalmente obstruído por uma substância amorfa, com aparência de *smear layer*, enquanto os espécimes do Grupo IIA apresentavam os túbulos parcialmente obstruídos por estruturas de aspecto tubular. Essa última condição foi a mesma encontrada nos túbulos dentinários dos grupos fraturados (Grupos II e III). Mais adiante serão descritos, com detalhes, os eventos encontrados em cada grupo e respectivo subgrupo (**tabelas 6 e 7**).

Tabela 6- Características das superfícies das LCNCs conforme as características de visualização dos componentes dentinários e tubulares

	DENTINA PERITUBULAR	TÚBULOS	CONTEÚDO TUBULAR
GRUPO IA	ausente	obstruídos	amorfa
GRUPO IIA	ausente	obstruídos	amorfa
GRUPO IIIA	ausente	obstruídos	amorfa
GRUPO IB	presente	parcialmente obstruídos	aspecto tubular
GRUPO IIB	presente	parcialmente obstruídos	aspecto tubular
GRUPO IIIB	ausente	parcialmente obstruídos	amorfa

Tabela 7- Características das sub-superfícies das LCNCs conforme as características de visualização dos componentes dentinários e tubulares

	DENTINA PERITUBULAR	TÚBULOS	CONTEÚDO TUBULAR
GRUPO IA	presente	obstruídos	amorfo
GRUPO IIA	presente	> parte obstruídos	aspecto tubular
GRUPO IIIA	presente	> parte obstruídos	aspecto tubular
GRUPO IB	ausente	> parte obstruídos	aspecto tubular
GRUPO IIB	ausente	> parte obstruídos	aspecto tubular
GRUPO IIIB	presente	> parte obstruídos	aspecto tubular

5.2 ANÁLISE DESCRITIVA DA MORFOLOGIA DENTINÁRIA DA SUPERFÍCIE DAS LCNCs.

Após a análise em M.E.V., foi possível observar que os diferentes tratamentos das superfícies das LCNCs, realizados nos 6 grupos deste trabalho, foram responsáveis por diferentes alterações nessas superfícies, possibilitando, muitas vezes, apenas observar a presença dos túbulos dentinários totalmente ou parcialmente obliterados até a presença das estruturas intra-tubulares no interior deles.

Para que haja melhor compreensão dos achados, os grupos serão descritos separadamente.

Grupo IA

As lesões do Grupo IA, tratados apenas com ultra-som durante o período de 15 minutos em água deionizada, apresentaram superfície com túbulos dentinários parcialmente ou completamente recobertos por uma camada amorfa de resíduos (**Fig. 4A e B**). Entretanto foi possível localizar a abertura dos túbulos os quais, dependendo da região, estavam dispostos de maneira diferente. De modo geral, na região da coroa, os túbulos estavam dispostos obliquamente e alongados. Já na região da raiz, eles se dispunham de maneira perpendicular à superfície. Essa disposição variada é típica das lesões em forma de cunha e foi observada também em espécimes de outros grupos. Em algumas lesões cervicais, ainda, foi possível observar a presença de resíduos depositados sobre a superfície, sugerindo

presença de cálculo. De modo geral, o ultra-som utilizado por 15 minutos foi incapaz de remover de maneira completa esses depósitos.

Figuras 4A e B – Superfície da lesão após limpeza com ultra-som durante 15 minutos. A- Visualização da embocadura dos túbulos dentinários parcialmente recobertos com material amorfo e dispostos de maneira oblíqua na superfície dentinária exposta. Área correspondente à porção coronária da lesão (3000X). B- Neste plano de visão, correspondente à porção radicular da lesão, observam-se as embocaduras dos túbulos dispostas perpendicularmente à superfície dentinária. Os túbulos mostram-se parcialmente ou totalmente recobertos (2000X)

Grupo IIA

Os dentes do Grupo IIA, que foram tratados com ultra-som por um período de 30 minutos, apresentaram a superfície da lesão cervical com características semelhantes às superfícies do grupo IA. O aumento do tempo do uso do ultra-som aparentou proporcionar melhor remoção de partículas externas depositadas na superfície dos dentes. Entretanto, essa remoção ainda não foi suficiente para permitir completa visualização dos túbulos. Os túbulos dentinários estavam visíveis na superfície das lesões cervicais e mostraram-se parcialmente ou totalmente obstruídos. Porém, nesse grupo, também foi possível observar uma dentina mais densa circundando os túbulos, sugerindo a presença de DPT. Essas áreas mais eletrodensas circundando as aberturas tubulares mais alongadas assemelham-se a regiões da lesão as quais, por estarem expostas por longo tempo na cavidade bucal, sofreram uma “brunidura” de sua superfície (**Fig. 5A e B**).

Figuras 5A e B – Superfície da LCNC após limpeza com ultra-som, por 30 minutos. A- Visualização das embocaduras obstruídas dos túbulos dentinários dispostos transversalmente à superfície dentinária exposta, correspondente ao ápice da lesão (2000X). B- Embocadura dos túbulos dispostos transversalmente à superfície dentinária da região radicular (2000X). Apesar de caracterizar efeito de limpeza melhor que no grupo anterior, a visualização da embocadura dos túbulos e de seu conteúdo ainda não foi completa

Grupo IIIA

Nos dentes do Grupo IIIA, que não sofreram nenhum tratamento, a visualização dos túbulos foi praticamente nula, devido à presença de densa camada de resíduos na superfície das lesões (**Fig. 6A e B**). Em alguns casos, a quantidade de fragmentos depositados era tão intensa que nem foi possível localizar a embocadura dos túbulos. A quase totalidade dos espécimes desse grupo mostrava imagem de M.E.V. típica de superfície dentinária coberta com resíduos, isto é, a presença de pequenas rachaduras coincidentes com a embocadura dos túbulos. Essas rachaduras resultam da desidratação provocada durante a preparação dos espécimes.

Figuras 6A e B – Amostra da superfície da lesão sem nenhum tratamento (controle). A- Região coronária da LCNC. Observa-se uma camada amorfa depositada sobre a embocadura dos túbulos, impedindo completamente a visualização (1000X). B- Região correspondente à porção radicular. Tanto quanto em A, aqui as rachaduras sugerem o local das embocaduras dos túbulos dentinários (2000X)

Grupo IB

A característica das superfícies das lesões cervicais nos dentes do grupo IB (**Fig. 7A e B**) tratados com ultra-som por 15 minutos e, posteriormente, condicionados com ácido fosfórico a 5% por 15 segundos, mostrou-se bem diferente quando comparadas com as características dos Grupos IA, IIA e IIIA. O processo de desmineralização provocado nas superfícies das lesões cervicais pelo ácido fosfórico promoveu diferentes alterações sobre essas superfícies. Em algumas situações, o ácido atuou apenas promovendo uma limpeza na superfície das lesões cervicais e na embocadura dos túbulos, removendo as partículas depositadas sobre a superfície e deixando os túbulos mais evidentes. A associação do uso do ultra-som com o posterior condicionamento ácido constituiu um tratamento efetivo removendo as partículas mais fracamente aderidas à superfície, permitindo melhor ação do ácido fosfórico e melhor visualização das estruturas dentinárias. Em outros espécimes, foi possível observar a presença de estruturas intra-tubulares nas embocaduras dos túbulos dentinários. Em alguns túbulos dos mesmos espécimes, as embocaduras estavam totalmente livres das estruturas intra-tubulares. Em algumas situações, em uma visão mais lateral à superfície das lesões cervicais, essas estruturas intra-tubulares mostraram-se saindo do interior dos túbulos, projetando-se acima do plano da superfície das lesões. Observou-se que essas estruturas intra-tubulares estavam separadas da parede dos túbulos dentinários, provavelmente devido à desmineralização parcial da DPT.

Figuras 7A e B – Amostra da superfície da lesão em que se empregou limpeza com ultra-som, por 15 minutos, seguida de condicionamento com ácido fosfórico a 5%, por 15 segundos. A- Visualização das EITs no interior das embocaduras dos túbulos. Nota-se, ainda, a presença de espaços entre as paredes dos túbulos dentinários e as estruturas, provavelmente, devido à desmineralização da DPT (setas). (Vista da região radicular - ampliação 1000X). B- Maior aumento de A mostrando as EITs dispostas obliquamente à superfície da LCNC (2000X)

Grupo IIB

Já, os dentes do Grupo IIB, apenas condicionados com ácido fosfórico a 5% por 15 segundos, mostraram as superfícies com características semelhantes às superfícies dos espécimes do Grupo IB. Estruturas intratubulares eram visíveis na embocadura da maioria dos túbulos, enquanto alguns poucos túbulos encontravam-se livres dessas estruturas (**Fig. 8A e B**). Entretanto, na superfície das lesões desse grupo, algumas partículas remanesceram após o condicionamento, provavelmente devido ao uso de um ácido fraco que não foi capaz de remover todos os resíduos em alguns dos espécimes. Devido à ação do ácido sobre a DPT, desmineralizando apenas parte dela, notou-se certo grau de separação entre as EITs e a parede dos túbulos dentinários, assim como no Grupo IB. Algumas das EITs mostraram-se salientes, projetando-se do interior dos túbulos, sugerindo uma característica mais ácido-resistente dessas estruturas comparativamente à DPT.

Figuras 8A e B – Espécime da superfície da lesão submetido ao condicionamento com ácido fosfórico a 5%, por 15 segundos. A amostra mostra resíduos na superfície da dentina exposta, indicando um resultado menos eficiente do que a associação com o ultra-som, como visto no Grupo IB. A- Vista das embocaduras dos túbulos dentinários, alguns obstruídos pelas EITs e outros sem a presença destas. Nota-se a existência de espaço entre as estruturas e a parede dos túbulos dentinários, provável artefato do condicionamento ácido, como já descrito no Grupo IB. Esta região corresponde ao plano oclusal da lesão (1500X). B- As mesmas condições observadas na coroa puderam ser visualizadas no ápice da LCNC (1500X)

Grupo IIIB

Os dentes do Grupo IIIB, tratados com hipoclorito de sódio, foram os que apresentaram superfícies mais diversificadas. Foi possível notar os túbulos dentinários na superfície das lesões, os quais se apresentavam parcial ou completamente obstruídos, na maioria dos casos (**Fig. 9A e B**). O tratamento com o hipoclorito, via de regra, foi capaz de remover grande parte das partículas aderidas à superfície das lesões. Entretanto, mostraram denso acúmulo de resíduos, provavelmente devido à sua natureza mineral, não permitindo a visualização dos túbulos. Como já descrito nos grupos anteriores, alguns espécimes mostraram os túbulos e seus conteúdos dispostos paralela e obliquamente às superfícies das lesões decorrente da inclinação das paredes ou faces da lesão, condição típica daquelas lesões em forma de cunha. Eventualmente, partículas podiam ser vistas no interior das estruturas intra-tubulares assim dispostas (**Fig. 8C**). O aspecto poroso dos espécimes denota a ação desproteinizante do hipoclorito de sódio.

Figuras 9A, B e C- Superfície da lesão depois de imersa em NaOCl a 2%, por 5 minutos. Nota-se que o hipoclorito foi capaz de remover grande parte do depósito orgânico da superfície dentinária. Entretanto, remanesceram resíduos, provavelmente de natureza mineral. A, B- Visualização da embocadura dos túbulos dentinários parcialmente ou totalmente obstruídos, vistos transversalmente à superfície da lesão, (2000X e 3000X respectivamente). C- Estruturas intratubulares com os túbulos dispostos paralelamente à superfície (5000X). Os túbulos mostram-se totalmente obstruídos pela EITS e por resíduos particulados, provavelmente de origem mineral, depositados em seu interior (setas)

5.3 ANÁLISE DESCRITIVA DA MORFOLOGIA DAS SUPERFÍCIES SECCIONADAS OU FRATURADAS DAS LESÕES.

As EITs estavam presentes nas metades vestibulares e linguais de todos os dentes observados em M.E.V., e foram observadas tanto nas superfícies seccionadas como nas superfícies fraturadas das lesões cervicais. Diferentemente do que ocorreu na superfície das lesões, as EITs eram vistas com maior frequência e melhor clareza ao longo dos túbulos dentinários, expostos após fratura ou secção dos espécimes. Dessa maneira, foi possível comparar qual a técnica que permitiu melhor visualização das EITs e sua relação com as estruturas adjacentes, assim como qual delas provocou menor alteração dessas estruturas durante o preparo dos espécimes, independentemente da ampliação microscópica utilizada.

Grupo IA

Nos espécimes do Grupo IA, seccionados com disco e tratados com ultra-som durante 15 minutos, os túbulos e seus conteúdos foram detectados em diferentes disposições em relação ao plano tubular longitudinal. Parte deles era vista ora longitudinalmente, ora obliquamente ou, mesmo, transversalmente a esse plano (**Fig. 10A e B**). Nos cortes longitudinais ou oblíquos, não foi possível observar no interior dos túbulos dentinários a presença das estruturas tubulares. Nos cortes transversais, parte dos túbulos era vista total ou parcialmente obliterada por estruturas de conformação circular fragmentadas, provavelmente, pela ação do disco de diamante. Circundando ou obstruindo os túbulos, notava-se estrutura densamente mineralizada, sugerindo a presença de DPT. Nesses espécimes notou-se que o ultra-som não foi capaz de remover todos os resíduos acumulados na superfície seccionada, produzidos e compactados pelo disco de diamante, dificultando a visualização completa da morfologia da dentina seccionada. Em poucos casos era possível observar os túbulos totalmente abertos.

Em regiões de trincas notadas em alguns espécimes, destacava-se a presença de EITs, ora rompidas, ora íntegras, estendendo-se de um lado a outro da trinca, semelhantes a prolongamentos odontoblásticos. As trincas, artefatos de técnica causados, provavelmente, pela desidratação dos espécimes, impunham certa tensão nas EITs, rompendo algumas e alongando outras, dando a elas uma aparência distendida. Nesses espécimes, em particular, o conteúdo intratubular denotava aparência resiliente e fibrosa (**Fig. 10C e D**). Outra observação foi que, conforme se aproximava da superfície da LCNC, essas estruturas

parecidas com prolongamentos tornavam-se menos visíveis no interior das trincas. Essas imagens, embora curiosas e elucidativas, não fazem parte da estratégia de comparação entre os grupos experimentais.

Figuras 10A, B, C e D – Espécime do Grupo IA, seccionado com disco e tratado com ultra-som, por 15 minutos. A- Nota-se, nesse corte, túbulos expostos transversalmente e, dentro deles, estruturas de conformação tubular, porém fragmentadas, provavelmente pela ação do disco e do polimento. A DPT pode ser notada como entidade independente do conteúdo intratubular (setas) (2000X). B- Imagem do mesmo espécime, mostrando os túbulos dispostos obliquamente à superfície seccionada (2000X). Nota-se com clareza a DPT, mais densa, presente ao redor dos túbulos (seta). Entretanto, a EIT não é visível, devido à “smear layer” formada durante o preparo do espécime, a qual o ultra-som não foi capaz de remover. C, D- Regiões de trinca espontânea, localizadas em alguns espécimes desse grupo. Nota-se a existência de estruturas semelhantes aos prolongamentos odontoblásticos. Apesar do formato tubular, são bem distintas das EITs, também visualizadas em outros grupos. Imagem próxima à região pulpar em aumentos de 1000X e 2000X, respectivamente

Grupo IIA

Nos dentes do Grupo IIA, fraturados e tratados com ultra-som por 30 minutos, foi possível observar a presença de muitas estruturas com formatos tubulares no interior dos túbulos dentinários de todos os espécimes. Essas estruturas, quando íntegras, possuíam formato de corda, preenchendo completamente os túbulos e, quando fraturadas longitudinalmente, apresentavam-se como uma membrana recobrindo as paredes internas dos túbulos dentinários (**Fig. 11A, B e C**). Quando rompidas longitudinalmente, era possível observar no seu interior a presença de cristais (**Fig. 11B – seta**) ou, na ausência das EITs, a trama de fibrilas colágenas revestindo a parede interna tubular (**Fig. 11D – setas**).

Em muitos espécimes desse grupo, quando a fratura coincidia com o eixo longitudinal dos túbulos, EITs podiam ser vistas ao longo de toda sua extensão. Nesses casos era possível observar tais estruturas em íntimo contato com a parede dos túbulos, ou ligeiramente afastadas dela, sugerindo uma possível contração por artefato da técnica. De uma forma ou de outra, as EITs se apresentam como entidades individualizadas no interior do complexo tubular, distinguindo-se das dentinas peritubular e intertubular.

Quando a fratura ocorria transversalmente aos túbulos, podia-se observar duas formas de EITs, uma aparentemente mais delgadas e fibrosa, completamente afastada da parede dos túbulos e semelhantes a prolongamentos odontoblásticos (**Fig. 11E**); outra, mais espessa e mais justaposta às paredes dos túbulos, com aparência mineralizada (**Fig. 11F**).

Figuras 11A, B, C, D, E e F – Imagens dos espécimes do Grupo IIA, fraturados e tratados com ultra-som, por 30 minutos. A e B- Nota-se a presença das EITs com formato de cordão preenchendo quase completamente o diâmetro dos túbulos. A- Observa-se, no interior do túbulo, a presença de uma estrutura em forma de cordão rompido (2000X). B- EIT fraturada longitudinalmente, mostrando cristais em seu interior (3000X). C- Presença das EITs fraturadas longitudinalmente, recobrimdo a parede interna dos túbulos (2000X). D- Essa figura permite a observação de fibras nas paredes internas dos túbulos, que perderam suas EITs, provavelmente devido à fratura do espécime (3000X). E- Estruturas que sugerem prolongamentos odontoblásticos, projetando-se do interior dos túbulos (2000X) F- Em contraste com a figura anterior, aqui se vêem EITs mais espessas e de aparência mineralizada, justapostas às paredes dos túbulos (2000X)

Grupo IIIA

Nos espécimes do grupo que não sofreu qualquer tipo de tratamento, o Grupo IIIA, as características morfológicas foram muito semelhantes às superfícies dos espécimes do Grupo IIA. A diferença notada nesse grupo foi o acúmulo de partículas na superfície fraturada, provavelmente introduzido no ato da fratura dos mesmos (**Fig. 12A**). Neste particular espécime, é nítida a diferenciação das EITs das demais estruturas adjacentes, como as dentinas peritubular e intertubular (**Fig. 12A – setas**). Um mínimo espaço separa tais estruturas da parede dos túbulos dentinários, espaço esse resultante da pequena contração provocada pelo processo de desidratação. Nos espécimes desse grupo, as EITs, quando fraturadas em seu longo eixo, apresentavam-se como longos tubos de aparência mineralizada, justapostos às paredes dos túbulos dentinários, às vezes vazios, outras vezes com cristais precipitados em seu interior (**Fig. 12B - seta**). Quando desprovidos desses cristais, deixam ver uma trama de fibrilas revestindo suas paredes internas as quais, por também serem vistas em outros grupos, parecem ser detalhe próprio de tais estruturas.

Como era esperado, esse grupo evidenciou mínimas alterações nos espécimes, uma vez que, exceto pelo processo de desidratação e fixação, nada mais que pudesse alterar a natureza das estruturas foi introduzido. As fraturas, que sempre ocorrem de modo imprevisível e errático, possibilitaram a visualização das microestruturas dentinárias de vários ângulos, evidenciando situações inesperadas e, ao mesmo tempo, distinguindo o complexo das microestruturas dentinárias. A **Fig. 12C**, por exemplo, permite visualizar a DPT, o túbulo dentinário com sua respectiva EIT mineralizada e esta, por sua vez, com um conteúdo de aparência fibrosa e desmineralizada, projetando-se para o exterior, sugerindo prolongamentos odontoblásticos.

Figuras 12A, B e C- Imagens de alguns espécimes sem tratamento (controle). Nota-se que não houve grande diferença entre esse grupo e o anterior (Grupo IIA), exceto pelas partículas depositadas sobre a superfície fratura. A- Observa-se com clareza a diferença entre as EITs, DIT e DPT (setas) (2000X) B- Em alguns espécimes nota-se a presença de cristais precipitados no interior das EITs quando essas se apresentavam fraturadas no sentido longitudinal (seta branca). Na ausência de cristais, fibrilas podem ser visualizadas revestindo internamente a EIT (seta negra) (3000X). C- Nota-se a presença da DPT, do túbulo dentinário com sua respectiva EIT mineralizada e esta, por sua vez, com um conteúdo de aparência fibrosa e desmineralizada, projetando-se para o exterior, sugerindo prolongamentos odontoblásticos. É notável a individualidade dessas estruturas (2000X)

Grupo IB

Nos espécimes do Grupo IB, seccionados e tratados com ultra-som por 15 minutos e, posteriormente, condicionadas com ácido fosfórico a 5% por 15 segundos, foi possível observar a presença das EITs na maior parte dos túbulos dentinários. Entretanto, alguns dos espécimes mostravam túbulos dentinários desprovidos de EITs, possivelmente porque se desprenderam do interior dos túbulos durante a secção com disco de diamante (**Fig. 13A**).

Quando presentes, essas estruturas se estendiam por todo comprimento dos túbulos dentinários (**Fig. 13B**). Nesse grupo, essas estruturas apareceram bem afastadas das paredes dos túbulos dentinários (espaço periodontoblástico). Isso decorre da associação da desmineralização da DPT produzida pelo ácido fosfórico, e da própria desidratação dos espécimes levando à perda parte da integridade morfológica, quando comparado com os Grupos IIA E IIIA. Devido a esse afastamento das paredes internas dos túbulos, foi possível observar a presença de uma trama de fibras colágenas que se unem à superfície externa das EITs que, por sua vez, também apresentavam um revestimento fibroso (**Fig. 13C**).

Figuras 13A, B e C- Imagens de alguns espécimes do Grupo IB, seccionados com disco e condicionados com ácido fosfórico a 5%, por 15 segundos. Nota-se que as estruturas tubulares se apresentam de maneira diferente dos grupos fraturados. A- Observa-se, aqui, que os túbulos dentinários encontram-se vazios, possivelmente em decorrência da fragmentação e deslocamento das EITs (500X). B- Em outra região do mesmo espécime, as EITs mantêm-se presentes e bem visíveis (1000X). C- Em maior aumento, a perda da DPT devido ao condicionamento ácido permite visualização de fibrilas revestindo a parede dos túbulos (3000X)

Grupo IIB

Os espécimes do grupo IIB, onde a superfície foi fraturada e condicionada com ácido fosfórico a 5% por 15 segundos, mostraram-se bastante interessantes. As EITs foram vistas de maneira bem nítida e com aspecto tubular (**Fig. 14A e B**), fibroso ou membranoso (**Fig. 14C e D**), sugerindo diferentes estágios de mineralização dessas estruturas. Encontravam-se afastadas das paredes internas dos túbulos, provavelmente pela desmineralização da DPT. Entretanto, essa desmineralização foi menos agressiva nesse grupo, quando comparado ao grupo IB, pois nem houve o seccionamento com disco, nem foi empregado o ultra-som.

Figuras 14A, B, C e D – Essas figuras correspondem a alguns espécimes do Grupo IIB, fraturados e condicionados com ácido fosfórico a 5%, por 15 segundos. A e B - Presença de EITs com aspecto tubular e com paredes espessas (1000X e 3000X, respectivamente), diferente do que é visto em C e D (2000X). Nestas, o aspecto fibroso ou membranoso das EIT sugerem diferentes estágios de mineralização dessas estruturas. Observa-se, ainda, em todas as figuras, que as EITs encontram-se afastadas das paredes dos túbulos, provavelmente resultado da desmineralização da DPT (setas). Entretanto, esse espaço é menor que o obtido no Grupo IB

Grupo IIIB

Nos espécimes do grupo IIIB, fraturados e tratados com o hipoclorito de sódio a 2% por 5 minutos, foi possível observar as EITs da mesma forma que o grupo IIB, mostrando que o hipoclorito não atuou sobre essas estruturas (**Fig. 15A e B**). Entretanto, a morfologia da superfície fraturada apresentou uma característica diferente das superfícies condicionadas com ácido fosfórico, pois não apresentavam, em muitos espécimes, as fibrilas de colágeno na DIT, no interior dos túbulos dentinários e na DPT, removidas pelo hipoclorito de sódio, dando um aspecto poroso ao substrato (**Fig. 15C**). Esses espécimes apresentaram cristais no interior de muitas estruturas intra-tubulares, e foi nítida a separação de DIT e peritubular, provavelmente pelo alto conteúdo de minerais na DPT.

Figuras 15A, B e C - Correspondem aos espécimes do Grupo IIIB, fraturados e tratados com hipoclorito de sódio a 2%, por 5 min. Nota-se a presença de EITs, mostrando que o NaOCl não causou a dissolução das mesmas, limitando-se à digestão do colágeno. As EITs são vistas justapostas às paredes dos túbulos (3000X). C- Observa-se com clareza o aspecto poroso do substrato dentinário após ser tratado com NaOCl, devido à remoção das fibras colágenas superficiais (3000X)

A análise global dos diferentes grupos experimentais e controle mostra que os métodos de tratamento dos espécimes, de uma forma ou de outra, interferem com a natureza dos componentes da dentina. No que diz respeito à proposta do presente trabalho, isto é, sobre quais os métodos que permitem melhor visualização das estruturas dentinárias, pode-se ordená-los, do melhor para o pior, da seguinte maneira:

Na superfície da lesão:

$IB = IIB > IIIB > IIA > IA > IIIA;$

Na dentina abaixo da lesão:

$IIIA = IIA > IIIB > IIB > IB > IA$

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

6.1 TÉCNICA DE PREPARAÇÃO DOS ESPÉCIMES

Um aspecto importante está relacionado com os métodos de observação disponíveis na literatura e adotados para estudar uma estrutura complexa como é a dentina. A combinação de componentes orgânicos e inorgânicos e, ao mesmo tempo, a presença de milhões de túbulos banhados de fluidos que permeiam toda a dentina, desde a polpa até a junção esmalte/dentina, fazem dessa estrutura um tecido notavelmente dinâmico e reativo do ponto de vista biológico. Por essa razão, apesar de estudos de extrema importância, não há unanimidade na literatura nem quanto à melhor técnica para preservar a integridade dos componentes dentinários, nem quanto ao que se observa na intimidade da dentina. No presente trabalho, após a fratura ou seccionamento dos espécimes, adotou-se a rotina de fixação com Karnovsky e de pós-fixação com tetróxido de ósmio, entendendo que esse processo seria capaz de preservar a disposição e a integridade das microestruturas dentinárias. A solução fixadora Karnovsky é uma combinação de formaldeído, em baixa proporção, com glutaraldeído. O primeiro é, originalmente, um gás que pode ser também obtido na forma líquida e chamado de formalina e penetra os tecidos rapidamente. (LOPES; PERDIGÃO; GERALDI, 2002). O glutaraldeído é um dialdeído que penetra lentamente nos tecidos, mas, devido à sua bifuncionalidade, promove ligações cruzadas com as proteínas, estabilizando-as. A combinação de ambos promove uma penetração rápida nos tecidos, sobretudo quanto sua permeabilidade baixa. O tetróxido de ósmio, por sua vez, é uma molécula tetraédrica polar e, devido à sua baixa capacidade de penetração, é empregado como agente de pós-fixação. Entretanto, além de ser um agente fixador excelente, os átomos eletrodensos de ósmio atuam como corante, conferindo contraste às amostras e melhor qualidade de visualização ao M.E.V. (LOPES; PERDIGÃO; GERALDI, 2002).

De fato, a utilização desse processo de fixação, associado à desidratação dos espécimes em ponto crítico, proporcionou a obtenção de achados importantes relativos às estruturas dentinárias, como mostram as imagens no tópico de resultados. Segundo Kitajima (1999), quando a amostra é muito frágil, a tensão superficial do etanol, ao final da secagem ao ar livre, pode destruir detalhes superficiais ou causar o colapso de partes dos espécimes, criando inúmeros artefatos. Esse problema é, usualmente, contornado utilizando-se a secagem em ponto crítico. Dessa forma, evita-se o colapso das fibrilas colágenas e das EITs, mantendo-as em posição mais próxima do real. Segundo Breschi et al. (1999), o meio

convencional de secagem dos espécimes possui efeito na visualização da ultraestrutura dentinária e consideram o ponto crítico a técnica ideal para a preparação das amostras.

Todavia, é impossível afirmar que as estruturas observadas não tenham sofrido artefatos de técnica, principalmente decorrentes dos processos subsequentes de tratamento superficial das amostras. Quanto a esse aspecto, apresentaram-se bem evidentes alguns dos artefatos decorrentes do método, ficando bastante evidente duas situações: a dificuldade de observação da superfície original da lesão sem o recurso de um agente solvente ou desmineralizante eficiente, pois a presença de partículas inorgânicas e de biofilme nessa região impede a visualização da embocadura dos túbulos dentinários; e que o emprego de disco de diamante para obter espécimes mais uniformes produz, devido ao acúmulo de *smear layer* na superfície seccionada, as mesmas dificuldades de observação encontradas na superfície da lesão. Além disso, os discos fragmentam as EITs, resultando em perda de informações. Assim, o tratamento das amostras com ácido fosfórico, essencial para a visualização dos componentes da dentina, ao mesmo tempo dissolve a DPT e interfere na observação do espécime, seja na superfície da lesão ou no corpo da dentina abaixo dela. Assim, considerou-se que a fratura dos espécimes proporciona melhores condições de análise das estruturas dentinárias abaixo da lesão, embora, mesmo elas, possam causar a fragmentação das EITs, que são bastante friáveis.

Outras investigações experimentaram diferentes técnicas de tratamento, cada uma delas impondo modificações importantes nas amostras (THOMAS; CARELLA, 1983; THOMAS, 1984; SZABÓ J.; TROMBITÁS; SZABÓ I., 1985; SIGAL; CHERNECKY, 1988; YOSHIYAMA et al., 1989, 1990, 1996). Yoshiyama et al. (1996) utilizaram ácido clorídrico a 6 mol/l, por 5 minutos, seguido da aplicação de collagenase a mg/l, pH 7.4, por duas horas. As imagens obtidas por esses autores mostram claramente a destruição da DPT e parte da DIT, à semelhança do que se observou no presente trabalho. Por outro lado, a collagenase exerce papel desproteinizante ao hipoclorito de sódio aqui empregado. Outros autores empregaram diferentes tipos e concentrações de ácidos, inclusive o próprio ácido fosfórico, perpetuando o problema da dissolução de estruturas mineralizadas importantes do complexo dentinário, especialmente a DPT (CAGIDIACO et al., 1997; ISOKAWA; KUBOTA; KUWAJIMA, 1973; MEERBEEK et al., 1994; GWINNETT; JENDRESEN, 1978).

É importante registrar que o método aqui empregado proporcionou uma diferença interessante nas imagens, em comparação com outros trabalhos, mormente os de Yoshiyama et al., 1996 e Azrak, 2003. Esses autores obtiveram imagens da superfície clínica das lesões, em M.E.V., em que as EITs são vistas projetando-se para fora da embocadura dos túbulos.

Isso é consequência de diferentes fatores: a desmineralização da DPT, que deixa as EITs livres no interior dos túbulos dentinários, e o colapso das fibrilas de colágeno decorrente do processo de desidratação, necessário para a preparação microscópica. Na presente investigação, embora tenha sido utilizado o ácido fosfórico em grupos experimentais, também com perda da DPT, a desidratação empregando o processo do ponto crítico preservou o confinamento das EITs no interior dos túbulos dentinários (**Fig. 13 B, C e 14**). Com isso, a visualização dessas estruturas ficou muito menos nítida do que se registrou nos citados trabalhos.

6.2 ESTRUTURAS INTRATUBULARES (EITs) E A LCNC

Comparada ao esmalte, a dentina tem menor resistência à compressão, enquanto aquele é mais frágil às tensões de tração. Entretanto, um e outro podem apresentar a progressão da lesão exacerbada pelos efeitos da escovação, já que a fragilização tensional das estruturas predispõe o dente ao desgaste. Com isso, o processo de escovação atuando sobre as áreas de dentina exposta pelas recessões deve ser considerado. É consenso atual que as LCNCs têm múltiplas etiologias, condição que não permite a consideração dos fatores etiológicos de maneira isolada (BENEVIUS et al., 1993; LEVITCH et al., 1994; LITONJUA et al., 2003). Entende-se, porém, que independentemente da etiologia, a exposição dentinária ao meio bucal inicia um processo de defesa do dente o qual pode ser evidenciado quando são estudadas as alterações que ocorrem nessa estrutura dentária. As alterações mais comumente observadas são a esclerose dentinária e a dentina terciária, reparadora ou reacional. Daculsi et al. (1987) e, mais recentemente, Porter et al. (2005), registraram que na esclerose dentinária (dentina translúcida), decorrente do envelhecimento ou da presença de cárie, ocorre precipitação de cristais de tamanhos nanométricos na DIT, enquanto cristais maiores se depositam internamente aos túbulos, sugerindo um processo de dissolução e re-precipitação mineral na formação da dentina translúcida. A precipitação de cristais no interior de alguns túbulos também foi registrada no presente trabalho (**Figura 16**), com aspectos esféricos e romboidais, também descritos na literatura (SZABÓ, J.; TROMBITÁS; SZABÓ, I., 1984; YOSHIYAMA et al., 1989, 1990).

Figura 16 – Cristais depositados no interior do túbulo dentinário, semelhante ao descrito por Porter et al (2005), caracterizando estrutura completamente distinta das que foram identificadas como EIT. As setas indicam a DPT

No caso das LCNCs, esses cristais parecem pavimentar internamente as EITs. Outros autores, que também observaram a presença desses cristais (DACULSI et al., 1987; DUKE; LINDEMUTH, 1991; ARNOLD; KONOPKA; GAENGLER, 2001), os consideram semelhantes àqueles que se formam abaixo do processo de lesão cariosa e acreditam que sua constituição mineral seja do grupo do trifosfato de cálcio (TCF), mais particularmente o β -TCF. Esses cristais se precipitam no interior dos túbulos dentinários de LCNCs, sob a forma de β -TCMF devido ao magnésio presente em sua constituição. Podem ser considerados *whitlockites* biológicos, uma vez que o puro *whitlockite* β -TCF não pode obtido a partir de sistemas aquosos. Todos os *whitlockites* biológicos, embora previamente identificados simplesmente como TCT são, na verdade, β -TCMF (Mg-substituted TCP - $(\text{Ca.Mg})_3(\text{PO}_4)_2$. (LeGEROS, 1991). São identificados em dentina, mas não em esmalte, provavelmente porque a dentina possui maior proporção de Mg (1.11% em peso) do que este último (0.4% em peso). (DACULSI et al, 1987). A dissolução da dentina em meio ácido causa a elevação da razão molar Mg/Ca, condição favorável para a precipitação microscópica de β -TCMF. Outra possibilidade é que, sob condições ácidas comuns ao processo de cárie, o fosfato di-cálcio di-hidratado (DCPD) inicialmente formado pode hidrolizar-se em β -TCMF quando a razão Mg/Ca em solução é aumentada pela dissolução dos componentes minerais da dentina. (DACULSI et al., 1987; LeGEROS, 1991). Com base na experiência com a observação clínica e microscópica das LCNC resultantes da presente investigação, a condição acima

descrita pode ser extrapolada para qualquer outra situação que submeta a dentina exposta a regimes de baixo pH, como alterações na composição e pH da saliva, consumo de alimentos e líquidos ácidos, ou pelo metabolismo bacteriano.

Outras observações (ARNOLD; KONOPKA; GAENGLER, 2001) atestam que o conteúdo intratubular não oclui completamente os túbulos e que representa um processo de mineralização diferente da dentina sadia, não se caracterizando, portanto, como a verdadeira hidroxiapatita. Segundo Pashley et al., 2002, os túbulos dentinários da dentina esclerótica são obstruídos por cristais de *whitlockite*, e são ácido-resistentes. Para Frank e Voegel (1980); Verbeeck e De Bruyne, 1989, esses cristais são menos solúveis que a hidroxiapatita a um pH menor que 5.5, o que certifica a característica ácido-resistente dessas estruturas. As técnicas de preparação dos espécimes na presente investigação também mostram que as EITs estavam presentes no interior dos túbulos mesmo após a desmineralização da DPT e intertubular.

Os estudos particulares da dentina em LCNC registram a existência de EIT, de natureza mineral, que fogem das características morfológicas da dentina esclerosada e que, ao mesmo tempo, parecem ser independentes da DPT e diferentes das precipitações cristalinas mostradas acima, embora pareçam ter composição mineral idêntica. Por serem detectados com grande frequência no interior de túbulos dentinários de LCNC, tais conteúdos intratubulares têm sido apresentados como estruturas típicas dessas lesões. Exemplo disso são as observações de Azrak, 2003, quando mostrou que as EITs não estavam presentes na dentina da face lingual dos mesmos dentes que apresentavam LCNC na face vestibular. Essa informação contraria os resultados da presente investigação que, por sua vez, detectou a presença dessas estruturas com igual frequência nos túbulos dentinários subjacentes à lesão e na superfície lingual correspondente. Esse contraste pode ser explicado a partir de duas diferentes suposições. Quanto ao trabalho acima mencionado, o autor realizou como método de comparação, simulações de LCNC, desgastando a face lingual dos dentes estudados com pontas diamantadas. Embora as EITs, quando presentes, pareçam ocupar toda a extensão dos túbulos dentinários, é possível que o desgaste da dentina lingual, com pontas diamantadas, tenha removido extensão significativa dos túbulos dentinários com seu conteúdo intratubular. A outra questão está relacionada com a possibilidade de que os dentes utilizados naquela investigação, por circunstâncias clínicas, não tivessem exposição da dentina cervical lingual, como ocorre rotineiramente em dentes com LCNC.

No presente estudo, nenhum desgaste foi realizado na superfície lingual, mas observou-se que na grande maioria dos dentes ocorria visível exposição dentinária resultante de trauma local e de recessão gengival e, em alguns deles, a superfície lingual encontrava-se

brilhante à semelhança da superfície das lesões vestibulares. Assim, parece correto sugerir que a ocorrência de EIT não é privilégio das LCNCs, mas evento comum na dentina que, por qualquer circunstância, tenha sido exposta ao meio bucal por prolongados períodos de tempo. A probabilidade de que isso venha a ocorrer na região cervical é grande, porque nesse local, mesmo em circunstâncias normais, são significativas as concentrações de tensões resultantes dos esforços da mastigação, gerando constantes rearranjos na intimidade da dentina (LEE; EAKLE, 1984; REES, 1998). Por outro lado, o conteúdo tubular exposto ao meio bucal e em contato com os componentes da saliva, com produtos bacterianos e outros componentes extrínsecos, deve sofrer importantes alterações de natureza química, ao mesmo tempo acelerando e modificando o padrão de mineralização no interior dos túbulos dentinários. Dentre tais alterações destaca-se a variação do pH que, ao mesmo tempo em que promove a dissolução mineral da dentina, levando à formação da LCNC, também conduz à deposição de microcristais de β -TCMP, os *whitlockites*.

Yoshiyama et al. (1990) analisaram o conteúdo intratubular de amostras de dentina hipersensível empregando XMA (Micro Análise de raios-X) e não registraram diferença significativa entre razão Ca/P do material que obstrui os túbulos, comparativamente à DPT e intertubular (1.43, 1.49 e 1.51, respectivamente). Na mesma linha de observação, outros autores, empregando espectroscopia por dispersão de energia (E.D.S.), mostram que a composição das EITs corresponde a *whitlockites* aos quais o Mg parece estar incorporado com cerca de 1% em peso (LEFÈVRE; FRANK; VOEGEL, 1976). Utilizando também o EDS, Yoshiyama et al. (1996) reportaram a existência de Ca, P e S nas EITs, numa razão de Ca/P = 0.76 e de S/P de 2.29. Pode-se notar que esses estudos não mostram resultados coerentes entre si no que diz respeito à composição elemental das EITs.

Embora não tenha sido uma avaliação sistemática, e por isso não faz parte da metodologia relatada no capítulo correspondente, também se realizou no presente trabalho, a análise das EITs pelo método E.D.S. O conceito do E.D.S. tem como premissa que cada elemento da tabela periódica tem uma estrutura eletrônica específica e, por isso, uma resposta única a ondas eletromagnéticas. Por meio desse recurso foi possível determinar a composição das estruturas mineralizadas do interior dos túbulos e de sua periferia. Os dados obtidos da espectroscopia são transformados em gráficos que projetam a contagem vs. energia, onde os picos representam as emissões características dos elementos que compõem a amostra. O perfil espectral da hidroxiapatita, colhido da região da DIT, indica a presença de Ca e P, componentes básicos dessa estrutura (**Gráfico 1**). Por outro lado, no **gráfico 2**, representando a análise da EIT, registra-se a presença de traços mais fortes de Mg, correspondente a,

aproximadamente, 1%. Essas observações coincidem com os achados de Lefèvre, Frank e Voegel (1976). Embora não se tenha estudado a distribuição molecular dessas estruturas, a presença de átomos de Mg em associação com Ca e P sugere a existência de um composto mineral do grupo TCP, particularmente o β -TCMP, os *whitlockites* de natureza biológica, como se discutiu anteriormente.

Gráfico 1 – Perfil espectral da hidroxiapatita, mostrando os picos de Ca e P

Gráfico 2 – O espectro da EIT mostra pico correspondente ao Mg em mínima quantidade

As **figuras 17A e B e 18A e B** são observações complementares adotadas para auxiliar na interpretação das estruturas estudadas. A **figura 17A**, imagem em microscopia eletrônica convencional, mostra EITs provenientes de espécimes não desmineralizados e recobertos com carbono. O conteúdo intratubular repousa no leito do túbulo e apresenta eletrodensidade semelhante às estruturas adjacentes. A imagem da mesma amostra (**Figura 17B**) vista pela técnica de detecção dos elétrons refletidos (backscattered electrons - BSE) mostra que a densidade mineral das EITs é maior que a da DIT e semelhante à da DPT. Os BSE são elétrons com alta energia, originários do feixe primário de elétrons, que são refletidos na superfície da amostra. Esse recurso tem sido usado para detectar contrastes entre áreas de composições químicas diferentes, uma vez que áreas de maior brilho (maior quantidade de elétrons refletidos) sugerem regiões com maior número atômico. O contraste entre essas estruturas pode ser ainda mais claramente observado comparando as **figuras 18A e B**.

Figura 17 – Comparação das imagens da mesma amostra obtidas pela técnica convencional de M.E.V. e pela técnica do BSE. Nota-se em A a existência de conteúdo intratubular (setas) com identidade própria, distinta das estruturas adjacentes. Entretanto, não é possível identificar sua natureza mineral. Em B, o brilho das mesmas EIT vistas em A, contrastando com a dentina circunjacente, sugere matéria de natureza mineral

Figura 18 – A figura A permite diferenciar, entre o conjunto de estruturas, a DPT (seta branca) e o conteúdo intratubular (seta negra). Esses elementos tornam-se mais distintos em B, onde é clara a concentração mineral, tanto na DPT, como na EIT

Outro aspecto importante a ser abordado é que as EITs não são relatadas nas incontáveis pesquisas que empregam espécimes de dentina em diferentes metodologias. Via de regra os espécimes são extraídos de dentes não irrompidos ou irrompidos e hígidos, oriundos de pacientes jovens. Entretanto, como já se discutiu anteriormente, o processo de envelhecimento e a ocorrência de cárie produzem alterações nas estruturas dentinárias diferentes do que se observa rotineiramente nas LCNC (DACULSI et al., 1987; PORTER et al., 2005). De qualquer maneira, a origem dessas EITs e a compreensão dos fenômenos envolvidos em seu processo de formação ainda carecem de evidências científicas. Alguns autores têm afirmado que as EITs são de origem intracelular, isto é, são produto do metabolismo que ocorre no interior dos prolongamentos odontoblásticos, os quais, por algum fenômeno bioquímico, iniciam um processo de mineralização interna (ISOKAWA; KUBOTA; KUWAJIMA, 1973). Outros consideram as EITs, ainda que de configuração tubular compatível com o dos prolongamentos odontoblásticos, de origem extracelular. Sugerem que as EITs se originam da *lamina limitans* (LL), estrutura em forma de membrana que contorna internamente os túbulos dentinários. (MUYLLE; SIMOENS; LAUWERS, 2000; PAGAVINO; PACE; PIERLEONI, 1991; GORACCI et al., 1999; ISOKAWA; TODA; KUBOTA, 1970; ISOKAWA; KUBOTA; KUWAJIMA, 1973; GARBEROGLIO; BRÄNNSTRÖM, 1976; GWINNET; JENDRESEN, 1978; THOMAS, 1979, 1983, 1984; THOMAS; CARELLA, 1983, 1984; SIGAL; CHERNECKY, 1988; YOSHIYAMA et al., 1989, 1990, 1996, BRESCHI et al., 1999). Essa estrutura membranosa se torna muito mais nítida após o processo de desmineralização. Com a dissolução da DPT, ela fica livre no interior dos túbulos dentinários, caracterizando-se como entidade independente. (THOMAS; CARELLA, 1983; AZRAK, 2003). É, aparentemente, constituída de glicoproteínas, particularmente as glicosaminoglicanas, que exercem papel regulador na precipitação mineral nessa região (SAUK et al., 1976; THOMAS, 1984; TAKAGI et al., 1990; PAGAVINO; PACE; PIERLEONI, 1991). Glicosaminoglicanas são polímeros de dissacarídeos, também chamadas de mucopolissacarídeos ácidos, geralmente hexosaminas ou ácido urônico. Podem compreender grupos de estersulfatos, os quais, assim como os grupos carboxilatos do ácido urônico, são locais de reação nas proteoglicanas dos tecidos. A literatura relata uma diferença no conteúdo de proteoglicanas na dentina e na pré-dentina, o que indica que estes constituintes podem, de alguma maneira, participar ou ter algum efeito na mineralização. Assim, a LL seria uma barreira reguladora das trocas de substâncias entre o fluido pulpodentinário, supersaturados de íons cálcio e fosfato, e a dentina (BRADFORD, 1958).

Embora não seja afetada por processos de desmineralização, a LL pode ser digerida pela hialuronidase. A susceptibilidade da LL à digestão por essa enzima indica seu alto conteúdo de glicosaminoglicanas, sugerindo, então, que seja uma estrutura de natureza extracelular e, portanto, não deve ser confundida com prolongamentos odontoblásticos (THOMAS, 1984). Essa constatação é confirmada por outros autores (YOSHIBA, et al. 2002), os quais observaram que a LL pode ser vista desde o limite pulpodentinário até a junção esmalte/dentina, ao contrário dos prolongamentos odontoblásticos, estes detectados apenas na região da dentina mais profunda. Segundo Szabó J., Trombitás e Szabó I. (1985), é possível que apenas alguns prolongamentos apresentem o mesmo comprimento de seus respectivos túbulos dentinários, uma vez que, devido ao preparo dos espécimes, muitos prolongamentos sofram contração e, por isso, não são vistos nas partes mais externas da dentina.

No presente trabalho, registrou-se a ocorrência de EIT (coincidentes com a identidade da LL) ao longo de toda a extensão tubular, enquanto estruturas indicativas de prolongamentos odontoblásticos foram vistas apenas próximas à polpa (**Figura 19**). A independência dessas estruturas se torna bastante clara quando se analisa a **figura 20**, já mostrada em resultados, aqui reapresentada com destaque para melhor visualização. Nessa figura, três estruturas independentes são vistas: a DPT, a EIT e, projetando-se de seu interior, o que parece ser um prolongamento odontoblástico. A **figura 21** representa mais uma imagem em região de trinca, mostrando, agora, estruturas tubulares com aparência de anéis e não fibrilar como vistas nas **figuras 10C e D** dos resultados e **figura 19**.

Figura 19 – Estruturas intratubulares assemelhando-se a prolongamentos odontoblásticos. Observar a natureza fibrosa do conteúdo intratubular (seta)

Figura 20 – As setas (brancas) mostram as três entidades que compõem o complexo tubular: DPT, EIT e o que parece um prolongamento odontoblástico. Aqui também se pode notar o aspecto fibroso do prolongamento (seta negra)

Figura 21 – Nota-se a diferença entre as estruturas tubulares, que se assemelham aos prolongamentos odontoblásticos (Fig 19) e estas estruturas vistas na região de trinca, desta imagem. As EITs mostram-se mais rígidas, sem aspecto fibrilar e “ocas” (setas) (3000X)

6.3 EIT E HIPERSENSIBILIDADE DENTINÁRIA (HD).

Como já mencionou anteriormente, os dados apresentados por Azrak (2003) levam a entender que as EIT tendem ocorrer apenas nas regiões tipicamente acometidas por LCNC. Portanto, não encontrou tais estruturas nas regiões linguais dos mesmos dentes lesionados. Essa conclusão contraria o que se observou no presente trabalho, que mostra a ocorrência de EIT em ambas as faces dos dentes. As possíveis razões para tais diferenças também já foram argumentadas, mas são novamente mencionadas para auxiliar na compreensão do fenômeno da HD. Em 1996, é publicado por Yoshiyama et al., intrigante pesquisa em que os autores relatam a particular estrutura da dentina sensível, comparada com aquela não sensível. Esses autores obtiveram biópsias de áreas mapeadas sensíveis e não sensíveis de LCNC típicas. Observaram, empregando, M.E.V., que as regiões sensíveis eram exatamente as que coincidiam com a maioria dos túbulos (75.8%) preenchida com EIT, que os autores convencionaram chamar de *tubule like structures*. Tais estruturas, de conformação tubular e ocas, portanto, uma vez presentes, não permitiriam a completa obstrução dos túbulos dentinários, perpetuando a condição de HD, considerando a teoria da hidrodinâmica. Em contrapartida, na dentina não sensível, os túbulos encontravam-se completamente vazios, em sua grande maioria (80%). Embora pareça uma situação contraditória, os autores esclarecem que os túbulos encontravam-se abertos porque a técnica de preparação dos espécimes,

empregando HCl e uma collagenase, teria dissolvido por completo a DPT, esta sim, a responsável pela impermeabilização dos túbulos dentinários. No presente estudo, observou-se que, existentes na maioria dos espécimes de ambas as faces dos dentes, as EITs também correspondiam com os registros de hipersensibilidade dentinária. Os dentes com HD produziram 77% das amostras com EIT, o que, de certa maneira, confirma as observações de Yoshiyama et al.

Abre-se, aqui, uma importante discussão sobre as prováveis causas da HD. Os registros clínicos extraídos dos pacientes envolvidos nessa pesquisa mostram que a HD se manifesta em diferentes circunstâncias, especialmente quando estimulada pelo tato ou pelo frio/evaporação (jatos de ar). A experiência clínica tem mostrado, também, que os episódios de HD são exacerbados quando, por qualquer razão, o pH bucal é drasticamente reduzido, o que geralmente ocorre após a ingestão de frutas ou sucos cítricos, entre outros. Já se demonstrou o efeito de bebidas com elevado teor ácido na permeabilidade dentinária. (SEGALA; PEREIRA; PINHEIRO, 2000). Em tais condições, a HD pode ocorrer tanto pela desmineralização da DPT como pelo gradiente de pressão osmótica induzida na superfície dentinária.

Embora a compreensão da dinâmica dos fluidos no interior dos túbulos dentinários forneça enorme confiabilidade à teoria hidrodinâmica, é possível que outros fenômenos possam auxiliar na transmissão do estímulo até as terminações nociceptoras intrapulpare. Os diferentes autores que empregaram ácidos na preparação das amostras observaram que as EITs, além de estarem soltas no interior dos túbulos, devido à dissolução da DPT, ainda se projetavam para além da superfície da amostra. Isso ocorria em consequência do colapso da dentina superficial, causado pela desidratação convencional dos espécimes. Tal situação é nítida nos espécimes obtidos por Azrak (2003) e Yoshiyama et al. (1996). Em uma situação clínica real, após a ingestão de substâncias ácidas, não é absurdo supor que as extremidades instáveis das EIT sofram deslocamentos microscópicos no interior dos túbulos, provocados por estímulos físicos ou mecânicos eventuais. É possível, ainda, que ocorra uma ligeira contração da dentina superficial, expondo minimamente a extremidade das EITs, facilitando seu movimento. Sendo isso factível, a teoria hidrodinâmica poderia bem estar sendo coadjuvada pela instabilidade física do conteúdo intratubular mineralizado que, por sua vez, afeta as terminações nervosas na margem pulpar.

Como se pode ver, as LCNC e a HD, eventos clínicos que se manifestam com tanta frequência na prática diária da Odontologia, contêm aspectos aparentemente de menor importância, mas que podem ter enorme influência em suas respectivas ações de prevenção e

tratamento. As nuances próprias desse tema somente podem ser apreciadas e compreendidas à luz da investigação científica. Espera-se que os pontos aqui abordados tenham contribuído para aprimorar o discernimento clínico e o conhecimento teórico sobre esse assunto tão interessante.

7 CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados pode-se concluir que:

1 Houve diferença entre os métodos utilizados para preparação dos espécimes no que diz respeito à integridade das estruturas dentinárias. Portanto, a hipótese nula foi rejeitada.

1.1 Os diferentes tratamentos empregados, embora mais efetivos que o grupo sem tratamento, proporcionam vantagens relativas na a visualização da superfície exposta da lesão.

1.2 Na intimidade da lesão, a simples fratura dos espécimes (Grupo IIIA) parece ser a melhor técnica para a visualização das estruturas dentinárias e, ao mesmo tempo, aquela condição que menos altera a relação entre elas.

1.3 A técnica de fixação e pós-fixação empregada proporciona excelente preservação das estruturas dentinárias, mas ainda assim, artefatos de técnica devem ser previstos.

2 Estruturas intratubulares podem ser encontradas tanto na face vestibular, que contém a LCNC, quanto na face oposta (face lingual, sem lesão). Assim, a hipótese nula testada é verdadeira.

3 Não existem diferenças estruturais distinguíveis nas lesões hipersensíveis em comparação com aquelas não-sensíveis, confirmando a hipótese nula correspondente.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ABSI, E. G.; ADDY, M.; ADAMS, D. Dentine hypersensitivity. A study of the patency of dentinal tubules in sensitive and non-sensitive cervical dentine. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 14, p. 280-284, 1987.
- ARNOLD, W. H.; KONOPKA, S.; GAENGLER, P. Qualitative and quantitative assessment of intratubular dentin formation in human natural carious lesions. **Calcif Tissue Int**, Berlin, v. 69, p. 268-273, 2001.
- ARRAIS, C. A. G.; CHAN, D. C. N.; GIANNINI, M. Effects of desensitizing agents on dentinal tubule occlusion. **J Appl Oral Sci**, v. 12, n. 2, p. 144-148, 2004.
- AZRAK, M. A. **Estudo comparativo da morfologia dentinária cervical em dentes normais e dentes com lesão cervical não cariosa: estudo em M.E.V.** 2003. 163 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2003.
- BADER, J. D. et al. Case-control study of non-carious cervical lesions. **Community Dent Oral Epidem**, Copenhagen, v. 24, p. 186-291, Aug. 1996.
- BEVENIUS, J. et al. Idiopathic cervical lesions: in vivo investigation by oral microendoscopy and scanning electron microscopy. A pilot study. **J Oral Rehabil**, Oxford, v. 20, p. 1-9, 1993.
- BLAKE, G. C. The peritubular translucent zones in human dentin. **Brit Dent J**, London, v.104, p. 57-64, 1958.
- BRADFORD, E. W. The identity of Thomes' fibre. **Brit Dent J**, London, v. 89, p. 203-209, Nov. 1950.
- BRADFORD, E. W. The maturation of the dentine. **Brit Dent J**, London, v. 105, p. 212-216, 1958.

BRÄNNSTRÖM, M.; ÄSTROM, A. The hidrodynamics of the dentine; its possible relationship to dentinal pain. **Int Dent J**, London, v. 22, n. 2, p. 219-227, 1972.

BRÄNNSTRÖM, M. The elicitation of pain in human dentin and pulpa by chemical stimuli. *Arch Oral Biol*, v.7, p.79, 1962 apud BRÄNNSTRÖM, M.; ÄSTROM, A. The hidrodynamics of the dentine; its possible relationship to dentinal pain. **Int Dent J**, London, v. 22, n. 2, p. 219-227, 1972.

BRÄNNSTRÖM, M.; JOHNSON, G.; NORDENVALL, K-J. Transmission and control of dentinal pain: resin impregnation for the desensitization of dentin. **JADA**, Chicago, v. 99, p. 612-618, Oct. 1979.

BRÄNNSTRÖM, M.; GARBEROGLIO, R. Occlusion of dentinal tubules under superficial attrited dentine. **Swed Dent J**, Sweden, v. 4, p. 87-91, 1980.

BRESCHI, L. et al. Field emission in-lens SEM study of enamel and dentin. **J Biomed Mater Res**, Wiley, v. 46, p. 315-323, 1999.

BUTLER, W. T. Dentin extracellular matrix and dentinogenesis. **Oper Dent**, Seattle, p. 18-23, 1992. Supplement 5.

BUTLER, W. T. The nature and functional significance of dentin extracellular matrix proteins. **Int J Dev Biol**, Vizcaya, v. 39, p. 169-79, 1995.

BURKE, F. J. T. et al. An alternative hypothesis from veterinary science for the pathogenesis of noncervical lesions. **Quintessence Int**, Berlin, v. 31, p. 475-482, 2000. Special report.

CAGIDIACO, M. C. et al. Mapping of tubule and intertubule surface areas available for bonding in class V and class II preparations. **J Dent**, Bristol, v. 25, n. 5, p. 379-389, 1997.

CARVALHO, R. M. et al. Dimensional changes of desmineralized human dentine during preparation for scanning electron microscopy. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 41, n. 4, p. 379-386, 1996.

CERUTI, P. et al. Non carious cervical lesions. A review. **Minerva Stomatol**, Torino, v. 55, n. 1-2, p. 43-57, 2006.

CIANCIONI, I.; GRANDE, M.; RICCIARDI, F. Restauro conservativo di lesioni cervicali. Analisi clinica e microscopica. *Dentista Moderno*, p.27-88, 2000 apud CERUTI, P. et al. Non carious cervical lesions. A review. **Minerva Stomatol**, Torino, v. 55, n. 1-2, p. 43-57, 2006.

COLEMAN, T. A.; GRIPPO, J. O.; KINDERKNECHT, K.E. Cervical dentin hypersensitivity. Part II: Associations with abfraction lesions. **Quintessence Int**, Berlin, v. 31, n. 7, p. 466-473, 2000.

COSTA, C. A. S.; MESAS, A. N.; HEBLING, J. Pulp response to direct capping with an adhesive system. **Am J Dent**, San Antonio, v. 13, n. 2, p. 81-86, Apr. 2000.

COX, C. F. Etiology and treatment of root hypersensitivity. **Am J Dent**, San Antonio, v. 7, n. 5, p. 266-270, Oct. 1994.

DAI, X. F., TEN CATE, A. R., LIMEBACK, H. The extent and distribution of intra tubular collagen fibrils in human dentin. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 36, p. 775-776, 1991.

DACULSI, G. et al. Possible physico-chemical processes in human dentin caries. **J Dent Res**, Chicago, v. 66, n. 8, p. 1356-1359, Aug. 1987.

DOUKOUDAKIS, S. et al. Morphologic characteristics of dentin at the dentinoenamel junction as viewed by scanning electron microscopy. **J Esthet Dent**, Philadelphia, v. 9, n. 2, p. 94-99, 1997.

DRIESSENS, F. C. M.; VERBEECK, R. M. H. Biominerals. Boca Raton, FL: CRC Press, p.163-178, 1990 apud MARSHALL JÚNIOR., G. W. Dentin: Microstructure and characterization. **Quintessence Int**, Berlin, v. 24, n. 9, p. 606-616, 1993.

DUKE, E. S.; LINDEMUTH, J. Variability of clinical dentin substrates. **Am J Dent**, San Antonio, v. 4, n. 5, p. 241-246, Oct. 1991.

EDWARDS, M. et al. Buffering capacities of soft drinks: the potential influence on dental erosion. **J Oral Rehabil**, Oxford, v. 26, p. 923-927, 1999.

ENGFELDT, B. HJERPE, A. Glycosaminoglycans of dentin and predentine. **Calcif Tiss Res**, Berlin, v. 10, p. 152-159, 1972.

ERAMO, S. et al. Aspetti istopatologici e terapeutici delle lesioni cervicali. **Minerva Stomatol**, Toronto, v. 52, n. 1-2, p. 69-74, 2003.

ESTAFAN, A. et al. In vivo correlation of noncarious cervical lesions an occlusal wear. **J Prosthet Dent**, St. Louis, v. 93, n. 3, p. 221-226, Mar. 2005.

FOX, L. T.; SENIA, E. S.; ZEAGLER, J. Another look at the odontoblast process. **J Endod**, Chicago, v. 10, n. 11, p. 538-543, Nov. 1984.

FRANK. R. M. Electron microscopy of undecalcified sections of human adult dentine. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 1, p. 29-32, 1959.

FRANK. R. M.; VOEGEL, J. C. Ultrastructure of the human odontoblast process and its mineralization during dental caries. **Caries Res**, Basel, v. 14, p. 367-380, 1980.

FRANK. R. M.; STEUER, P. Transmission electron microscopy of the human odontoblast process in peripheral root dentine. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 33, n. 2, p. 91-98, 1988.

FRANK. R. M. Ultrastructure of human dentine 40 years ago- progress and perspectives. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 44, p. 979-984, 1999.

GALLIEN, K. S.; KAPLAN, I. K.; OWENS, B. M. A review of noncarious dental cervical lesions. **Compend Contin Educ Dent**, Lawrenceville, v. 15, n. 11, p. 1366-1372, Nov. 1994.

GARBEROGLIO, R.; BRÄNNSTRÖM, M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 21, p. 355-362, 1976.

- GIACHETTI, L. et al. Dentina sclerotica: ipotesi eziopatogenetiche. **Minerva Stomatol**, Toronto, v. 51, n. 7-8, p. 285-292, 2002.
- GORACCI, G. et al. Analisi ultrastrutturale della dentina peritubulare e del lume tubulare di denti sani. **Minerva Stomatol**, Toronto, v. 42, n. 5, p. 205-216, 1993.
- GORACCI, G.; MORI, F. Aspetti micromorfologici della dentina. **Minerva Stomatol**, Toronto, v. 44, n. 9, p. 377-387, 1995.
- GORACCI, G. et al. Extent of the odontoblastic process: Analysis by SEM and confocal microscopy. **Minerva Stomatol**, Toronto, v. 48, p. 1-8, 1999.
- GORACCI, G.; MORI, F.; BALDI, M. Terminal end of the human odontoblast process: a study using SEM and confocal microscopy. **Clin Oral Investig**, Berlin, v. 3, p. 126-132, 1999.
- GRIPPO, J. O. Abfraction: a new classification of hard tissue lesions of teeth. **J Esthet Dent**, Philadelphia, v. 3, p. 14-19, 1991.
- GRIPPO, J. O.; SIMRING, M. Dental erosion revisited. **JADA**, Chicago, v. 126, p. 619-628. May. 1995.
- GRÖTZ, K. A. et al. Histotomography of the odontoblast processes at the dentine-enamel junction of permanent healthy human teeth in the confocal laser scanning microscope. **Clin Oral Investig**, Berlin, v. 2, p. 21-25, 1998.
- GRÖTZ, K. A. et al. Terminal end of the human odontoblast processes. **Clin Oral Investig**, Berlin, v. 4, p. 106-107, 2000. Letter.
- GRÖTZ, K. A.; AL-NAWAS, B.; DUSCHNER, H. Correlating micromorphology of the pulp odontoblast seam using confocal laser scanning microscopy and dark field microscopy. **Clin Oral Investig**, Berlin, v. 7, p. 59-61, 2003.

GWINNETT, A. J.; JENDRESEN, M. D. Micromorphologic features of cervical erosion after acid conditioning and its relation with composite resin. **J Dent Res**, Chicago, v. 57, n. 4, p. 543-549, Apr. 1978.

HARCOURT, J. K. Further observations on the peritubular translucent zone in human dentine. **Aust Dent J**, Sydney, v. 9, p. 387-92, Oct. 1964.

HAWKINSON, R. W.; EISENMANN, D. R. Electron Microscopy of dentinal tubule sclerosis in the enamel-free region of the rat molar. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 28, n. 5, p. 409-414, 1983.

IBBETSON, R.; EDER, A. Tooth surface loss: an overview. **Br Dent J**, London, v. 186, n. 2, p. 61-66, Jan. 1999.

IMFELD, T. Dental erosion. Definition, classification and links. **Eur J Oral Sci**, Copenhagen, v. 104, p. 151-155, 1996.

ISOKAWA, S.; TODA, Y.; KUBOTA, K. A scanning electron microscopic observation of etched human peritubular dentine. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 15, p. 1303-1306, 1970.

ISOKAWA, S.; KUBOTA, K.; KUWAJIMA, K. Scanning electron microscope study of dentin exposed by contact facets and cervical abrasion. **J Dent Res**, Chicago, v. 52, n. 1, p. 170-174, Feb. 1973.

JONES, I. L.; LEAVER, A. G. Glycosaminoglycans of human dentine. **Calcif Tissue Res**, Berlin, v. 16, p. 37-44, 1974.

JOHANSEN, E.; PARKS, H. F. Electron-microscopic observations on sound human dentin. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 7, p. 185-193, 1962.

KELLEHER, M.; BISHOP, K. Tooth surface loss: an overview. **Br Dent J**, London, v. 186, n. 2, p. 61-55, Jan. 1999.

KELLEY, K. W.; BERGENHOLTZ, G.; COX, C. F. The extent of the odontoblast process in rhesus monkeys (*Macaca mullata*) as observed by scanning electron microscopy. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 26, p. 893-897, 1981.

KITAJIMA, E. W.; LEITE, B. **Curso Introdutório de Microscopia Eletrônica de Varredura**. 2nd ed. São Paulo – Piracicaba. 1999. 46 p.

KING, P. A. Adhesive techniques. **Br Dent J**, London, v.186, n.7, p.321-326, May. 1999.

LEE, W. C.; EAKLE, W. S. Possible role of tensile stress in the etiology of cervical erosive lesions of teeth. **J Prosthet Dent**, St. Louis, v. 52, p. 374-380, 1984.

LEE, W. C.; EAKLE, W. S. Stress-induced cervical lesions: Review of advances in the past 10 years. **J Prosthet Dent**, St. Louis, v. 75, n. 5, p. 487-493, May. 1996.

LEFÈVRE, R.; FRANK, R. M.; VOEGEL, J. C. The study of human dentine with secondary ion microscopy and electron diffraction. **Calcif Tissue Res**, Berlin, v. 19, p. 251-261, 1976.

LeGEROS, R. Z. **Calcium phosphates in oral biology and medicine**: Monographs in Oral Sciences. San Francisco: Ed. Howard M. Myers. 1991. v. 15.

LEVITCH, L. C. et al. Non-carious cervical lesions. **J Dent**, Bristol, v. 22, p. 195-207, 1994.

LITONJUA, L. A. et al. Noncarious cervical lesions and abfractions: a re-evaluation. **JADA**, Chicago, v. 134, p. 845-850, July 2003.

LITONJUA, L. A. et al. Wedged cervical lesions produced by toothbrushing. **Am J Dent**, San Antonio, v. 17, n. 4, p. 237-240, Aug. 2004.

LOPES M. M.; PERDIGÃO J.; GERALDELI, S. **Processing biological specimens for SEM and TEM**: Mini-Residence in Operative Dentistry and Dental Materials. University of Minnesota, School of Dentistry, USA, 2002.

LOPES, G. C. et al. Bonding to cervical sclerotic dentin: Effect of acid etching time. **J Adhes Dent**, New Malden, v. 6, n. 1, p. 19-23, 2004.

MANIATOPOULOS, C.; SMITH, D. C. A scanning electron microscopic study of the odontoblast process in human coronal dentine. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 28, n. 8, p. 701-710, 1983.

MARSHALL JÚNIOR., G. W. Dentin: Microstructure and characterization. **Quintessence Int**, Berlin, v. 24, n. 9, p. 606-616, 1993.

MARSHALL JR., G. W. et al. Citric acid etching of cervical sclerotic dentin lesion: An AFM study. **J Biomed Mater Res**, Hoboken, v. 39, p. 338-344, 2000.

MAYHEW, R. B.; JESSEE, S. A.; MARTIN, R. E. Association of occlusal, periodontal, and dietary factors with the presence of non-carious cervical dental lesions. **Am J Dent**, San Antonio, v. 11, n. 1, p. 29-32, Feb. 1998.

MEERBEEK, B. V. et al. Morphological characterization of the interface between resin and sclerotic dentin. **J Dent**, Bristol, v. 22, p. 141-146, 1994.

MENDIS, B. R.; DARLING, A. I. A scanning electron microscope and microradiographic study of closure of human coronal dentinal tubules related to occlusal attrition and caries. *Archs Oral Biol*, v.24, p.725-733, 1979 apud GORACCI, G.; MORI, F. Aspetti micromorfologici della dentina. **Minerva Stomatol**, Toronto, v. 44, n. 9, p. 377-387, 1995.

MEURMAN, J. H.; TEN CATE, J. M. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. **Eur J Oral Sci**, Copenhagen, v. 104, p. 199-206, 1996.

MILLER, J. The micro-radiographic appearance of dentine. **Br Dent J**, London, v. 97, n. 1/4, p. 7-9, July 1954.

MIXSON, J. M. et al. Surface morphology and chemical characterization of abrasion/erosion lesions. **Am J Dent**, San Antonio, v.8, n.1, p.5-9, Feb. 1995.

- MJÖR. I. A.; FEJERSKOV, O. Dentin-predentin complex and its permeability: Pathology and treatment overview. **J Dent Res**, Chicago, v. 64, p. 621-627, 1985. Special issue.
- MJÖR, I. A.; NORDAHL, I. The density and branching of dentinal tubules in human teeth. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 41, n. 5, p. 401-412, 1996.
- MJÖR. I. A.; HEYERAAS, K. J. Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 1: Normal structure and physiology. **Quintessence Int**, Berlin, v. 32, p. 427-446, Jan.-June 2001.
- MONDELLI, J. et al. **Proteção do Complexo Dentinopulpar**. São Paulo: Ed. Artes Médicas Ltda. v. 1, 1998.
- MULLER, C. J. F.; WYK, C. W. V. The amelo-cemental junction. **J Dent Assoc S Africa**, Cape Town, v. 39, n. 12, p. 799-803, Dec. 1994.
- MUYLLE, S.; SIMOENS, P.; LAUWERS, H. Tubular contents of equine dentin: a scanning electron microscopic study. **J Vet Med**, Berlin, v. 47, p.321-330, 2000.
- ODA, M.; MATOS, A. B.; LIBERTI, E. A. Morfologia da dentina tratada com substâncias dessensibilizantes: avaliação através da microscopia eletrônica de varredura. **Rev Odontol Univ São Paulo**, v. 13, n. 4, p. 337-342, Out.-Dez. 1999.
- OYAMA, T.; MATSUMOTO, K. A clinical and morphological study of cervical hypersensitivity. **J Endod**, Chicago, v. 17, n. 10, p. 500-503, Oct. 1991.
- PAGAVINO, G.; PACE, R.; PIERLEONI, P. La lamina limitante. Aspetti al microscopio elettronico a scansione. **Minerva Stomatol**, Toronto, v. 40, p. 455-465, 1991.
- PASHLEY, D. H. Sensitivity of dentin to chemical stimuli. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v. 2, p. 130-137, Mar. 1986.
- PASHLEY, D. H. Dentin permeability, dentin sensitivity, and treatment through tubule occlusion. **J Endod**, Chicago, v. 12, n. 10, p. 465-474, Oct. 1986.

PASHLEY, D. H. Dynamics of the pulp-dentin complex. **Crit Rev Oral Biol Med**, Boca Raton, v. 7, n. 2, p. 104-133, 1996.

PASHLEY, D. H. et al. The effects of dentin permeability on restorative dentistry. **Dent Clin North Am**, Philadelphia, v. 46, p. 211-245, 2002.

PEGORARO, L. F. et al. Noncarious cervical lesions in adults. Prevalence and occlusal aspects. **JADA**, Chicago, v. 136, Dec. 2005.

PERDIGÃO, J. et al. Field emission SEM comparison of four post fixation drying techniques for human dentin. **J Biomed Mater Res**, Hoboken, v. 29, p. 1111-1120, 1995.

PEREIRA, J.C. **Maxi-Odonto: Dentística**. Bauru: Ed. Livros e Revistas Técnicas Ltda, 1995. 24 p.

PINTADO, M. R. et al. Correlation of noncarious cervical lesion size and occlusal wear in a single adult over 14-year time span. **J Prosthet Dent**, St. Louis, v. 84, n. 4, p. 436-443, 2000.

PORTER, A. E. et al. A transmission electron microscopy study of mineralization in age-induced transparent dentin. **Biomater**, v. 26, p. 7650-7660, 2005.

REES, J. S. The role of cuspal flexure in the development of abfraction lesions: a finite element study. **Eur J Oral Sci**, Copenhagen, v. 106, n. 6, p. 1128-1132, Dec. 1998.

RIMONDINI, L.; CHIARA, B.; CARRASSI, A. Ultrastructure of hypersensitive and non-sensitive dentine. A Study on replica models. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 22, n. 2, p. 899-902, July- Dec. 1995.

SAKAE, T.; MISHIMA, H.; KOZAWA, Y. Changes in bovine dentin mineral with sodium hypochlorite treatment. **J Dent Res**, Chicago, v. 67, n. 9, p. 1229-1234, Sep. 1988.

SAUK JR., J. J. et al. Glycosaminoglycans of predentin, peritubular dentin, and dentin: A biochemical and electron microscopical study. **Oral Surg**, v. 41, p. 623-630, May. 1976.

SEGALA, A. D.; PEREIRA, J. C.; PINHEIRO, A. A. In vitro effect of acidic beverages on dentin permeability. **J Dent Res**, Chicago, v. 79, p. 304, 2000. Abstract (1228). Trabalho apresentado no IADR.

SELVIG, K. A. Ultrastructural changes in human dentin exposed to a weak acid. *Archs Oral Biol*, v. 13, p. 719-734 apud ISOKAWA, S.; TODA, Y.; KUBOTA, K. A scanning electron microscopic observation of etched human peritubular dentine. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 15, p. 1303-1306, 1970.

SCHERFT, J. P. The lamina limitans of organic matrix of calcified cartilage and bone. *J Ultrastruct Res*, v.38, p.318-331, 1972 apud THOMAS, H. F.; CARELLA, P. A scanning electron microscope study of dentinal from un-erupted human teeth. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 28, n. 12, p. 1125-1130, 1983.

SHERPAD, N.; MITCHELL, N. Acridine orange stabilization of glycosaminoglycans in beginning and endochondral ossification. *Histochemistry*, v. 70, p. 107-114, 1981 apud THOMAS, H. F.; CARELLA, P. A scanning electron microscope study of dentinal from un-erupted human teeth. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 28, n. 12, p. 1125-1130, 1983.

SIGAL, M. J.; CHERNECHY, R. Terminal end of the odontoblast process. **J Endod**, Chicago, v. 14, n. 11, p.543-545, Nov. 1988.

SMITH, B. G. N., KNIGHT, J. K. An index for measuring the wear of teeth. **Br Dent J**, London, v. 156, p. 435-438, 1984.

SOBRAL, M. A. P.; GARONE NETTO, N. Aspectos clínicos da etiologia da hipersensibilidade dentinária cervical. **Rev Odontol Univ São Paulo**, v. 13, n. 2, p. 189-195, abr.-jun. 1999.

SZABÓ, J.; TROMBITÁS, K.; SZABÓ, I. The odontoblast process and its branches in human teeth observed by scanning electron microscopy. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 29, n. 4, p. 331-333, 1984.

SYMONS, N. B. B., The microanatomy and histochemistry of dentinogenesis. In: Structural and Chemical Organization of Teeth, v. 1, p. 285-3224. 1967 apud THOMAS, H. F.; CARELLA, P. A scanning electron microscope study of dentinal from un-erupted human teeth. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 28, n. 12, p. 1125-1130, 1983.

SZABÓ, J.; TROMBITÁS, K.; SZABÓ, I. Scanning electron microscopy of the walls of tubules in human coronal dentine. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 30, n. 10, p. 705-710, 1985.

TAKAGI, M. et al. Immunohistochemical localization of glycosaminoglycans and proteoglycans in predentin and dentin of rat incisors. **J Histochem Cytochem**, Baltimore, v. 38, n. 3, p. 319-324, 1990.

TELLES, D.; PEGORARO, L. F.; PEREIRA, J. C. Prevalence of noncarious cervical lesions and their relation to oclusal aspect: A clinical study. **J Esthet Dent**, Philadelphia, v. 12, n. 1, p. 10-15, 2000.

THOMAS, H. F. The extent of odontoblast process in human dentin. **J Dent Res**, Chicago, v. 58, p. 2207-2219, 1979.

THOMAS, H. F. The effect of various fixatives on the extent of the odontoblasto process in human dentine. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 28, n. 5, p. 465-469, 1983.

THOMAS, H. F.; CARELLA, P. A scanning electron microscope study of dentinal from un-erupted human teeth. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 28, n. 12, p. 1125-1130, 1983.

THOMAS, H. F.; CARELLA, P. Correlation of scanning and transmission electron microscopy of human dentinal tubules. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 29, n. 8, p. 641-646, 1984.

THOMAS, H. F. The lamina limitans of human dentinal tubules. **J Dent Res**, Chicago, v. 63, n. 8, p. 1064-1066, Aug. 1984.

VASILADIS, L.; DARLING, A. I.; LEVERS, G.H. The histology of sclerotic humans root dentine. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 28, n. 8, p. 693-700, 1983.

VERBEECK, R. M. H.; De BRUYNE, P. A.M. The solubility behavior of whitlockite at 25°C (Abstract). **J Dent Res**, Chicago, v. 68, p. 1086, 1989.

WANG, Y.; SPENCER, P.; WALKER, M. P. Chemical profile of adhesive/caries-affected dentin interfaces using Raman microscopy. **J Biomed Mater Res**, Wiley, v. 81A, p. 279-286, 2007.

WASSERMAN, F.; YAEGER, J. A. Fine structure of the osteocyte capsule and of the wall of the lacunae in bone. *Z Zellforsch*, v. 67, p. 636-652, 1965 apud THOMAS, H. F.; CARELLA, P. A scanning electron microscope study of dentinal from un-erupted human teeth. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 28, n. 12, p. 1125-1130, 1983.

YOSHIBA, K. et al. Odontoblast process in human dentin revealed by fluorescence labeling and transmission electron microscopy. **Histochem Cell Biol**, Berlin, v. 118, p. 205-212, 2002.

YOSHIYAMA, M. et al. Scanning electron microscopic characterization of sensitive vs. insensitive radicular dentin. **J Dent Res**, Chicago, v. 68, n. 11, p. 1498-1502, Nov. 1989.

YOSHIYAMA, M. et al. Transmission electron microscopic characterization of hypersensitive human radicular dentin. **J Dent Res**, Chiacago, v. 69, n. 6, p. 1293-1297, June 1990.

YOSHIYAMA, M. et al. Morphological characterization of tube-like structures in hypersensitive human radicular dentine. **J Dent**, Bristol, v. 24, n. 1-2, p. 57-63, 1996.

YOUNG, W. G.; KHAN, F. Sites of dental erosion are saliva-dependent. **J Oral Rehabil**, Oxford, v. 29, p. 35-43, 2002.

ANEXO

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comitê de Ética em Pesquisa (3235-8356)

Processo nº 85/2005

Bauru, 23 de maio de 2006.

Senhor Professor,

Informamos que após o envio da documentação solicitada referente ao projeto de pesquisa encaminhado a este Comitê de Ética em Pesquisa **“Análise qualitativa das estruturas intra e peritubulares em dentina de lesões cervicais não cariosas, empregando MEV”** de autoria de Marcela Pagani Calabria, sob sua orientação, foi novamente analisado e considerado **APROVADO** nesta data.

Solicitamos que ao término do trabalho, seja enviado a este Colegiado um relatório final para parecer do trabalho concluído o qual será utilizado para publicação em revista científica.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Henrique Rubo
Coordenador

Ilmº Sr. **Prof. Dr. José Carlos Pereira**
DD. Docente do Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários