

SÉRGIO EDUARDO DE PAIVA GONÇALVES

**DENTINA HUMANA E BOVINA
ESTUDO COMPARATIVO DAS PROPRIEDADES FÍSICAS E
CARACTERÍSTICAS DA HIBRIDIZAÇÃO DE SISTEMAS ADESIVOS
CONVENCIONAIS OU GRATER MODIFICADOS: ANÁLISE EM MEV**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Livre Docente.

SÉRGIO EDUARDO DE PAIVA GONÇALVES

**DENTINA HUMANA E BOVINA
ESTUDO COMPARATIVO DAS PROPRIEDADES FÍSICAS E
CARACTERÍSTICAS DA HIBRIDIZAÇÃO DE SISTEMAS ADESIVOS
CONVENCIONAIS OU GRUNDER MODIFICADOS: ANÁLISE EM MEV**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Livre Docente.

São José dos Campos

2005

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	1
LISTA DE QUADROS E TABELAS	3
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	4
RESUMO	7
1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Década de 50: o impulso inicial	14
2.2 Década de 60: o reconhecimento e os primeiros avanços	17
2.3 Década de 70: substratos dentários e as dificuldades de adesão	20
2.4 Década de 80: a busca pela adesão à dentina	22
2.5 Década de 90: o “boom” da adesão na Odontologia	35
2.6 O novo milênio: para onde iremos?	123
3. PROPOSIÇÃO	163
4. MATERIAL E MÉTODO	164
4.1 Modificação dos sistemas adesivos e da água pelo sistema Grandeur	165
4.2 Medição da tensão superficial	166
4.3 Medição do ângulo de contato	168
4.4 Preparo dos espécimes destinados à análise das características da hibridização	173
4.4.1 Procedimento adesivo	179
4.5 Preparo dos corpos de prova para a análise ao MEV	182
4.5.1 Análise da interface de união	182
4.5.2 Fixação	183
4.5.3 Desidratação	183

4.5.4 Secagem	183
4.5.5 Metalização	184
4.6 Análise Estatística	186
5. RESULTADOS	187
5.1 Resultados de tensão superficial	187
5.2 Resultados de ângulo de contato	193
5.3 Resultados de espessura de hibridização	204
5.4 Descrição morfológica da hibridização das dentinas humana e bovina	213
5.4.1 Caracteres gerais	213
5.4.1.1 Do sistema SB normal	214
5.4.1.2 Do sistema CS normal	216
5.4.1.3 Do sistema SB Grander modificado	218
5.4.1.4 Do sistema CS Grander modificado	220
5.4.2 Morfologia do Grupo 9	222
5.4.3 Morfologia do Grupo 10	224
5.4.4 Morfologia do Grupo 11	226
5.4.5 Morfologia do Grupo 12	228
5.4.6 Morfologia do Grupo 13	230
5.4.7 Morfologia do Grupo 14	232
5.4.8 Morfologia do Grupo 15	234
5.4.9 Morfologia do Grupo 16	236
6 DISCUSSÃO	238
6.1 Tensão superficial	239
6.2 Ângulo de contato	243
6.3 Características da hibridização	250
6.3.1 Substrato	251
6.3.2 Número de amostras	256
6.3.3 Padronização da dentina	257
6.3.4 Microscopia eletrônica de varredura	259
6.3.5 Sistemas adesivos	267

6.3.6 Espessura de hibridização	283
7 CONCLUSÃO	292
8 REFERÊNCIAS	293
ANEXO	326
<i>ABSTRACT</i>	327

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Sistemas adesivos e unidade Flexible.....	165
FIGURA 2 – Goniômetro: acessórios.....	167
FIGURA 3 – Tensão superficial.....	168
FIGURA 4 – Equação de Young.....	169
FIGURA 5 – Substratos: a) placa de titânio; b) dentina humana.....	170
FIGURA 6 – Confeção dos corpos-de-prova para medição.....	170
FIGURA 7 – Medição do ângulo de contato.....	173
FIGURA 8 – Confeção dos corpos-de-prova para hibridização.....	175
FIGURA 9 – Preparo dos dentes destinados.....	175
FIGURA 10 – Preparo do perfil de adesão.....	176
FIGURA 11 – Padronização da dentina.....	176
FIGURA 12 – Representação esquemática dos grupos.....	178
FIGURA 13 – Procedimento adesivo.....	179
FIGURA 14 – Gráfico das médias dos dados de tensão superficial..	191
FIGURA 15 – Gráfico das médias dos dados de tensão superficial..	192
FIGURA 16 – Gráfico das médias referentes às condições.....	197
FIGURA 17 – Gráfico das médias referentes às condições.....	198
FIGURA 18 – Gráfico das médias referentes às condições.....	199
FIGURA 19 – Gráfico das médias referentes às condições.....	200
FIGURA 20 – Gráfico das médias referentes às condições.....	201
FIGURA 21 – Gráfico das médias referentes às condições.....	208
FIGURA 22 – Gráfico das médias referentes às condições.....	209
FIGURA 23 – Gráfico das médias referentes às condições.....	210
FIGURA 24 – Gráfico das médias referentes às quatro condições....	212
FIGURA 25 – Aspecto geral dos perfis de adesão SB N.....	214
FIGURA 26 – Aspecto geral dos perfis de adesão CS N.....	216

FIGURA 27 – Aspecto geral dos perfis de adesão SB GM.....	218
FIGURA 28 – Aspecto geral dos perfis de adesão CS GM.....	220
FIGURA 29 – Perfis de adesão com SB da dentina H.....	222
FIGURA 30 – Perfis de adesão com SB da dentina B.....	224
FIGURA 31 – Perfis de adesão com CS da dentina H.....	226
FIGURA 32 – Perfis de adesão com CS da dentina B.....	228
FIGURA 33 – Perfis de adesão com SB GM da dentina H.....	230
FIGURA 34 – Perfis de adesão com SB GM da dentina B.....	232
FIGURA 35 – Perfis de adesão com CS GM da dentina H.....	234
FIGURA 36 – Perfis de adesão com CS GM da dentina B.....	236

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 – Materiais empregados	164
Quadro 2 – Orientações dos fabricantes para aplicação	180
Tabela 1 – Média das medidas de tensão superficial	188
Tabela 2 – Média (\pm dp) dos dados de tensão superficial	189
Tabela 3 – ANOVA (2 fatores) para os dados de tensão superficial	189
Tabela 4 – Teste de Tukey 5% para comparação dos dados	190
Tabela 5 – Teste de Tukey 5% para comparação dos dados	190
Tabela 6 – Teste de Tukey 5% para comparação dos dados	190
Tabela 7 – Média das medidas do ângulo de contato	193
Tabela 8 – Água – Média (\pm dp) dos dados de ângulo de contato	194
Tabela 9 – <i>Bond</i> CS - Média (\pm dp)	194
Tabela 10 – <i>Primer</i> CS Média (\pm dp)	195
Tabela 11 – SB - Média (\pm dp)	195
Tabela 12 – ANOVA para os dados de ângulo de contato	196
Tabela 13 – Teste de Tukey 5% para comparação dos dados	202
Tabela 14 – Teste de Tukey 5% para as condições experimentais	203
Tabela 15 – Teste de Tukey 5% para as condições experimentais	203
Tabela 16 – Medidas em μm obtidas nos diferentes corpos	205
Tabela 17 – Dente humano. Média (\pm dp) dos dados de espessura	206
Tabela 18 – Dente bovino. Média (\pm dp) dos dados de espessura	207
Tabela 19 – ANOVA para os dados de espessura	207
Tabela 20 – Teste de Tukey 5% para as condições experimentais	211

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT = Associação Brasileira de Normas Técnicas

B = dente bovino

BCS = *bond* do Clearfil SE Bond

Bis-GMA = bisfenil-glicidil-metacrilato

CaCl₂ = cloreto de cálcio

CO₂ = dióxido de carbono

CPD = *Critical-Point Drying*: secagem ao ponto crítico

CQ = canforoquinona

CS = Clearfil SE Bond

EDTA = ácido diamino tetra-acético

G= Grander

Gluma = glutaraldeído-hidroxietil metacrilato

H = dente humano

HCl = ácido clorídrico

HEMA = 2-hidroxi etil-metacrilato

HMDS = hexametildisilazano

H₃PO₄ = ácido fosfórico

JAC = junção amelo-cementária

JAD = junção amelo-dentinária

MAC-10 = 11-metacriloxi-1, ácido 1-undecanodicarboxílico

MDP = 10 metacrililoxidecil hidrogênio fosfato

MET = Microscopia Eletrônica de Transmissão

MEV = Microscopia Eletrônica de Varredura

MEV-EC = Microscopia Eletrônica de Varredura por Emissão de Campo

MEV-ECI = Microscopia Eletrônica por Emissão de Campo em Lentes
Objetivas.

MFA = Microscopia de Força Atômica

MMA/TBB-O = metil-metacrilato/tri-N-butilburano oxidizado

NaOCl = hipoclorito de sódio

NaOH = hidróxido de sódio

NPG = N-fenilglicina

NPG-GMA = N-fenilglicina e glicidil metacrilato

NTG-GMA = N-p-toloil-glicina e glicidil metacrilato

P = placa de titânio

PCS = *primer* do Clearfil SE Bond

Phenyl-P = 2-metacriloxietil fenil-hidrogênio fosfato

pH = potencial hidrogeniônico

PMMA = poli-metil metacrilato

SB = Single Bond

SIMS = espectroscopia de massa de íons secundários

SMP = Scotchbond Multiuso Plus

Solução 10:3 = ácido cítrico a 10% e cloreto férrico a 3%

TEGDMA = trietilenoglicol dimetacrilato

XPS = espectroscopia por RX

4-META = 4-metacriloxietil trimelitato anidrido

5-NMSA = ácido N-metacrilato 5-aminosalicílico

θ = teta

Å = angstrom

° = grau

h = hora

D/cm = dina por centímetro

Kg/cm² = quilograma por centímetro quadrado

KV = quilovolt

min = minuto

M = molar

mM = milimolar

nm = nanometro (unidade de medida equivalente a 10^{-9})

μm = micrometro

mm = milímetro

mm^2 = milímetro quadrado

mol/L = mol por litro

MPa = megapascal

mW/cm^2 = miliwatts por centímetro quadrado

N = normal

s = segundos

% = percentagem

GONÇALVES, S.E.P. **Dentina humana e bovina - estudo comparativo das propriedades físicas e características da hibridização de sistemas adesivos convencionais ou Grander modificados: análise em MEV.** 2005. 327f. Tese (Livre-Docência em Odontologia Restauradora: Dentística). Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", São José dos Campos, 2005.

RESUMO

A adesão longitudinal continua a representar um dos maiores desafios da Odontologia Moderna. Uma nova proposta para o estabelecimento do equilíbrio da adesão aos tecidos dentários surge, baseada na observação dos resultados obtidos com a tecnologia Grander para revitalização da água. Objetiva-se com o estudo verificar a influência dessa tecnologia nas propriedades físicas de dois sistemas adesivos (convencional e autocondicionante) à partir da medição da tensão superficial e do ângulo de contato; e avaliar a formação e a qualidade da camada híbrida em dentina humana e bovina. A tensão superficial de quatro diferentes líquidos (água, Single Bond- 3M, Primer do Clearfil SE Bond -Kuraray, e Bond do Clearfil SE-Kuraray), foi medida antes e após a modificação pelo procedimento Grander em aparelho goniômetro (Ramé-hart). O ângulo de contato com três substratos distintos (placa de titânio, dentina humana e dentina bovina), foi medido para os quatro líquidos também antes e após a modificação pelo procedimento Grander, também em goniômetro. A formação e qualidade da camada híbrida, foi avaliada em MEV, a partir da confecção de corpos de prova dos substratos humano e bovino, devidamente embutidos, preparados em lixas de variada granulação até a exposição de dentina, submetidos ao procedimento adesivo (SB ou CSEB) normal ou Grander modificado, recebendo ao final dupla camada de resina composta Z250-3M, fotopolimerizada por 40s. Após armazenamento em estufa bacteriológica por 24h, os procedimentos para análise ao MEV foram realizados (fixação, desidratação, secagem e metalização). A estatística de Análise de Variância ANOVA e Teste de Tukey 5% revelou que: houve redução estatisticamente significativa da tensão superficial para todos os líquidos Grander modificados; houve redução estatisticamente significativa do ângulo de contato no substrato humano para todos os líquidos Grander modificados; houve aumento estatisticamente significativo da espessura da camada híbrida para os dois sistemas adesivos Grander modificados; o sistema adesivo convencional normal ou Grander modificado apresentou valores de espessura da camada híbrida superiores ao auto-condicionante.

PALAVRAS-CHAVE: adesivo autocondicionante, adesivo convencional, dentina, hibridização, ângulo de contato, tensão superficial.

1INTRODUÇÃO

Michael Buonocore, Raphael Bowen, Daniel Hugo Retief, Takao Fusayama, Garberoglio & Brannstrom, John Gwinnett, Nobuo Nakabayashi, David Pashley, Barkmeier & Cooley, Bart Van Meerbeek, J.David Eick, Franklin Tay, Masahiro Yoshiyama, Ricardo Marins de Carvalho, H. Sano, L.Tao, Edward Swift Junior e Jorge Perdigão, elencam o hall de pesquisadores que devotaram seu trabalho ao desbravamento e conquista do conhecimento no campo da adesão ao substrato dental, conforme se observa nos mais renomados periódicos científicos especializados: Operative Dentistry, Journal of Prosthetic Dentistry, Dental Materials, Journal of Esthetic Dentistry, American Dental Journal, Journal of Adhesive Dentistry, Journal of Dental Research, Quintessence International e Journal of American Dental Association.

A evolução dos materiais e técnicas desde a introdução do condicionamento ácido do esmalte modificou profundamente a conduta odontológica, promovendo intervenções conservadoras e protetoras da razão de uma execução profissional biológica: a vitalidade do órgão dental (BOWEN & COBB²⁰, 1983; GWINNETT⁷⁴, 1984; EICK et al.^{51,52,53}, 1991, 1992 e 1993; BARKMEIER & COOLEY¹⁰, 1992; NAKABAYASHI & TAKARADA¹¹⁴, 1992; PERDIGÃO & SWIFT JÚNIOR.¹³⁵, 1994; GONÇALVES et al.⁷³, 1996; PERDIGÃO et al.^{141,142}, 1996; GONÇALVES⁷¹, 1997; GONÇALVES et al.⁷², 1999; PASHLEY et al.¹³³, 2000; REIS et al.¹⁵⁵, 2001; CARVALHO et al.³⁵, 2003; SAKOOLNAMARKA et al.¹⁶⁶, 2003; ANIDO^{5,6}, 2001 e 2005).

Dentro do que podemos considerar como a era adesiva da Odontologia, três pontos se destacam: a adesão ao esmalte, por intermédio de seu condicionamento ácido, desenvolvido por Michael Buonocore²⁴, em 1955, técnica essa que alavancou a busca pela adesão,

preservação e longevidade dos procedimentos restauradores; as resinas compostas, introduzidas por Bowen na década de 60 e que ainda hoje recebem os benefícios da evolução da tecnologia de materiais e representam a quase totalidade dos procedimentos estéticos diretos realizados na Dentística Restauradora; e a adesão à dentina, experimentada por Fusayama, em 1979 e consagrada por Nakabayashi, em 1982, pela formação da camada híbrida de adesão. Esta, procurada pela grande maioria dos atuais sistemas adesivos, em diferentes estratégias de adesão, garante eficiente resistência adesiva e proteção contra a microinfiltração marginal, além de funcionar como uma camada elástica capaz de absorver os stresses causados pela contração da polimerização das resinas compostas e forças oclusais (EICK et al.^{51,52,53}, 1991, 1992 e 1993; BARKMEIER & COOLEY¹⁰, 1992; NAKABAYASHI & TAKARADA¹¹⁴, 1992; PERDIGÃO & SWIFT JÚNIOR¹³⁵, 1994; PERDIGÃO et al.^{138,139,141,136,144,137}, 1993, 1994, 1996, 1999, 2000, 2003; GONÇALVES et al.⁷³, 1996; VAN MEERBEEK et al.^{219,221,222}, 1994, 1996, 2000; GONÇALVES⁷¹, 1997; GONÇALVES et al.⁷², 1999; PASHLEY et al.¹³³, 2000; REIS et al.¹⁵⁵, 2001; CARVALHO et al.³⁵, 2003; SAKOOLNAMARKA et al.¹⁶⁶, 2003; ANIDO⁶, 2005).

No entanto, a formação da camada híbrida de adesão, que consiste na infiltração dos monômeros adesivos no interior da rede de fibras colágenas resultante da desmineralização ácida e subsequente polimerização, está diretamente relacionada ao tratamento da superfície do substrato. O condicionamento ácido da dentina produz profundas alterações na composição química e nas propriedades físicas de sua matriz e estas podem influenciar a qualidade da união dentina-resina, bem como sua resistência e, conseqüentemente sua durabilidade (PERDIGÃO et al.¹⁴², 1996; GONÇALVES et al.⁷², 1999; PASHLEY et al.¹³³, 2000; ANIDO⁶, 2005).

Diferentes estratégias adesivas podem hoje produzir a hibridização. Existem sistemas em que o *primer* e o adesivo são aplicados

após a remoção total da *smear layer* e desmineralização da superfície da dentina pelo condicionamento com ácido fosfórico. São conhecidos como sistemas adesivos convencionais e podem envolver dois ou três passos para sua aplicação, conforme a apresentação pelo fabricante, com *primer* e adesivo em frasco único ou em frascos separados, respectivamente. Existem ainda os sistemas adesivos autocondicionantes, onde o *primer* desempenha as funções do condicionador e do *primer* propriamente dito, aplicado separadamente ou em conjunto com o adesivo (GONÇALVES et al.⁷², 1999; TAY et al.¹⁹⁷, 2000; REIS et al.¹⁵⁵, 2001; CARVALHO et al.³⁵, 2003; RAUSCHER¹⁵³, 2003; SAKOOLNAMARKA et al.¹⁶⁶, 2003; ANIDO⁶, 2005).

Os sistemas convencionais apresentam como ponto crítico o controle da umidade do substrato para a união à dentina. O ácido é removido por lavagem e o excesso de água é removido secando-se de forma que não haja desidratação da dentina, o que resultaria no colapso das fibras colágenas, comprometendo a penetração do sistema adesivo. Por outro lado, o excesso de umidade diluiria inadequadamente os monômeros, também comprometendo a adesão. Tudo isso somado à subjetividade técnica e aos conceitos de umidade, lavagem, secagem, quantidade de produto depositada, forma de aplicação, tempo de espera e características de polimerização, dentre outros (KANCA III⁸⁷, 1992; PASHLEY et al.¹³², 1993; YOSHIYAMA et al.²³⁷, 1995; GWINNETT et al.⁷⁶, 1996; TAY et al.¹⁹¹, 1996; TAY et al.¹⁹³, 1998; RAUSCHER¹⁵³, 2003; REIS et al.¹⁵⁵, 2001; ANIDO⁶, 2005).

Frente à necessidade de simplificação da técnica de aplicação, foram realizadas modificações na composição dos sistemas adesivos, tornando-os altamente hidrofílicos. Desta forma esses materiais tornaram-se compatíveis com um substrato úmido, mas, ao mesmo tempo, essas modificações transformaram-se em fator limitante de sua durabilidade, pois tornaram-nos altamente permeáveis à umidade do

próprio substrato e do meio bucal (ARMSTRONG et al.⁷, 2000; TAY & PASHLEY¹⁸⁹, 2001; CARVALHO et al.^{35,36}, 2003 e 2005).

Os sistemas adesivos autocondicionantes apresentam uma técnica simplificada e menor dificuldade para o controle da umidade por eliminar a etapa de lavagem, já que o condicionamento é realizado simultaneamente à aplicação do *primer*. Outra possível vantagem desses sistemas pelo mesmo princípio é a eliminação da zona de fragilidade, razão da diferença entre profundidade de desmineralização e penetração real dos monômeros. Esta região é susceptível à degradação ao longo do tempo, pois permite a existência de fibras colágenas desprotegidas e não envoltas por adesivo polimerizado, refletindo-se em porosidades sujeitas à infiltração de fluidos e bactérias (SANO et al.¹⁶⁷, 1994; TITLEY et al.²⁰², 1994; VAN MEERBEEK et al.²¹⁹, 1994; PASHLEY & CARVALHO¹²⁸, 1997; GONÇALVES et al.⁷², 1999; REIS et al.¹⁵⁵, 2001; CARRILHO et al.³⁰, 2004; CARVALHO et al.³⁶, 2005).

A evolução dos sistemas adesivos requer a solução para a zona de fragilidade e conseqüente nanoinfiltração nos sistemas adesivos convencionais, e da instabilidade estrutural pós-polimerização nos sistemas autocondicionantes, mas parece termos chegado a um limite dentro da técnica em termos de resistência adesiva e no entanto, a longo prazo, a adesão, principalmente à dentina, continua sofrendo degradação e possibilitando a ocorrência de falhas (SANO et al.¹⁶⁷, 1994; TITLEY et al.²⁰¹, 1994; VAN MEERBEEK et al.²²⁰, 1994; PASHLEY & CARVALHO¹²⁸, 1997; GONÇALVES et al.⁷², 1999; REIS et al.¹⁵⁵, 2001; CARRILHO et al.³⁰, 1994; CARVALHO et al.³⁶, 2005, ANIDO⁶, 2005).

Como melhorar a qualidade da hibridização a longo prazo? Não será a hibridização a resolução definitiva para igualarmos os resultados longitudinais entre esmalte e dentina? Será essa igualdade algo irreal em vista das gigantescas diferenças morfológicas e estruturais entre os tecidos?

Estas e muitas outras perguntas garantem o dinamismo das pesquisas e estimulam os pensadores pelo mundo Odontológico a buscarem soluções.

Assim, procurando respostas, deparei-me com uma nova possibilidade para a estabilização da adesão: a tecnologia Grander.

Johan Grander é um físico pesquisador austríaco, atuante, que desenvolveu um método de revitalização da água, por meio de uma reestruturação física espacial de suas moléculas. Essa reestruturação possibilita, segundo ele, que esse líquido torne-se mais equilibrado, melhorando suas propriedades de veículo, provavelmente pela redução da sua tensão superficial.

A tecnologia Grander vem sendo utilizada na Europa já a 15 anos, com excelentes resultados no que se refere ao equilíbrio da água. A água revitalizada pode ser armazenada, sem adição de qualquer estabilizante ou química, por vários anos, sem que haja qualquer observação de crescimento microbiológico desordenado que inviabilize seu consumo. Relatos de estudos mostram a redução da necessidade de cloro quando o equipamento é instalado em piscinas, com equilíbrio do pH; mostram a redução da emissão de monóxido de carbono quando o equipamento toma contato com combustíveis em máquinas e automóveis; despoluição de lagos; reaproveitamento da água sem adição de produtos químicos em torres industriais de resfriamento (experimento este que vem sendo realizado em indústrias do Vale do Paraíba como Johnson & Johnson, Latapack Ball e Nestlé); na produção de alimentos orgânicos; na produção de flores e busca de espécies mais resistentes às pragas, dentre outros.

Extrapolando o processo de revitalização da água para o nosso ideal em termos de adesividade, poderíamos modificar um sistema adesivo, também líquido, com solvente aquoso, a fim de proporcionarmos

* Disponível em: <http://www.grander.com/> Acesso em maio de 2004

** Disponível em: [http://www.tecnologia-agua.com.br.](http://www.tecnologia-agua.com.br/) Acesso em maio de 2005

a redução da tensão superficial, aumentando sua capacidade de molhamento pela redução do ângulo de contato, garantindo maior difusibilidade e, talvez, estabilidade molecular, desejo de longevidade restauradora.

Por ser uma tecnologia nova, jamais utilizada em pesquisas Odontológicas, não sabemos se a interferência do método Grander será positiva e se a redução da tensão superficial e ângulo de contato, trarão, realmente, efeitos benéficos sobre as propriedades adesivas e características de difusibilidade e hibridização. Mas talvez, estejamos abrindo um novo caminho para futuras pesquisas em prol de resultados melhores, ou pelo menos, mais estáveis de adesão.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Em vista da extensa literatura consultada, o que demonstra a relevância do tema para a Odontologia moderna, optou-se pela realização de uma revisão histórica por décadas, ressaltando dentro de cada uma delas, os tópicos de maior interesse para as pesquisas da época, diretamente relacionadas ao trabalho em questão.

2.1 Década de 50: o impulso inicial

Apesar de algumas observações prévias sobre a penetração de substâncias na intimidade dos tecidos dentais, o impulso inicial para a era adesiva na Odontologia, foi dado por Buonocore²⁴, em 1955. O autor apresentou um método simples para aumentar a adesão da resina acrílica à superfície de esmalte. As superfícies vestibulares de incisivos superiores e inferiores e, ocasionalmente, de pré-molares foram utilizadas. Nas superfícies de esmalte aplicava-se um reagente fosfomolibdato diluído a 50% contendo tungstato de sódio em conjunto com uma solução de ácido oxálico a 10%. Era esperado que a porção ácida do reagente pudesse retirar camadas superficiais do esmalte, desta forma o tungstato iria unir-se à porção orgânica do esmalte. Outro tratamento foi realizado com a solução de ácido fosfórico a 85%, com a idéia de que um processo de descalcificação no esmalte pudesse remover sua estrutura superficial, produzindo uma superfície mais reativa. Foi realizada uma comparação quantitativa da adesão através do teste periódico da resistência à remoção, com o esforço

exercido pelo polegar, de gotas de resina acrílica colocadas sobre as superfícies tratadas e não tratadas de esmalte e dentina. Foi analisada também a influência da armazenagem em água, antes e após a fixação da resina acrílica. O autor observou que a adesão de discos de resina acrílica à superfície do esmalte era maior quando este tecido dental era condicionado com ácido fosfórico a 85%, por 30 segundos, quando comparado às amostras que não recebiam nenhum tratamento com ácido antes da colocação da resina acrílica. O autor explicou que o fenômeno ocorreu em razão do grande aumento da área superficial devido à ação do ácido, além do aumento da capacidade de umedecimento da superfície, possibilitando contato íntimo da resina acrílica com o esmalte.

Ainda em 1955, Rose et al.¹⁶³, verificando que as dificuldades clínicas dos materiais restauradores acrílicos ocorriam devido à falta de união entre material e estrutura dental, realizaram testes *in vitro* para melhor descrever os materiais adesivos. Utilizaram dentes humanos extraídos, desgastados e adaptados a um aparelho para teste de tração. As superfícies foram tratadas com um agente de limpeza tecidual, esfregadas com álcool a 95% e assim mantidas até sua secagem. Em seguida, foram umedecidas com uma gota de monômero ou líquido do material que estava sendo testado. Uma pasta fluida foi colocada entre as duas superfícies a serem aderidas e um peso de dez libras foi usado para manter juntos os espécimes durante a presa do material; o excesso do material era removido e aguardava-se 15min, após os quais, o conjunto era imerso em água por mais cinco minutos. Foram realizados mais de cinco mil testes simples e os autores concluíram que poucos materiais se mantiveram aderidos à estrutura dental após o armazenamento em água. Encontraram que partículas finamente divididas, como óxido de alumínio e carbonato de cálcio, têm tendência a aumentar a adesão entre polímeros talvez por melhorar a capacidade de umedecimento e adaptação do material ao dente. Os

melhores valores de adesão observados durante os testes foram obtidos com a combinação de um material à base de vinil acetato modificado, contendo grupos ácidos com polimetilmetacrilato e partículas de óxido de alumínio. Após imersão em água por uma semana, este material mantinha suas características adesivas. Para os autores, estes resultados indicam que os materiais adesivos para aplicação dental não devem conter grupos sensíveis à água.

Em 1956, Buonocore et al.²⁶, relataram propriedades de uma resina capaz de unir-se à superfície da dentina humana. Foram utilizados dentes humanos incluídos em resina acrílica e desgastados até a obtenção de uma área plana sobre a qual colocaram uma folha de alumínio, para delimitar a área a ser avaliada. Esta área foi coberta por uma camada de resina com aproximadamente 1,0 a 1,9mm de espessura e aguardada sua polimerização. A resistência de união da resina foi duplicada com o ataque ácido antes da aplicação do adesivo resinoso. Após a imersão em água esta união mostrou boa resistência. Os valores de união foram de 28 Kg/cm², inicialmente, e após imersão em água por três meses reduziram-se para 15 Kg/cm² nas superfícies sem tratamento. A força de união para superfícies tratadas com ácido clorídrico a 7%, inicialmente, foi de 53 Kg/cm². Após imersão em água por cinco meses houve uma diminuição para 28 Kg/cm². Os autores sugeriram que a união ocorria em decorrência da combinação química entre componentes da resina adesiva e a matéria orgânica da dentina.

Em 1958, Buonocore & Quigley²⁵, pesquisaram através de processos histológicos a área de união entre adesivo e estruturas dentais. Para este estudo, utilizaram dentes humanos cortados com um disco de carborundum e polidos com discos de carbetto de silício, expondo uma superfície axial plana e lisa. As amostras foram divididas em três grupos (1, 2, 3) e subdivididos em A (controle) e B (experimental). O grupo 1 não sofreu

tratamento superficial; o grupo 2 foi tratado com ácido clorídrico 7% por um minuto; e o grupo 3 foi completamente descalcificado. Os autores verificaram que a aplicação do material adesivo sobre a dentina tratada com ácido determinou um aumento na resistência de união e sugeriram que a união era decorrente da penetração do material adesivo na dentina, combinação química entre material e substâncias orgânicas, ou ambas.

2.2 Década de 60: o reconhecimento e os primeiros avanços.

Em 1962, Bowen¹⁶, relatou os estudos desenvolvidos no National Bureau of Standards, a respeito de substâncias adesivas para uso odontológico. As pesquisas analisaram um comonômero ativador de superfície (*N*-fenilglicina e glicidil metacrilato) que, aplicado à superfície dentinária, poderia deslocar água da superfície e também copolimerizar-se com a resina, melhorando a adesão das resinas restauradoras ao dente. De acordo com o autor, o material estudado apresentou valores médios de adesão tão altos quanto 54,8Kg/cm², após imersão em água por alguns dias. O grupo controle em que não foi aplicado o ativador de superfície, apresentou valores médios de 0,7Kg/cm².

Em 1965, Bowen¹⁷ analisou, através da realização de um trabalho *in vitro*, se a adesão à dentina poderia ser aumentada em função do tratamento superficial e da aplicação de um agente ativador de superfície. O autor empregou o comonômero ativador de superfície *N*-fenilglicina e glicidil metacrilato (NPG-GMA) para aumentar a adesão à dentina, associado ao tratamento da dentina com NaOH (hidróxido de sódio) a 0,01N (pH=12) por 1min. Os valores obtidos com o pré-tratamento foram significativamente maiores: 66,8Kg/cm² com o tratamento com NaOH e 57Kg/cm² após o

emprego de HCl a 0,01N. Segundo o autor, o aumento na resistência proporcionado pelo ácido clorídrico pode ser esclarecido devido a sua habilidade em dissolver uma camada inorgânica superficial da dentina, reduzindo-lhe as falhas. O tratamento com NaOH teria removido a fase orgânica da dentina, gerada pela ação abrasiva dos instrumentos cortantes rotatórios que se comportavam como uma barreira para a adesão.

Bowen, em 1965¹⁸, realizou um estudo *in vitro* para verificar a melhora na resistência de união de materiais restauradores sobre esmalte, dentina e fluorapatita usando o comonômero ativador de superfície NPG-GMA. Os substratos foram dentina e esmalte humano e fluorapatita na forma de cristais, por não conter parte orgânica e ser semelhante a hidroxiapatita do esmalte e dentina. As superfícies de dentina foram obtidas da superfície oclusal de molares e o esmalte foi preparado da vestibular de dentes anteriores. Os resultados deste estudo mostraram que uma concentração de 1,5 a 10% do NPG-GMA em etanol absoluto pode ser considerada como ótima. O tratamento das superfícies mostrou que a utilização de uma solução de EDTA a 10% neutralizado com hidróxido de cálcio, resultou na melhora da resistência de união à superfície de dentina (77,4Kg/cm²), do esmalte (54Kg/cm²) e da fluorapatita (77,4Kg/cm²). Sem o tratamento, as superfícies apresentaram os valores de resistência zero, 16,9Kg/cm² e 64Kg/cm², respectivamente. O autor também observou que uma formulação de resina contendo partículas, para reforço de sílica fundida tratadas com vinil silano, melhorou os resultados de resistência de união.

Ainda em 1965, Bowen¹⁹, analisou os efeitos do NPG-GMA na adesão às substâncias não mineralizadas, tais como colágeno e queratina. O autor utilizou teste de resistência adesiva e o colágeno utilizado foi obtido de tendões de bovinos. Porções de aproximadamente 2,5cm de comprimento foram cortadas e montadas em um dispositivo para os ensaios de tração. A superfície exposta do tendão de colágeno foi polida e mantida

em água até a realização dos testes. A queratina foi obtida do casco de bovinos, serrado em pequenos pedaços e montados no mesmo dispositivo para ensaios de tração. Os resultados demonstraram que o NPG-GMA não melhorou a união da resina às superfícies analisadas. O autor concluiu que o mecanismo pelo qual o agente adesivo utilizado melhora a união, entre resina e substratos dentais, pode ser consequência de sua interação com a fase mineral da estrutura dental.

Eick⁵⁰ et al. (1970) utilizaram uma microsonda acoplada a um MEV para examinar a superfície dentinária quando cortada com instrumento de diamante e com uma broca *carbide*. O objetivo deste estudo foi determinar as diferenças topográficas, assim como identificar quimicamente os fragmentos nas superfícies dos dentes, além de estabelecer as diferenças entre as superfícies quando o mesmo instrumento de corte foi usado com e sem jato de água. Dentes premolares humanos, extraídos por motivos ortodônticos, foram cortados *in vitro* e examinados. Quando cortada com instrumento diamantado a superfície dentária apresentou-se mais áspera do que quando foi cortada com broca *carbide*. Partículas de tamanhos variando de 0,5µm a 15µm foram observadas em ambas as superfícies e a quantidade de fragmentos foi similar, sendo as partículas grandes e pequenas identificadas como estruturas do dente devido à presença de cálcio e fósforo. As superfícies que foram cortadas a seco apresentaram uma camada mais definida de *smear layer* do que aquelas seccionadas sob condições de umidade. Em todos os casos foi observada uma camada de *smear layer*, não sendo encontrados fragmentos dos instrumentos de corte. Os autores observam que o uso da microscopia eletrônica de varredura (MEV) permite a observação da superfície desgastada do dente e a identificação química dos debris remanescentes do desgaste.

Retief et al.¹⁵⁸ (1970), observou que a incapacidade dos materiais restauradores em promover uma adesão efetiva à estrutura dental, representam a principal causa de insucessos das restaurações. Esta falta de adesão determina, segundo o autor, a formação de micro-espacos entre o dente e o material restaurador, propiciando a ocorrência de um fenômeno conhecido como infiltração marginal ou microinfiltração.

2.3 Década de 70: substratos dentários e as dificuldades de adesão.

A M.E.V. começa a ser utilizada como um recurso fundamental de observação das características dos substratos dentais, auxiliando no estabelecimento das possíveis causas dos sucessos e insucessos dos procedimentos adesivos, bem como novas metodologias para testes de adesão.

Garberoglio e Brannstromm⁶⁷(1976), examinaram em M.E.V. a estrutura da dentina a variadas distâncias da polpa, que foram classificadas como superficial, média e profunda. Os autores procuraram determinar o número e o diâmetro dos túbulos dentinários, conforme estas três profundidades pré-determinadas. Concluíram que em média, a dentina superficial apresenta um número de 20.000 túbulos/mm², com cerca de 0,9µm de diâmetro; a dentina média, 29.000 túbulos/mm² com cerca de 1,2 µm de diâmetro; e a dentina profunda, 45.000 túbulos/mm² com 2,5 µm de diâmetro. Não houve variação estatisticamente significativa entre dentes jovens e velhos nas amostras analisadas. Os autores concluíram que o número e o diâmetro dos túbulos dentinários aumentam na medida em que se aproximam da polpa.

Nordenvall¹²³ (1978), atribuía os fenômenos de retenção e de

selamento marginal em dentina à presença de *tags* resinosos. Assim, realizou um estudo, *in vivo* e *in vitro*, para avaliar especificamente a influência do líquido intratubular na penetração resinosa, comparando diversos procedimentos com o objetivo de associar um tipo de tratamento ideal que aumentasse a formação de *tags*, por meio de observações em MEV. Variou-se também a colocação ou não do agente adesivo antes da resina restauradora (Enamel Bond e Concise Composite, respectivamente), todos precedidos pelo condicionamento ácido seguido de sucessivos tempos de secagem dentinária com jato de ar (10s, 60s e 120s). Após o término das restaurações, os dentes foram fixados em formalina neutra a 10% tamponada e descalcificados por 24h em ácido clorídrico a 10%. Em seguida, as restaurações foram facilmente removidas do tecido dentinário amolecido, lavadas em água, montadas e preparadas para análise em MEV. O autor observou a influência positiva da presença de líquido tubular na penetração resinosa, já que somente em 120s de desidratação dentinária, sem pressão intrapulpar, é que se começou ocorrer maior irregularidade na formação de *tags*. Nos espécimes em que a resina composta foi inserida isoladamente, as imagens dos prolongamentos apresentaram maior extensão, mas não diferiram na densidade. A densidade dos *tags* foi considerada baixa para os procedimentos realizados neste experimento, sendo sugerido pelo autor a realização de estudos adicionais na tentativa de se obter uma técnica que melhore a impregnação da resina na dentina.

Fusayama et al.⁶⁴ (1979), introduziram uma nova metodologia para avaliar a resistência adesiva. Um novo sistema adesivo foi empregado, *Clearfil Bond System F (Kuraray)*, sobre o esmalte e dentina hígida e cariada, submetidos ou não ao condicionamento ácido. A comparação foi realizada com os sistemas *Adaptic Total System (Johnson & Johnson)*, *Concise Enamel Bond (3M)* e *Palakan (Kulzer)*. As superfícies vestibulares de incisivos e oclusais de molares foram desgastadas,

condicionadas ou não, recebendo em seguida os sistemas adesivos e respectivas resinas compostas, aplicadas por meio de uma matriz de 5mm de diâmetro, contendo uma alça que possibilitou a ligação com a máquina de tração. Concluíram: a) que o novo sistema adesivo foi superior aos demais e ofereceu maior resistência adesiva; b) que o condicionamento ácido de esmalte e dentina aumentou significativamente a resistência adesiva em ambos os tecidos; c) que o sistema mostrou forte adesão a todos os substratos.

Este trabalho de Fusayama é considerado pioneiro pela grande maioria autores com relação à adesão à dentina, impulsionando uma nova era de pesquisas.

2.4 Década de 80: a busca pela adesão à dentina

Observaremos nesse período grande preocupação dos pesquisadores em caracterizar o substrato dentinário morfológicamente e compará-lo ao substrato de outros mamíferos, na busca de um substituto do dente humano para pesquisas *in vitro*. Além de estudos morfológicos veremos também outros trabalhos que relacionam a morfologia do substrato aos resultados de resistência adesiva.

Em 1981, Della Serra & Ferreira⁴², observando a morfologia geral e comparando os dentes dos vertebrados, dividiram os animais em dois grandes grupos: homodontes (dentes com a mesma forma, variando apenas no volume, sem função mastigatória) e heterodontes (dentes que apresentam morfologia diversa e constituem grupos dentais de acordo com seu aspecto, função e situação). Com relação à dentina humana os autores a

descrevem, sob o ponto de vista químico, sendo formada de 65 a 70% de substâncias minerais, 25% de substâncias orgânicas e 10% de água. A parte orgânica é constituída de uma esclero-proteína, do grupo dos colágenos, o que confere à dentina elasticidade e maior resistência. De acordo com sua morfologia é formada por túbulos dentinários, com prolongamentos de Tomes que descrevem uma trajetória levemente ondulada e por uma matriz de fibras colágenas incluídas na substância fundamental calcificada, cujas fibras orientam-se perpendicularmente aos túbulos dentinários.

Nakabayashi et al.¹¹⁶ (1982), avaliaram a efetividade do 4-META na adesão ao esmalte e dentina condicionados por ácidos. Foram utilizados neste estudo dentes humanos e bovinos, preparados com lixas de granulação 800 para criar uma superfície onde seria realizada a adesão. Para delimitar e padronizar a área de adesão, os autores empregaram uma fita adesiva com uma perfuração de 5mm de diâmetro aplicada à superfície. As amostras foram divididas em dois grupos que foram condicionados com ácido cítrico a 1% e cloreto férrico a 1% (1:1), ou com ácido cítrico a 10% e cloreto férrico a 3% (10:3). As superfícies foram lavadas, receberam o sistema 4-META MMA/TBB-O e foram armazenadas em água a 37°C por 24h. Foram, então, realizados testes de resistência à tração. Para a análise da estabilidade da adesão foi realizada a termociclagem dos espécimes. Segundo os autores, os resultados mostraram a efetividade da solução 10:3 para promoção de adesão em esmalte e dentina, enquanto a solução 1:1 foi eficiente apenas em dentina. O monômero 4-META polimerizado foi observado nas superfícies condicionadas, nos túbulos, nas dentinas peri e intertubular o que promoveu um aumento significativo na resistência adesiva. Com estes dados, os autores concluíram que a penetração e posterior polimerização de monômeros com características hidrofílicas e hidrofóbicas no interior do substrato dental reforça a estrutura dental, representando um novo conceito em adesão aos tecidos dentais.

Estudando dentes dos animais domésticos, com base na histologia, Stinson & Calhoun¹⁷⁶ (1982) observaram dois tipos de dentes: braquidontes (dentes curtos que deixam de crescer após o término da erupção, possuem colo, coroa e raiz definidos e abaixo do esmalte e cemento existe uma camada de dentina espessa; incluem todos os dentes dos carnívoros e do homem, os dentes incisivos dos ruminantes e os dentes do suíno, exceto os caninos destes últimos) e hipsodontes (dentes longos, de crescimento contínuo durante uma fase adulta do animal, não possuem coroa ou colo, o cemento cobre externamente todo o dente, abaixo do qual existe uma camada de esmalte em todo o comprimento do dente, sobre uma camada espessa de dentina; incluem todos os dentes do eqüino, dentes molares dos ruminantes e caninos do porco).

Para achar um substituto para dentes humanos em testes de adesão, Nakamichi et al.¹²² (1983), compararam a força adesiva em dentes bovinos com dentes humanos, usando três cimentos de poliacrilato, um cimento de ionômero de vidro, um cimento de fosfato de zinco e duas resinas compostas na dentina profunda e superficial. O esmalte dos dentes humanos foi preparado lixando-se as superfícies vestibulares de incisivos centrais superiores e a superfície oclusal de primeiros molares superiores. As superfícies vestibulares, em esmalte e dentina de dentes inferiores de bovinos, foram preparadas da mesma forma com espessura de dentina residual de 0,2 – 0,9mm para camada profunda e 1,4 – 2,1mm de espessura de dentina residual para camada superficial. Os espécimes foram comparados para investigar a influência da profundidade e tempo de armazenamento na adesão. Foram realizadas cavidades na face vestibular dos dentes, em seguida, a resina ou mistura de cimento foi inserida na cavidade, sem pressão com uma seringa, e um gancho foi inserido na superfície da resina para a prova de ruptura por tração. Os espécimes foram armazenados primeiro em estufa a 37°C por 10min e então, em água a 37°C

por uma semana até a realização do teste de tração. A morfologia do substrato de esmalte e dentina dos dentes, humano e bovino, foi estudada por MEV. Os autores concluíram que a adesão para esmalte e a camada superficial de dentina não mostraram nenhuma diferença estatisticamente significativa entre o dente humano e bovino, embora os valores médios sempre fossem ligeiramente menores para dentes bovinos; a adesão para dentina bovina diminuiu consideravelmente com a profundidade de dentina; os dentes que ficaram mais tempo estocados apresentaram valores de adesão ligeiramente mais altos; e que os dentes bovinos foram úteis no teste de adesão como substitutos para dentes humanos usando esmalte e camada superficial de dentina.

Em 1984, Gwinnett⁷⁴ ressaltou a importância do MEV na determinação de características morfológicas da camada de *smear layer* resultante da variação de instrumentos empregados no preparo cavitário. O autor observou que brocas de aço e de carboneto de tungstênio produzem corte uniforme e padronizado, que instrumentos com perda de corte produzem maior calor e intensificam a formação de *smear layer*, e que diminuição ou ausência de refrigeração resulta em *smear layer* mais espessa. Segundo ele a *smear layer* não está firmemente atada ou em continuidade com o substrato dentinário. O autor concluiu que morfologia, espessura e composição da *smear layer* varia com o método de corte da superfície de dentina.

Ainda em 1984, durante um simpósio sobre a importância do *smear layer* e observando suas características morfológicas, Pashley¹²⁷ concluiu que tal camada ocupa uma posição estratégica na Odontologia Restauradora, sendo que ele se encontra na interface da maioria dos materiais com a matriz dentinária. Segundo o autor, a *smear layer* é uma camada muito fina e solúvel em ácido, não aparente em microscopia óptica comum, fator pelo qual muitas vezes foi negligenciada. Verificou que existem

duas situações distintas em relação a esta estrutura, a ação prejudicial da manutenção da camada de *smear layer* no selamento marginal e seu benefício com relação à proteção do tecido pulpar com a presença de *smear plug* vedando os canalículos dentinários. A partir destes resultados o autor sugeriu que mais estudos fossem realizados para a manutenção de *smear plug* e remoção ou diminuição da camada de *smear layer* na superfície de adesão.

Em 1986, Mitchem & Gronas¹⁰⁷ realizaram um estudo para: a) determinar a influência na resistência adesiva, das mudanças na dentina após a exodontia, em períodos de uma hora até 26 dias após a exodontia; b) qualificar os adesivos; c) analisar o efeito da espessura de dentina remanescente em testes de adesão. Foram utilizados molares íntegros, montados em anéis com resina acrílica autopolimerizável, as faces vestibulares foram desgastadas e polidas com lixa de papel 600 e lavadas suavemente com hipoclorito de sódio. O sistema adesivo Scotchbond foi aplicado em duas camadas, secas por dez segundos e, um molde de teflon partido com um furo de 3,175mm de diâmetro foi usado para inserir a resina composta. Um segundo grupo de dentes, também íntegros, extraídos e preparados para o teste de cisalhamento, foi empregado para avaliar os efeitos da profundidade de dentina (2,0; 1,5; e 0,75mm) sobre a resistência adesiva. Os autores puderam concluir, com base nos resultados, que não houve diferença significante da resistência adesiva em função do tempo decorrido após a exodontia, mas a resistência adesiva foi significativamente reduzida à medida que se diminuiu a espessura de remanescente e se aproximou da polpa.

Retief et al.¹⁵⁹ (1986), realizaram um estudo para avaliar a resistência adesiva aos testes de tração, de quatro agentes adesivos sob diferentes tratamentos de dentina. Os sistemas analisados, bem como as formas de tratamento superficial dos espécimes foram: a) *Scotchbond (3M*

Dental Products) em dentina não tratada; b) *Scotchbond* em dentina condicionada por ácido fosfórico; c) *Scotchbond* em dentina condicionada por ácido cítrico associado à resina P10 (*3M Dental Products*); d) *Dentin Bonding Agent* associado à resina *Adaptic* (*Johnson & Johnson Dental Products Company*); e) *Creation Bondin System* em dentina tratada com *Cavity Cleanser/Spectrabond* (*Dent.-Mat.*); f) *Dentin-Adhesit System* (*Vivadent Schaan, Liechtenstein*) em dentina tratada com *Vivadent Conditioner/Isopast*. Os autores utilizaram dentes incisivos humanos, extraídos, livres de cárie, estocados em álcool etílico a 70%. Para a exposição da dentina da face vestibular, foram utilizadas lixas até a granulação 600. Em seguida, foram executados o tratamento adesivo e aplicação de resina composta. Após a realização dos testes, os maiores valores foram encontrados com o *Dentin Bonding Agent*, sem tratamento prévio da dentina (3,01MPa). Os autores observaram que a resistência de união foi muito baixa e variou muito e que havia a necessidade da padronização dos testes *in vitro*.

Em 1987, Dyce et al.⁴⁹ relataram que a dentição dos mamíferos possui certas características que individualmente, ou em conjunto, são diagnósticas da classe. Que ao contrário da maioria dos Vertebrados, a dentição dos mamíferos tem desenvolvimento diferente nas diversas regiões da boca para desempenhar funções especiais, característica denominada heterodontia, que permite identificar os grupos: incisivo, canino, pré-molar e molar. A formação do esmalte dental inicia-se sobre o centro da coroa, em seguida espalha-se, à medida que a camada adquire espessura, os ameloblastos retrocedem em direção centrífuga até encontrar e fundir-se com o epitélio dental externo. Ao mesmo tempo, células da papila mesodérmica organizam-se em uma lâmina oposta aos ameloblastos, produzem dentina e são denominados, odontoblastos. A dentina forma a maior parte da estrutura do dente; conforme a dentina torna-se espessa os odontoblastos retiram-se em direção centrípeta, e permanecem como uma

camada contínua no revestimento superficial da polpa; possuem uma capacidade produtiva durante toda a vida com produção lenta e contínua de dentina secundária. A polpa é a porção diferenciada da papila original, menos resistente. Segundo os autores, nos bovinos, as características mais incomuns são a ausência de dentes incisivos e caninos na maxila, que são substituídos pela almofada dental, os caninos são assimilados aos incisivos na mandíbula e os primeiros premolares não se desenvolvem. Cada dente incisivo apresenta uma coroa espatulada larga, unida abruptamente a uma raiz estreita em forma de cavilha; na coroa, a superfície lingual é côncava e a labial é convexa e encontram-se em uma aresta que se torna mais alargada de acordo com o uso contínuo. Os bovinos possuem dentição decídua e permanente.

Fogel et al.⁶², (1988), realizaram um estudo com a finalidade de mensurar o efeito da distância da polpa na condutância hidráulica da dentina humana radicular; de determinar a influência da espessura de dentina na velocidade do fluxo do fluido; e relacionar a densidade e diâmetro dos túbulos com a condutância hidráulica da dentina radicular. Foram preparadas fatias de dentina de terceiros molares, recém-extraídos, não erupcionados, que foram colocados em um aparelho de corte para permitir a medição da quantidade e velocidade da filtração do fluido (condutância hidráulica). Foi realizado estudo ao MEV, para verificar o número e diâmetro dos túbulos dentinários. Os resultados indicaram que a condutância hidráulica da dentina radicular diminuiu com a distância da polpa e com o aumento de espessura de dentina. A densidade e diâmetro dos túbulos relacionaram-se com a mensuração da condutância hidráulica. Uma condutância relativamente baixa da dentina radicular produziu uma significativa barreira para a movimentação do fluido na estrutura radicular. De acordo com os autores, a movimentação do fluido é inversamente proporcional à espessura de dentina.

Em 1988, Retief et al.¹⁶⁰, realizaram uma avaliação da evolução dos agentes adesivos correlacionando aspectos químicos com o selamento marginal e a resistência adesiva. De acordo com os autores, a primeira geração de adesivos, que incluía o ácido glicerofosfórico dimetacrilato, cianoacrilatos, poliuretanos e NPG-GMA, apresentava baixos valores de resistência adesiva (2 a 3MPa), propiciando também falhas no vedamento marginal. A segunda geração de adesivos, que incluía o *Scotchbond (3M)*, *Dentin Bonding Agent (J&J)*, *Creation Bonding Agent (Den-Mat)* e *Dentin-Adhesit (Vivadent)*, apresentava maiores valores de resistência adesiva (4,4 a 6,2MPa), porém ainda insuficientes para a retenção das restaurações sem retenções adicionais, oferecendo também a possibilidade para a ocorrência de microinfiltração. Já a terceira geração de adesivos, que incluía *Gluma* (glutaraldeído-hidroxietil metacrilato), o NTG-GMA (N-p-toloil-glicina e glicidil metacrilato), o 4-META, o MMA-TBB (metilmetacrilato e tri-n-butil burano) e o PMMA (polimetil metacrilato), apresentava valores de resistência adesiva bem mais elevados do que as gerações anteriores, conseqüentemente diminuindo a microinfiltração embora necessitasse de aprimoramentos em seu desempenho clínico.

Saunders¹⁷⁰ (1988), comparou a resistência adesiva de quatro sistemas adesivos à dentina humana e bovina. As superfícies de dentina vestibular foram expostas, os dentes foram incluídos em resina autopolimerizável e divididos em quatro grupos, que receberam os sistemas adesivos *Scotchbond (3M Dental Products)*, *Topaz (Davis)*, *Gluma (Bayer Dental)* e *3M Experimental*. Após a aplicação do adesivo foi aplicada a resina composta *Prisma-Fil (Dentisply)* nos espécimes, que então, foram submetidos a termociclagem por 24h, em temperaturas de 5°C e 37°C, por 2.400 ciclos, aproximadamente. O autor observou diferença significativa entre os sistemas adesivos em cada substrato, porém, não observou diferença significativa entre os dois tipos de substrato. O autor concluiu que, a dentina

bovina pode ser considerada como substituta da dentina humana para estudos em laboratório.

Tao & Pashley¹⁸⁶ (1988), analisaram a resistência de união do adesivo Scotchbond à superfície de dentina em três profundidades, diferentes posições e pré-tratamentos. Foram utilizados terceiros molares humanos, armazenados em solução salina, contendo azida sódica, a 4°C. Duas fatias de dentina foram obtidas, a primeira próxima à junção amelo-dentinária (JAD) como camada superficial e a segunda foi realizada paralela à primeira, próxima à junção esmalte-cimento (JAC), removendo a raiz. As fatias de dentina foram criadas em alta-rotação com uma broca de tungstênio-carbide. A camada de *smear layer* foi produzida de duas formas: baixa-rotação e broca ou com lixas de papel, em uma politriz, umedecida por água. A adesão foi realizada em duas diferentes posições: no centro da coroa (central) e próximo à polpa (pulpar), nas imediações do corno pulpar. Cinco diferentes tratamentos de superfície foram realizados: a) água por 1min – não tratamento; b) ultra-som por 1h; c) *Tubulicid* – EDTA 2% em pH 7,1 esfregado com bola de algodão; d) condicionamento com ácido cítrico 6% por 1min; e) condicionamento com ácido fosfórico 35% por 15s. Após o tratamento de superfície, foram aplicados o sistema adesivo *Scotchbond* (3M Dental Products) e a resina composta *Universal Silux* (3M Dental Products). Foram realizados testes de resistência ao cisalhamento e as superfícies foram analisadas ao MEV. Os autores concluíram que nas amostras com *smear layer* criada com lixa de papel houve maior resistência adesiva do que nas amostras com *smear layer* produzida por broca. Os tratamentos com ultra-som, ácido cítrico, EDTA e ácido fosfórico, diminuíram a resistência adesiva. Com relação à posição, na central o ultrassom produziu uma grande redução na resistência adesiva, mas na pulpar a diferença não foi significativa; o EDTA produziu uma redução uniforme nas duas posições, com *smear layer* produzida por lixa de papel; ácido cítrico reduziu a resistência

adesiva uniformemente nas duas posições; e a maior sensibilidade da *smear layer* ao ácido fórfórico ocorreu na posição pulpar. Os autores concluíram que a resistência adesiva do *Scotchbond/Silux* à dentina, aparentemente, depende da *smear layer* sobre a superfície; quanto mais a *smear layer* for removida, menor é a resistência adesiva; que a menor resistência adesiva foi observada com o condicionamento com ácido fosfórico; o EDTA e o ultrassom produziram pequeno efeito, na análise ao MEV, na *smear layer* e na resistência adesiva; quando a *smear layer* recobriu a dentina, não existiram diferenças significativas da resistência adesiva nas diversas profundidades; após a remoção da *smear layer*, por condicionamento ácido, a resistência adesiva na dentina superficial foi significativamente maior do que na dentina profunda.

Em 1989, Bhaskar¹², afirmou que a dentina humana é um tecido vivo, contendo no interior de seus túbulos, prolongamentos dos odontoblastos, cujos corpos celulares estão ao longo da superfície pulpar no limite com a dentina. Os túbulos dentinários são mais separados nas camadas periféricas e mais agrupados próximo à polpa onde seu diâmetro é maior. Há mais túbulos por unidade de área na coroa do que na raiz. Na coroa, os túbulos descrevem uma trajetória suave semelhante a uma letra S, sendo que na raiz, esta curva é menos acentuada. Os túbulos dentinários são circundados por uma dentina denominada peritubular, mais mineralizada (aproximadamente 9%) do que a dentina intertubular. O autor descreveu a dentina como um tecido duro, que se forma pouco antes do esmalte e determina a forma da coroa, incluindo cúspides, bordas incisais, número e tamanho das raízes. A relação entre superfície externa e interna é de 5:1, ou seja, os túbulos são mais separados nas camadas mais periféricas com diâmetro de 1µm e mais agrupados junto à polpa com diâmetro de 3 a 4µm.

Os dentes bovinos são comumente empregados, em estudos

de adesivos dentais, como substitutos para a dentina humana. Sabe-se que a permeabilidade dentinária é um fator importante para os estudos de adesão e pouco se conhece sobre a permeabilidade da dentina bovina. Com este intuito, Tagami et al.¹⁸² (1989), realizaram um estudo empregando discos de dentes bovinos em diferentes profundidades. Foi removida uma fina fatia de esmalte vestibular para expor a dentina próxima a JAD e, outra secção, foi realizada na parede pulpar da dentina, tangenciando a câmara pulpar. Reduções seqüenciais de 0,2mm foram realizadas de vestibular em direção à pulpar e, da parede pulpar em direção à vestibular, determinando a permeabilidade dentinária em oito profundidades, nos dois extremos de dentina (superficial e profunda). A MEV revelou mais túbulos / área, em mm², da dentina profunda (30, 381 ± 4576) para a superficial (30, 381 ± 7269), quando o desgaste foi realizado em direção à face vestibular. O diâmetro dos túbulos também foi maior na dentina profunda (1,8 ± 0,3µm), do que na dentina superficial (1,2 ± 0,1µm). Os autores relataram que, a condutância hidráulica inclui variáveis como a presença de resistência intratubular, diferentes graus de tortuosidades nos túbulos, que são variáveis que interferem na permeabilidade. A permeabilidade foi estudada através da condutância hidráulica, que na superfície vestibular de incisivos bovinos, onde é realizada a maior parte dos testes de adesão, é em torno de seis a oito vezes menor do que na dentina coronária de terceiros molares humanos não-erupcionados.

Na tentativa de melhor simular *in vitro* as condições *in vivo*, Tao & Pashley¹⁸⁸ (1989), realizaram um estudo para examinar a influência da pressão pulpar (simulada) aplicada em vários intervalos de tempo, na resistência ao cisalhamento do *Scotchbond* (3M Dental Products) e *Gluma* (Bayer), associados à resina *Silux* (3M Dental Products), na presença ou ausência da *smear layer*. Molares não irrompidos extraídos foram estocados em solução salina isotônica com 0,2% de azida sódica, seguidos da remoção

da raiz, do esmalte oclusal e da polpa. Os adesivos foram aplicados com e sem remoção da *smear layer* e com e sem perfusão. Após a estocagem dos corpos-de-prova em tampão fosfato foram realizados os testes de cisalhamento. Os resultados mostraram que a perfusão dentinária reduz a força de adesão na ausência da *smear layer* e que a remoção da *smear layer* implica em aumento da umidade superficial e da perfusão de fluido, se a adesão não for perfeita.

Ainda em 1989, Tao & Pashley¹⁸⁷ realizaram um estudo para avaliar a correlação entre a permeabilidade dentinária e a resistência adesiva do conjunto sistema adesivo/resina (*Scotchbond/Silux – 3M Dental Products*). A permeabilidade foi analisada antes e depois da aplicação do sistema adesivo e da resina composta. Os agentes condicionadores utilizados foram o ácido fosfórico a 37%, ácido cítrico a 6%, EDTA e ultra-som. Os resultados mostraram que, na presença da *smear layer*, não houve correlação entre a permeabilidade dentinária e a resistência adesiva, mas, após a sua remoção, houve uma relação inversa entre os dois fatores estudados, ou seja, a resistência adesiva era menor quando a permeabilidade dentinária aumentava e vice-versa. Na presença da *smear layer*, a permeabilidade dentinária não apresentou diferença significativa antes e após a aplicação do sistema adesivo. No entanto, na sua ausência, a permeabilidade aumentou significativamente antes e após a aplicação do adesivo, indicando que os *tags* de resina não foram suficientes para reduzir a permeabilidade dentinária. Os autores ressaltam o risco da remoção da *smear layer* e, consequentemente, aumento da permeabilidade dentinária, no caso de falha da adesão, pois levaria a maior probabilidade de infiltração de produtos bacterianos em direção à polpa.

Uma refinada técnica para revelar a subsuperfície da interface adesiva foi introduzida por Inokoshi et al.⁷⁵ (1990), na qual um bombardeamento de íon argônio é realizado para promover a remoção

seletiva de átomos do substrato, distinguindo a camada híbrida, da camada de adesivo e da dentina intacta. Esta distinção é suficiente para que não haja a necessidade de se condicionar quimicamente a interface adesiva. Em conjunção com esta técnica, os autores descreveram a “técnica sanduíche” de preparação de espécimes, na qual foram utilizados dois discos de dentina unidos, variando no mesmo espécime, por exemplo, duas profundidades dentinárias. Também introduziram a utilização da camada de verniz para proteger a dentina do tratamento com o sistema adesivo testado, com o objetivo de possibilitar a comparação das dentinas tratadas e não-tratadas. A resistência dos componentes dos materiais existentes na interface adesiva frente ao condicionamento de íon argônio está relacionada à composição e estrutura destes materiais. Esta propriedade inerente ao uso do íon argônio possibilitou os estudos analíticos da uniformidade física da camada híbrida. Estes estudos mostraram uma resistência inconstante da camada híbrida ao condicionamento com íon-argônio, sugerindo que a interdifusão da resina na dentina pode ser estabelecida de forma não-uniforme.

Retief et al.¹⁶¹ (1990), realizaram um estudo com o objetivo de comparar a dentina humana com a bovina, para a possível utilização da última, nos testes laboratoriais de resistência e microinfiltração. Foram comparados molares humanos com incisivos bovinos, seguindo os procedimentos convencionais para os testes. Os autores obtiveram uma diferença significativa quanto à resistência adesiva do *Scotchbond2/Silux* (3M Dental Products) em dentina humana ($6,2 \pm 2,9\text{MPa}$) e bovina ($4,4 \pm 1,2\text{MPa}$). A microinfiltração foi significativamente menor para a dentina humana.

Para estabelecer a correlação existente entre permeabilidade dentinária, profundidade da dentina e a resistência de materiais adesivos, Tagami et al.¹⁸¹ (1990), empregaram dentes bovinos e realizaram testes de

resistência ao cisalhamento. A superfície vestibular dos dentes foi desgastada no terço cervical até a exposição da dentina, em várias profundidades. Foi realizada a simulação da pressão hidráulica pulpar e o fluxo do fluido dentinário, através da conexão de um aparelho na região radicular. Após a aplicação dos sistemas adesivos *Scotchbond (3M Dental Products)*, *Clearfil New Bond (Kuraray)* e *Superbond C&B (Sun Medical)*, as amostras foram submetidas ao teste de cisalhamento. Os autores observaram que à medida que a profundidade aumentava, principalmente após a remoção da *smear layer*, havia um aumento na permeabilidade e uma redução significativa da resistência adesiva para todos os materiais avaliados. Os maiores valores de resistência adesiva foram verificados com a utilização do *Superbond C&B*, em qualquer profundidade dentinária. Puderam os autores concluir que as variações na resistência adesiva, em função da permeabilidade dentinária, podem explicar a grande variação encontrada nos estudos de adesão à dentina.

2.5 Década de 90: o “boom” da adesão na Odontologia.

Esse período caracterizou o grande desenvolvimento dos materiais adesivos e o reconhecimento dos fatores de sucessos e insucessos das gerações anteriores e atuais.

Apesar de evidenciada em 1982, somente agora o conceito de hibridização dos tecidos dentais ganha expressão no contexto das pesquisas. A dentina e mais precisamente a camada híbrida ou zona de interdifusão são desbravadas morfológicamente pelas pesquisas, na busca do conhecimento e das soluções definitivas que levassem a um aumento da

longevidade das restaurações. Os sistemas adesivos são aprimorados e diversos mecanismos de ação sobre o tecido dentinário são investigados.

Em 1991, Eick et al.⁵¹, estudando a superfície dentinária e sua influência em adesão à dentina, propuseram três categorias de adesivos dentinários: na categoria I incluem-se adesivos com força de resistência ao cisalhamento com valores entre 5 e 7MPa; na categoria II incluem-se adesivos dentinários com forças de resistência ao cisalhamento com valores entre 8 e 14MPa; e na categoria III, incluem-se adesivos com força de resistência ao cisalhamento com valores até 20MPa. Na primeira parte deste estudo, os autores utilizaram MEV e microscopia eletrônica de transmissão (MET), através das fotomicrografias da *smear layer* e da interface de três adesivos da primeira geração: *Scotchbond (3M Dental Products)*, *Dentin Adhesit (Vivadent)* e *Gluma (Miles Inc.)*. As fotomicrografias mostraram que o umedecimento e penetração dos adesivos dentinários de primeira geração nos túbulos, não eram adequados para produzir forças de união altas. Foram realizados testes de resistência ao cisalhamento e os fracassos aconteceram na interface ou no adesivo.

Com o objetivo de investigar e avaliar os efeitos do armazenamento e termociclagem na resistência adesiva de adesivos dentinários, Carracho et al.²⁹ (1991), realizaram um estudo *in vitro*. Empregaram teste de resistência ao cisalhamento com três adesivos: *Mirage Bond (Chamelon Dental Products)*, *Scotchbond Dual Cure* e *Scotchbond 2 (3M Dental Products)*. Foram utilizados dentes humanos, cujo esmalte oclusal foi desgastado com pontas diamantadas para a exposição da superfície dentinária, uma *smear layer* uniforme foi conseguida através do desgaste com lixas d'água de granulação 320. Os sistemas adesivos foram aplicados nas amostras, seguidos da inserção da resina composta, com o auxílio de uma matriz padronizada. Metade das amostras foi armazenada em

solução salina a 37°C por 60 - 72h e a outra metade, por um mês. Estes dois grupos foram subdivididos em dois grupos, sendo que um foi submetido a termociclagem. Foi realizado o teste de cisalhamento em uma máquina *Instron Universal*, com velocidade de 0,5mm/min. Os resultados mostraram que a termociclagem reduziu significativamente a resistência adesiva do *Scotchbond Dual Cure* e *Scotchbond 2* e não alterou a resistência do *Mirage Bond*. O tempo de armazenamento não afetou a resistência adesiva do *Scotchbond Dual Cure* e do *Scotchbond 2* e aumentou a resistência do *Mirage Bond*. Com base nos dados, os autores concluíram que, os menores valores de resistência adesiva para o *Scotchbond 2* e *Dual Cure* após a termociclagem, provavelmente sejam decorrentes da solubilização da *smear layer*, não removida por estes sistemas. O aumento da resistência adesiva do *Mirage Bond* pelo tempo e pela termociclagem, deve-se a um melhor preparo da superfície dentinária e à absorção de água, que pode ter compensado a contração de polimerização.

Para comparar a resistência de união em dentina superficial, média e profunda, McGuckin et al.¹⁰¹ (1991), realizaram um trabalho *in vivo* com cães. A resistência de união, por ensaio de cisalhamento, do *Scotchbond*, HEMA/*Scotchbond* e *Scotchbond 2*, foram obtidas em caninos e molares de cães. Os resultados indicaram que a união do *Scotchbond/Silux* à dentina superficial e profunda apresentou uma média de 3MPa. O tratamento com HEMA não melhorou de forma consistente a resistência do *Scotchbond*, não importando o dente e a profundidade. A resistência diminuiu significativamente quanto mais profunda era a cavidade, para qualquer dente; o *Scotchbond 2/Silux* exibiram resistência significativamente maior (6-8 MPa) nos caninos, em dentina superficial e média; mas não diferente daquela obtida com o *Scotchbond* em cavidades profundas. Os autores observaram, também, que as resistências de união dos molares são mais baixas do que as obtidas nos dentes caninos, o que sugere que existam diferenças

importantes no substrato dentinário entre os dentes, bem como em função da profundidade, e que o modelo em dentes de cães pode ser usado para selecionar novos sistemas adesivos antes de ensaios clínicos.

Em 1991, Nakabayashi et al.¹¹⁷, utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV) observaram a formação da chamada camada híbrida em dentina e esmalte após a utilização de adesivos contendo 4-META em sua composição. A microscopia do esmalte revelou um achado surpreendente, segundo os autores. Em acordo à teoria normalmente aceita da formação de *tags*, o prévio tratamento com ácido fosfórico do esmalte criou retenções mecânicas devido à dissolução do material interprismático, onde o adesivo penetra resultando em união mecânica com o esmalte. Os autores observaram uma penetração do adesivo ao redor dos prismas que os mantinham encapsulados. Uma análise química desta interface mostrou que os *tags* são formados puramente por resina e que em sua base há a presença de uma fina camada onde a resina impregnou o material aprismático, formando uma mistura de resina e esmalte. Eles denominaram esta zona de transição de camada híbrida em esmalte, muito resistente à dissolução com ácido clorídrico, e talvez, denotando uma certa resistência à cárie. Os autores estudaram, também, a ação do 4-META em dentina que inicialmente mostrou-se ineficaz pela desnaturação do colágeno dentinário com o uso do ácido fosfórico em esmalte e dentina. Resolveram realizar o condicionamento com a solução 10:3 (ácido cítrico a 10% e oxalato férrico a 3%), que resultou em um aumento de 200% na resistência de união. Houve uma formação de *tags* idêntica sendo usado o ácido fosfórico ou a solução 10:3. Com o uso da solução 10:3, observou-se a formação de uma camada intermediária formada por resina e dentina, denominada camada híbrida. Os autores concluíram que quando ocorre a hibridização, a resistência de união aumenta significativamente em esmalte e dentina, além do que há a formação de um selamento da dentina e esmalte, prevenindo a

hipersensibilidade e cárie secundária.

Retief¹⁵⁷ (1991), realizou testes de adesão em laboratório para selecionar um teste que deveria ser realizado antes da avaliação clínica dos sistemas de união dentinários restauradores. Os testes realizados incluíram determinação da força de união à dentina, a avaliação de microinfiltração e dimensões de abertura marginais à interface dente-restauração. O autor descreveu as variáveis relacionadas à avaliação da força de união; verificou que o teste de resistência ao cisalhamento é o mais indicado; que são utilizados nos testes, dentes humanos e bovinos; que o diâmetro da área de união influi na escolha do tipo de dente e sua superfície; a influência do tipo e duração do armazenamento; o preparo da superfície de dentina e do espécime. Os fatores variáveis foram revisados e segundo o autor, nenhum teste de adesão unificado está disponível, pois as metodologias variam de um laboratório para outro.

Ruse & Smith¹⁶⁵ (1991), utilizaram a espectroscopia (XPS), espectroscopia de massa de íons secundários (SIMS) e MEV para caracterizar a superfície da dentina bovina, determinar os efeitos dos diferentes procedimentos de pré-condicionamento na composição elementar da superfície da dentina e investigar a interação entre dentina e um agente de união (*Scotchbond*), estudando as mudanças na composição elementar de dentina como resultado da interação. Os resultados mostraram que, a composição elementar da *smear layer* era semelhante a da dentina subjacente; a limpeza com peróxido de hidrogênio, não alterou a composição elementar da superfície de dentina; o condicionamento ácido produziu uma quase completa desmineralização da dentina, dando origem a uma superfície rica em material orgânico. Na investigação da interação entre agente de união e dentina, foi observada uma falha parcialmente aderente no agente de união, durante fratura do conjunto dentina-agente de união. Baseados nestes resultados, os autores sugeriram que os sistemas de união que usam

condicionamento ácido como procedimento de pré-condicionamento, devem ser baseados em agentes capazes de interagir com os componentes orgânicos da dentina, pois os agentes de união que confiam em uma reação de quelação com cálcio, provavelmente não irão obter êxito.

Para estudar as mudanças detalhadas na distribuição de carbonato ao longo das diferentes fases de desenvolvimento do esmalte humano e bovino, da formação à maturação, Sydney-Zax et al.¹⁷⁹ (1991), coletaram 22 dentes humanos anteriores decíduos e 46 dentes bovinos. Também foram analisados os principais íons minerais como cálcio e fósforo, para facilitar a comparação do conteúdo de carbonato na progressão da mineralização. Com base nos resultados, observou-se que quando o esmalte amadureceu, a concentração mineral aumentou e a concentração de carbonato diminuiu, para os dentes humanos e bovinos. Segundo os autores, esta diminuição de carbonato na porcentagem em peso de esmalte pode estar relacionada à diluição por afluência relativa de carbonato livre e pode explicar, em parte, o aumento observado na cristalinidade mineral quando o tecido amadurece. Observaram que o esmalte bovino maduro antes da erupção tinha concentração ligeiramente mais alta de carbonato do que o esmalte humano, indicando que os dentes bovinos poderiam ser mais susceptíveis a um ataque ácido devido às variações no entrelaçamento da hidroxiapatita.

Em 1991, Wang & Nakabayashi²²⁸ avaliaram, em MEV, a efetividade do Phenil-P sobre a dentina bovina pré-tratada com a solução 10:3 ou com ácido fosfórico a 65%. Os autores obtiveram resultados de resistência adesiva, comparáveis com estudos anteriores onde o monômero funcional empregado foi o 4-META. A análise foi realizada antes e após alterações químicas sobre novas amostras, com o objetivo de estudar o mecanismo de adesão. As amostras preparadas e as fraturadas durante o

teste mecânico foram seccionadas verticalmente e polidas com $0,05\mu\text{m}$ de alumina sob refrigeração com água e imersos em 6mol/L de ácido clorídrico (HCl) por 30s para dissolução dos componentes minerais, antes da análise ao MEV. Os espécimes não fraturados foram polidos com lixa 600, seguido do polimento ultrafino e após o banho com HCl foram imersas em hipoclorito de sódio (NaOCl) 0,1% por 12 dias. Os autores observaram melhora efetiva na resistência à tração atribuída ao Phenil-P através da promoção da difusão monomérica e impregnação na dentina desmineralizada, a solução 10:3 desempenhou um papel essencial na formação da camada híbrida.

Realizando uma revisão de literatura sobre testes de adesão na estrutura dental, Rueggeberg¹⁶⁴ (1991) observou que é impossível comparar diferentes grupos de investigação, pois não há uma normalização nos testes de adesão. O autor se preocupou com a influência da escolha do tipo de tratamento do substrato usado nos testes, e observou que muitos fatores podem afetar os resultados, sendo necessária então, a criação de uma metodologia para selecionar critérios ou preparação da superfície do substrato para testes de adesão, para normalizar os métodos de análise e a interpretação de dados.

Em 1992, Brown et al.²³ realizaram um estudo para examinar o ângulo de contato e energia livre de superfície da dentina e esmalte de dentes bovinos e humanos usando padrões químicos. Dentes extraídos foram colocados em água destilada a 4°C até o preparo das amostras. Os dentes foram montados em cilindros de resina de polimerização fria, as superfícies de esmalte e dentina foram expostas em uma politriz com lixa de papel Al_2O_3 , de granulação 600. As amostras foram limpas em ultra-som durante 5 minutos e secas com ar comprimido livre de óleo. Para determinar a energia livre de superfície foi usado o esquema de Zisman: coseno do diâmetro *versus* a superfície de tensão. Os resultados em dynes/cm foram:

esmalte humano = 29,8; dentina humana = 36,2; esmalte bovino = 16,31; dentina bovina = 17,4. Segundo os autores, estes resultados sugerem que a dentição bovina possuía uma energia livre de superfície significativamente mais baixa do que a dentição humana. Os dados obtidos também sugerem que a dentina tem maior energia livre de superfície do que o esmalte, em dentes humanos e bovinos.

Dando seqüência ao estudo à respeito da superfície dentinária e sua influência na adesão, Eick et al.⁵² (1992), analisaram os adesivos incluídos na Categoria II, *Tenure (Den-Mat Corp.)* e *Mirage Bond (Chameleon Dental)* e as soluções experimentais de oxalato de ferro e de alumínio, no tratamento da superfície. Foram utilizadas MEV e MET, e as fotomicrografias foram avaliadas. Os autores relacionaram a capacidade de penetração do sistema adesivo na superfície dentinária e a adesão. Desta forma concluíram que o aumento da resistência de união (8 e 14MPa), desta categoria de adesivos em relação aos da Categoria I, ocorreu provavelmente, devido ao aumento da capacidade de umedecimento e penetração destes materiais.

Estudando a influência de três variáveis nos testes de adesão, Fowler et al.⁶³ (1992), associaram o tipo de teste (tração ou cisalhamento), o desenho do aparato e o substrato (esmalte e dentina, humano e bovino). Os autores utilizaram a face vestibular de incisivos bovinos e superfície oclusal de molares e pré-molares humanos; o adesivo dental *Scotchbond 2 (3M Company)*, a resina *Silux (3M Company)*, o cimento de ionômero de vidro *Ketac-Fil (ESPE)* e *Vitrebond (3M Company)*. Os resultados revelaram que não houve diferenças estatisticamente significativas na força de união entre teste de tração e cisalhamento. Entretanto, o teste de tração promoveu mais falha adesiva, na interface dente-adesivo, o que indica que o teste de cisalhamento deve ser empregado, preferencialmente, nos testes de adesão. A força de união de

alguns sistemas adesivos diferiu, significativamente, quando testada por dois aparatos diferentes. O desenho do aparato, aparentemente influenciou os valores obtidos. Não houve diferenças significantes entre os valores de resistência à tração do Scotchbond 2 em esmalte humano e bovino, e para o *Ketac-Fil* quando foi testado em tração e cisalhamento. Os resultados em dentina mostraram valores mais altos, aparentemente, para dentina bovina do que para a dentina humana, que segundo os autores, deve-se às variáveis associadas à dentina (foram empregadas a dentina oclusal de humanos e a dentina vestibular de bovinos; a profundidade da dentina variou de dente para dente; diferenças no tamanho e curvatura dos dentes influenciaram na profundidade de dentina para um tamanho adequado de área de adesão; variações morfológicas em dentes naturais, humanos e bovinos). Houve diferença significativa nos valores para *Scotchbond 2* em dentina humana e bovina no teste de tração, mas não no teste de cisalhamento. Ao contrário, não houve diferença significativa nos valores de *Ketac-Fil* em dentina humana e bovina no teste de tração, mas os valores do teste de cisalhamento foram significativamente diferentes.

Kanca III⁸⁷(1992), avaliou o efeito da umidade dentinária pós-condicionamento ácido, nas concentrações de 10% e 37% de ácido fosfórico, sobre a resistência adesiva. Sessenta dentes humanos foram lixados para exposição da dentina e divisão dos grupos. Os resultados mostraram que a dentina úmida exibiu resultados significativamente maiores quanto à resistência adesiva do que a dentina seca. Sugere o autor a realização de mais estudos, inclusive microscópicos, para esclarecimento dos mecanismos que levaram a esses resultados.

McCabe & Rusby¹⁰⁰ (1992), verificando as variações que ocorriam na resistência adesiva, em função da profundidade dentinária, realizaram um estudo com quatro sistemas adesivos aplicados em diferentes profundidades de dentina. Foram utilizados molares humanos estocados em

solução salina de formol a 10%, por uma semana após a extração e, posteriormente, congelados em água destilada por quatro a oito semanas. A dentina da região oclusal foi exposta por meio de lixa de granulação 180, para produzir os seguintes desgastes em mm de dentina: 0; 0,5; 1,0 e 1,5. Os seguintes sistemas adesivos foram aplicados: *Gluma (Bayer)*, *Tenure (Den-Mat Corp.)*, *Scotchbond 2 (3M Dental Products)* e *Tripton (ICI)*, e em seguida, a resina composta Occlusin (ICI) foi aplicada sobre a superfície com o auxílio de uma matriz de teflon com 5mm de diâmetro. Após a adesão, as amostras foram estocadas por sete dias a 37°C e o teste de tração foi realizado em uma máquina Instron, a uma velocidade de 1mm/min. Com base nos resultados, os autores observaram diferenças significantes na resistência adesiva, em todos os materiais, na dentina superficial e profunda. Os valores, em MPa, de resistência encontrados foram os seguintes, dentina superficial: *Tenure* (10,4), *Tripton* (8,1), *Scotchbond 2* (5,0) e *Gluma* (4,6); dentina profunda: *Tenure* (3,2), *Gluma* (2,8), *Tripton* (2,3) e *Scotchbond 2* (2,2). Desta forma, os autores concluíram que: a adesão à dentina profunda é difícil; o mecanismo de adesão pode ser comum entre os sistemas testados, mesmo apresentando composições diferentes; e a penetração do adesivo no interior dos túbulos abertos pelo condicionamento ácido não é pré-requisito para efetiva união.

Em 1992, Nakabayashi¹¹¹ revisou os principais aspectos relacionados à qualidade da camada híbrida resultante da adesão com o sistema 4-META/MMA-TBB, onde considerou aspectos como a difusividade do substrato e a difusibilidade do agente adesivo para potencializar a penetração de monômeros em uma profundidade suficiente para gerar boa resistência adesiva. Para avaliar a relação difusibilidade do sistema adesivo versus qualidade da camada híbrida, foi omitida a presença do 4-META (monômero hidrofílico) e do cloreto férrico, da solução clássica 10:3. O cloreto férrico era considerado responsável pela estabilização da

conformação estrutural colágena durante a remoção de minerais pelo condicionamento ácido. Sendo esta conformação mantida, acreditava-se existir a possibilidade da penetração do sistema adesivo por entre os poros e canais perifibrilares. Assim sendo, no caso em que foi omitido o cloreto férrico do sistema adesivo, a aparência das interfaces de adesão obtida com tratamento com HCl 6mol/L, por 30s, seguido da imersão em NaOCl por 10min e visualizados em MEV, foi muito diferente das superfícies-controle, sendo observada uma fina camada híbrida, menor que 1 μ m, com uma separação visível entre a *hybrid-like layer* e a resina composta. A ausência do 4-META também promoveu a formação de uma zona semelhante à camada híbrida (*hybrid-like layer*), susceptível à degradação pelo tratamento químico ácido-base, com a exceção de que as amostras foram imersas em solução de NaOCl a 0,1% por 12 dias. Neste estudo o autor observou a completa remoção da *hybrid-like layer* e a formação de um espaço de 5 μ m ligado por alguns *tags* resinosos, e segundo ele, a quantidade de resina existente dentro da camada híbrida, em função da taxa de difusão monomérica, poderia ser estimada pela susceptibilidade à degradação obtida pela imersão em solução desproteinizante (NaOCl).

Nakabayashi et al.¹¹⁵ (1992), realizaram um trabalho *in vivo*, para estudar a adesão do 4-META/MMA-TBB e a influência do pré-tratamento da dentina íntegra e da afetada por cárie com a solução 10:3 (ácido cítrico a 10% e cloreto férrico a 3%). Foram analisados três dentes, dos quais um era cariado e dois íntegros. A solução 10:3 foi aplicada por 10 e 30s. Com base nos resultados, os autores concluíram que, uma pequena intensidade de desmineralização da dentina, desde que não remova quantidade excessiva de hidroxiapatita, irá resultar em aumento da estabilidade e durabilidade da união adesiva ao dente. Segundo os autores, isto está ligado ao fato de que uma pequena diminuição da quantidade de

mineral da dentina retém mais hidroxiapatita que, por sua vez, protege os peptídeos dentinários, incluindo o colágeno. O envolvimento e impregnação do colágeno e da hidroxiapatita pela resina 4-META/MMA-TBB criam uma camada que diminui a hidrólise dos peptídeos do colágeno com o passar do tempo, melhorando, desta forma, a durabilidade da união adesiva da resina à dentina.

Nakabayashi & Takarada¹¹⁴ (1992), investigaram a efetividade do tratamento da dentina com o HEMA (2-hidroxi etil-metacrilato) antes da aplicação de um adesivo resinoso com 5% de 4-META em MMA, combinado com poli-MMA. A polimerização da resina foi iniciada por TBB. As amostras de dentina bovina foram planificadas com lixa de granulação 600 e desmineralizadas com solução aquosa de 10% de ácido cítrico e 3% de cloreto férrico (10:3) ou uma solução aquosa de 10% de ácido cítrico (10:0). Foi observado um aumento na resistência adesiva com o tratamento com HEMA, o qual foi dependente do período de aplicação desta substância. O exame em MEV revelou a formação de uma zona de transição de dentina reforçada por resina denominada camada híbrida, naqueles espécimes que receberam o pré-tratamento 10:3. O adesivo resinoso impregnou fibras colágenas expostas, emaranhando-se a elas para criar uma zona híbrida, a qual é essencial na obtenção de altas forças de adesão. Os espécimes pré-tratados com 10:0 não formaram a camada híbrida imediatamente. No entanto, com o mesmo pré-tratamento 10:0 seguido da aplicação do HEMA, a microscopia pôde revelar a presença da camada híbrida, aumentando a resistência adesiva para 13MPa. Os íons férricos contidos na solução 10:3 melhoraram significativamente a difusibilidade dos substratos dentinários, assim como o HEMA. Concluíram que a aplicação do HEMA aumentou a difusão monomérica e a união aos componentes dentinários, facilitando a formação da camada híbrida.

Pashley et al.¹²⁹ (1992), realizaram um estudo em que buscaram evidenciar a necessidade de se conceituar agentes condicionadores e *primers*, confusão geralmente feita pela tentativa de se reduzirem os passos técnicos requeridos para a adesão, onde *primers* e condicionadores estão combinados em uma única solução. Os autores discorrem sobre as possíveis desvantagens causadas pelo condicionamento ácido, como o aumento da permeabilidade dentinária, da umidade superficial, do potencial de irritação pulpar, da desnaturação do colágeno e de uma discrepância entre profundidade de desmineralização e capacidade de penetração do agente adesivo. Assim, concluíram que seria vantajosa a combinação de agentes condicionadores e *primers* na redução da concentração ácida e no tempo de aplicação, além da redução da microinfiltração.

Perinka et al.¹⁴⁵ (1992), analisaram a relação entre a resistência adesiva e três características da dentina: espessura, concentração de cálcio e dureza do remanescente. Foram utilizados 62 dentes bovinos, onde a dentina vestibular foi exposta pela ação de lixa de granulação 600. A área para tratamento adesivo foi demarcada com uma fita com perfuração padronizada de 5,5mm de diâmetro. No grupo 1 foi realizado o condicionamento com ácido fosfórico 37%, seguido da aplicação do *Clearfil New Bond/Clearfil Fill (Kuraray Co)*. O mesmo procedimento foi utilizado para o grupo 2, porém o sistema empregado foi o *Clearfil Photo Bond/Photo Clearfil (Kuraray Co)*. Para o grupo 3 foram empregados o *Scotchprep* para o tratamento da dentina, seguido da aplicação do *Scotchbond 2/Silux (3M Dental Products)*. Para o grupo 4 foi utilizada a solução 10:20 (ácido cítrico 10% e cloreto de cálcio 20%) para condicionar a dentina, seguida da aplicação de um sistema experimental, composto de 3% MMSA (ácido N-metacrilóil 5 amino-salicílico em etanol), *Clearfil Photo Bond/Photo Clearfil Bright*. Os resultados mostraram correlação entre a resistência adesiva e as

três características dentinárias para três dos quatro sistemas empregados: concentração de cálcio para os grupos 1 e 2; espessura para os grupos 2 e 4 e dureza para o grupo 4. Contudo, parece não haver correlação entre a concentração de cálcio e a espessura da dentina. Os autores acreditaram que o papel mais importante, na determinação de uma forte adesão, estaria na qualidade das fibras colágenas.

Para analisar os aspectos morfológicos da zona de interdifusão resina-dentina, Van Meerbeek et al.²¹⁶ (1992) empregaram MEV e MET. Foram usados terceiros molares humanos extraídos, estocados por quatro semanas em solução aquosa contendo 5% de cloramina. Discos de dentina de 1,0 a 1,5mm de espessura foram obtidos após o corte das raízes em um micrótomo, na JAC. O esmalte oclusal foi removido e a padronização da *smear layer* foi conseguida com a utilização de lixas de granulação 600. Em seguida foi realizada a adesão com *Clearfil Liner Bond System (Kuraray)* que utiliza a solução condicionadora 10:20 (ácido cítrico 10% e cloreto de cálcio 20%), seguida do *primer* (5-NMSA: ácido N-metacrilato 5-aminosalicílico), secagem, aplicação do adesivo (MDP: 10 metacrilóiloxidecil hidrogênio fosfato), fotopolimerização e aplicação de resina de baixa viscosidade. Os discos de dentina/resina foram seccionados transversalmente, embutidos em resina epóxica e preparados para análise em MEV e MET. Os autores classificaram os sistemas adesivos dentinários morfológicamente em três grupos, para possível esclarecimento de seus mecanismos de adesão. O primeiro grupo de produtos removia a camada de *smear layer*. A análise ao MEV permitiu verificar claramente uma camada de dentina saturada por resina. Segundo os autores, provavelmente o condicionamento com ácido desmineralizou os agentes de quelação da camada superficial de dentina, deixando uma malha rica em fibras colágenas. Foi suposto que os monômeros hidrófilos alteram o arranjo das fibras de colágeno e, de certo modo, isso facilita penetração da resina adesiva, resultando em uma ligação

mecânica entre o colágeno e a resina adesiva. O segundo grupo preservou a camada de *smear layer*. Neste caso, os orifícios dos túbulos de dentina foram obliterados por partículas globulares formando o *smear plug*. Estes sistemas adesivos incorporam a *smear layer* através de monômeros hidrófilos, por sua afinidade aos componentes orgânicos e inorgânicos da dentina subjacente. O terceiro pequeno grupo dissolveu parcialmente a camada de *smear layer* criando uma fina camada de dentina saturada por resina, e *smear plug* saturado por resina. Com a realização deste estudo, os autores concluíram que a aplicação dos recentes sistemas adesivos induziu mudanças estruturais na morfologia da superfície de dentina, criando uma interface retentiva, chamada de zona de interdifusão, entre a dentina profunda intacta e a resina composta; a zona de interdifusão resina-dentina é o resultado da união por copolimerização com a resina composta e, concorrentemente, poderia ter potencial protetor para o tecido pulpar. A análise ao MEV permitiu verificar claramente uma camada de dentina saturada por resina no primeiro grupo. Este apresentou as maiores medidas de hibridização (CH) e de descalcificação (DD), sendo que para a desmineralização foram maiores do que os registrados de camada híbrida. O maior valor de DD foi obtido com o *All-Bond* e *All-Etch* (Bisco), que utilizou para o condicionamento dentinário o ácido fosfórico 10% por 15s e atingiu uma profundidade de descalcificação de 7,5 μ m e de CH, 2,5 μ m. Ao preservar a *smear layer*, o segundo grupo apresentou os orifícios dos túbulos de dentina obliterados por partículas globulares formando o *smear plug*. A hipótese levantada foi a de que estes sistemas adesivos incorporaram a *smear layer* através de monômeros hidrófilos, por sua afinidade aos componentes orgânicos e inorgânicos da dentina subjacente. As medidas de CH e de DD foram semelhantes dentro de cada sistema adesivo do segundo grupo, no qual a *smear layer* foi mantida, sendo que a variação destas

medidas ficou em torno de 0,1 μ m a 0,3 μ m. No terceiro grupo que dissolveu parcialmente a *smear layer*, criou-se uma fina camada de dentina saturada por resina, além de *smear plug* saturado por resina. As medidas de CH e de DD foram em grande parte semelhantes dentro de cada sistema adesivo deste grupo, com exceção do *Clearfil Liner Bond System (Kuraray/Japan)* e do *Super-Bond D Liner (Sun Medical Co./Japan)* que apresentaram valores de CH: 2 μ m e 1,5 μ m e de DD: 3,5 μ m e 2 μ m, respectivamente. A zona de interdifusão era composta de três subcamadas: uma superior que não apresentou um arranjo ultra-estrutural definido, sendo formada por fibras colágenas desnaturadas pelo condicionamento ácido, resíduos insolúveis de *smear layer* e partículas de carga de resina de baixa viscosidade, depositadas no topo da camada híbrida propriamente dita, inclusive sobre a abertura dos túbulos dentinários; uma subcamada intermediária apresentando fibras colágenas envoltas por pequenos espaços interfibrilares, arranjados paralelamente à superfície da dentina e perpendicularmente aos túbulos dentinários, entremeados com pequenos cristais residuais de hidroxiapatita. Após o condicionamento ácido, esta camada de fibras colágenas sofreu um colapso pela remoção do suporte mineral, obliterando parcialmente a entrada dos túbulos de um lado, e desmineralizando de forma oblíqua à parede interna do outro lado do mesmo túbulo. Após a reexpansão do colágeno, este fenômeno foi parcialmente restabelecido, notando-se um estrangulamento do *tag* de resina, na altura desta camada intermediária; já a subcamada inferior ou de base representou o limite entre a zona dentinária desmineralizada e a dentina inalterada, onde foi observada a presença de cristais de hidroxiapatita parcialmente desmineralizados, porém ácido-resistentes, revelando a encapsulação e proteção desses cristais pela infiltração da resina adesiva. Os autores concluíram que: tanto o MEV quanto o MET foram eficientes em evidenciar a presença da camada híbrida,

embora o MET possa oferecer maiores detalhes de sua constituição; a difusão dos monômeros de resina diminuiu com a profundidade, resultando na encapsulação dos cristais de hidroxiapatita até a subcamada de base da zona de interdifusão; e o pré-tratamento da dentina com ácido causou a desnaturação do colágeno superficial.

Abdalla & Davidson¹ (1993), estudaram a resistência ao cisalhamento e microinfiltração, do *Scotchbond Multi Purpose*, *Clearfil Liner Bond* e *OptiBond*. Foram utilizados dentes humanos recém-extraídos armazenados em água a 37°C, até sua utilização. O esmalte coronário foi removido com auxílio de baixa-rotação refrigerado com água e a *smear layer* foi produzida com lixa de papel de granulação 600. Os materiais testados foram aplicados na superfície de dentina usando um molde de teflon com 3,9mm de diâmetro e 2,5mm de altura. Os materiais foram utilizados de acordo com instruções dos fabricantes e em seguida foram aplicadas as resinas compostas do mesmo fabricante em cada grupo. O teste de resistência foi realizado em uma máquina universal a uma velocidade de 0,5mm/min. As áreas fraturadas foram observadas em estereomicroscópio e MEV. Para o teste de microinfiltração, foram preparadas cavidades de Classe V na face lingual ou vestibular de molares, na margem gengival. Os dentes foram preparados e imersos em azul de metileno, após termociclagem, foram obtidas fatias e analisadas por escores de penetração de corante. As resistências adesivas, em MPa foram: $17,7 \pm 4,1$ (*Scotchbond Multi-Purpose*), $16,3 \pm 3,8$ (*Clearfil Liner Bond*) e $15,7 \pm 5,8$ (*OptiBond*). Uma alta resistência à dentina pode ser obtida com os materiais que modificam a *smear layer* bem como com os materiais que requerem sua remoção. Restaurações com *Scotchbond* e *Clearfil* não apresentaram microinfiltração, enquanto uma restauração dentre as oito realizadas com *OptiBond*, apresentou microinfiltração.

Duke⁴⁴ (1993), revisaram os principais aspectos concernentes à variabilidade nos resultados de pesquisas relacionados aos sistemas adesivos. Um dos fatores preocupantes para os autores referia-se à abordagem dos resultados de pesquisas que se atinham somente à performance dos sistemas adesivos, desconsiderando a interação com o meio bucal. Outro fator que poderia ser responsável por extremas variações nos resultados de pesquisas clínicas referia-se à variabilidade de substratos dentinários. Apesar dos resultados laboratoriais encorajadores, estudos clínicos com sistemas adesivos mostravam-se desapontadores. Considerando-se o fato dos sistemas adesivos reagirem química e/ou micro-mecanicamente com a superfície dentinária, as características superficiais da dentina desempenhariam um papel importante na adesão destes sistemas a este substrato. Toda superfície dentinária exposta à ação do meio bucal, como a presente em abrasões cervicais, estaria sujeita a esta ação, sendo comumente observada a obliteração de túbulos dentinários pela deposição de dentina peritubular ou pela precipitação de cálcio dentro dos túbulos. Dessa forma, este substrato poderia ser menos receptivo aos sistemas adesivos disponíveis para a prática clínica. Estudos clínicos e laboratoriais de dentes com idade mais avançada acabariam por revelar uma variabilidade irregular da morfologia tubular. Os autores concluem que, quanto maior for a presença de dentina esclerótica, menor a efetividade do condicionamento e a adaptação da resina composta. Estas correlações contrastadas com resultados clínicos parecem consubstanciar o grande número de falhas adesivas ocorridas em lesões escleróticas.

Eick et al.⁵³ (1993), avaliaram os adesivos classificados por eles como de categoria III, empregando *Scotchbond 2* e *Scotchbond Multi-Use* (3M Dental Products), *All Bond* (Bisco Dental) e *Superbond* (Sun Medical) comparados ao *Prisma Universal Bond 3* (Caulk Dentsply) que apresentava características de adesivos de categoria I e II. Os autores

observaram a superfície dentinária e sua influência na adesão, com as seguintes médias de resistência adesiva: *Scotchbond 2* (22,9MPa), *Scotchbond Multi-Usa* (25,0MPa), *All Bond* (15,6MPa), *Superbond* (22,9MPa) e *Prisma Universal Bond 3* (11,2MPa). Foram utilizados MEV e MET após os testes de cisalhamento e a análise estatística, observou-se uma tendência às fraturas coesivas em dentina ou em resina nos sistemas que apresentaram maiores valores de resistência. Segundo os autores, o aumento de resistência adesiva atribuiu-se a um conjunto de fatores: o umedecimento efetivo e penetração do adesivo na dentina preparada, e a capacidade de manter as fibras colágenas estruturalmente intactas na superfície de dentina, permitindo o entrelaçamento do adesivo, resultando na formação da camada híbrida.

Marshall Junior⁹⁹ (1993), realizou um estudo da dentina em sua microestrutura e caracterização. A organização estrutural e as variações microestruturais refletem influências formativas, como tamanho e forma do dente e alterações causadas por idade, estímulos e doença. Porém, detalhes das relações de estrutura, composição química e propriedades da dentina estão limitados. O autor relatou as variações estruturais e a dependência na preparação de espécime, tipo de dente, localização, condições de armazenamento e modificações químicas e físicas. Segundo ele, estudos deveriam conduzir aos refinamentos principais em modelos de estrutura e propriedade da dentina, necessários para contínuo avanço das resinas compostas e dos adesivos dentais. São citadas as estratégias para a união dentinária, tais como: união química à fase mineral, ao colágeno, ou precipitados com modificação química; uma variedade de união micromecânica por formação de *tags* nos túbulos; modificação de áreas intertubulares por desmineralização parcial e formação de uma estrutura híbrida dentina-polímero por impregnação e polimerização de monômeros na dentina parcialmente desmineralizada; e penetração na dentina modificada

por laser. De acordo com o autor a dentina pode ser considerada como um complexo hidratado, formado por túbulos cercados; por uma área peritubular altamente mineralizada, embutida em matriz intertubular que consiste em grande parte de colágeno com cristais de apatita e fluido dentinário. Outras proteínas não-colágenas estão presentes em quantias menores e têm funções específicas. Estes componentes básicos são bem conhecidos, sua composição em volume é 50% de minerais, 30% de matriz orgânica (dos quais, 90%, são de colágeno) e 20% de fluido. A permeabilidade da dentina é altamente variável e depende da localização no dente sendo maior perto da polpa; existem irregularidades tubulares associadas com depósitos minerais, componentes orgânicos dos processos de odontoblastos, ou depósitos de colágeno intratubular. Estes fatores fazem com que o tamanho funcional do túbulo seja menor do que o tamanho aparente. Há o fluxo externo de fluido dentinário que acontece por causa de uma pequena, mas positiva pressão pulpar, calculada em aproximadamente 10 mmHg ou 15 cm H₂O. A umidade da dentina e variabilidade em suas características de permeabilidade causa dificuldades significativas que serão dependentes da localização na dentina. A menos que o agente de união possa deslocar ou possa se misturar no fluido, em áreas onde a dentina é muito permeável, será difícil alcançar uma união estável e duradoura. Para a realização de testes de resistência com a dentina devemos considerar que ela estará afastada de seu ambiente natural; um período de seis meses após a extração é indicado, embora os efeitos do tempo parecem ser relativamente secundários; a substituição por dentina animal pode apresentar vantagens, mas sua estrutura pode diferir da humana; três soluções de armazenamento parecem ser as mais comuns: água em várias formas (destilada, deionizada, com ou sem agentes antibacterianos), solução salina e formalina; foi sugerido que o teste seja realizado depois que o dente seja seccionado 1,0mm acima da polpa ou 1,0mm abaixo da JAD para controlar variáveis

para prova comparativa. O autor concluiu que detalhes na estrutura e composição da dentina são vitais para o sucesso dos sistemas de união.

Pashley et al.¹³¹ (1993) compararam a resistência ao cisalhamento de quatro sistemas adesivos dentinários em função da profundidade da dentina. Os autores realizaram um estudo *in vivo*, em dentes de cães, cujo esmalte vestibular foi exposto por pontas diamantadas. Um micrômetro digital foi utilizado para controlar a exposição da dentina e padronizar sua espessura. Os sistemas adesivos testados removiam ou modificavam a *smear layer*, sendo eles: *Clearfil Liner Bond System* (Kuraray), *Superbond C&B* (Sun Medical Co.), *Scotchbond 2* (3M Dental Products) e *Tenure* (Den-Mat). Uma matriz cilíndrica de 3X3mm foi utilizada para inserção de resinas compostas dos mesmos fabricantes dos sistemas adesivos. Os dentes foram extraídos e o teste de cisalhamento foi realizado. Os autores puderam observar, com a análise dos dados obtidos, que a resistência adesiva à dentina superficial foi maior do que a apresentada pela dentina profunda; os maiores valores de resistência (MPa) à dentina superficial, média e profunda, respectivamente, foram apresentados pelo *Clearfil Lyner Bond System* (16,3; 14,7; 11,7), seguido pelo *Superbond C&B* (12,3; 11,2; 11,3) *Scotchbond 2* (10,0; 7.3; 3.9) e *Tenure* (6,4; 6,2; 4.8).

Ainda em 1993, Pashley et al.¹³², com o intuito de identificar porosidades na superfície de dentina que permitissem a infiltração de resina durante a adesão, utilizaram a análise ao MEV. As imagens foram obtidas da subestrutura da dentina fraturada e da dentina coberta por *smear layer*, antes e após o condicionamento ácido. Foram utilizados molares humanos, fraturados. Os fragmentos de dentina fraturada foram divididos em quatro grupos. O grupo I constituía-se de dentina fraturada, condicionada e mantida úmida; o grupo II, de dentina fraturada, condicionada e seca com ar; o grupo III, de dentina coberta por *smear layer*, condicionada e mantida úmida; e o grupo IV, de dentina coberta por *smear layer*, condicionada e seca com ar.

Os autores concluíram que nos sistemas que removem a *smear layer*, há possibilidade da resina infiltrar a dentina intertubular e os túbulos, sendo que isto só ocorre com a remoção da fase mineral pelo condicionamento ácido. O colapso do colágeno deve ser evitado, pois, com a desmineralização formam-se espaços ao redor das fibras colágenas que funcionam como canais para penetração da resina. Os autores sugerem que novos trabalhos devem ser realizados em busca de uma adesão efetiva.

Perdigão et al.¹³⁸ (1993), através de estudos *in vitro* e testes de cisalhamento, avaliaram como o tipo de condicionamento, a umidade superficial da dentina e tipo de resina, influenciaram a resistência de união à dentina. Os sistemas adesivos analisados foram: *All-Bond 2*, *Amalgambond* e *Clearfil Photo Bond*. Duzentos molares humanos foram utilizados e preparados para receber os sistemas adesivos. Os espécimes do *Clearfil* foram condicionados com H₃PO₄ a 40% por 15s. Os grupos *All-Bond 2* e *Amalgambond* subdividiram-se em dois: no primeiro, o condicionamento foi feito com ácido fosfórico a 10% por 15s ou solução 10:3 por 10s; no segundo, os espécimes foram secos com ar ou papel absorvente e receberam uma resina composta híbrida ou de micropartículas. Os resultados indicaram que, o tipo de condicionador, a umidade superficial e o tipo de resina tiveram efeitos decisivos sobre a resistência de união, onde os maiores valores foram conseguidos com o uso de solução condicionadora 10:3, dentina úmida e resina composta híbrida.

Estudando o efeito da idade na adesão à dentina, Tagami et al.¹⁸³ (1993) realizaram testes de resistência adesiva em dentes humanos jovens (pacientes de nove a 21 anos) e velhos (pacientes de 42-64 anos) extraídos. Uma superfície de dentina de 3mm de diâmetro foi produzida na face proximal dos dentes, através de lixas de granulação 600. Foram aplicados quatro sistemas adesivos: *Clearfil Linerbond System*, *Clearfil Photo Bond*, *Restobond 3* e *Super Bond D-Liner*. A área de adesão foi preparada

de acordo com instruções dos fabricantes, receberam os sistemas adesivos e a resina composta *Photo Clearfil Bright*. Passados dez minutos, os dispositivos metálicos para o teste de tração foram aderidos, com a utilização do cimento *Panavia EX* e as amostras foram armazenadas em água a 37°C, por um dia. Após a realização do teste, a interface entre adesivo e resina composta, interface entre adesivo e camada impregnada ou entre camada impregnada e dentina, foram analisadas ao MEV. Os autores observaram que, os adesivos *Clearfil Linerbond System* e *Super Bond-D-Liner*, respectivamente, mostraram os maiores valores em MPa de resistência adesiva em dentes jovens ($13,1 \pm 3,4$ e $12,3 \pm 3,7$) e velhos ($13,7 \pm 4,5$ e $12,9 \pm 4,0$). Entretanto, resistências semelhantes foram encontradas para os sistemas testados, para os dois tipos de dentes, não importando a idade. A análise ao MEV das áreas de fratura, revelou a persistência da camada impregnada por resina na superfície de dentina, indicando que a fratura tendeu a ocorrer na interface entre adesivo e camada impregnada de resina.

Takemori et al.¹⁸⁴ (1993), analisaram os fatores que poderiam afetar a resistência de união nos testes experimentais de sistemas de adesão à dentina. Neste estudo cinco fatores foram examinados: embutimento ou não dos espécimes em resina epóxica; espessura dos espécimes; velocidade durante as mensurações; tempo de estocagem e profundidade do substrato dentinário. O primeiro teste foi o teste do embutimento ou não em resina epóxica, os autores observaram que não houve diferença estatisticamente significativa na resistência adesiva (18,5 e 16,9MPa, respectivamente), assim, para os demais testes todos os espécimes foram embutidos. Os tempos de estocagem avaliados foram: 10min, 3h, 6h,12h, e 24h. As velocidades dos testes foram: 0,5; 1,0; 3,0 e 5,0mm/min. As espessuras dos espécimes foram de 1,0; 3,0; 5,0 e 10,0mm. Os autores verificaram que nenhum dos fatores apresentou diferença

estatisticamente significativa, exceto a espessura dos espécimes que, em torno de 1,0mm, apresentaram menor resistência adesiva (6,3MPa) do que o controle (18,5MPa). Segundo os autores, esta diferença provavelmente tenha ocorrido devido ao aumento do número de canalículos e à presença de umidade, determinados pela proximidade com a polpa dental. Desta forma observou-se a necessidade da padronização da profundidade de dentina para os testes de resistência.

Em 1993, Tanaka & Nakai¹⁸⁵ estudaram o efeito de agentes de limpeza para canais radiculares, sua habilidade de dissolver o colágeno da superfície tratada e na melhoria da união da resina à dentina. Foram empregadas fatias de dentes bovinos e vários tipos de agentes de limpeza (*R-C prep, Hypogen, Antiformin, Neo Cleaner, Oxydolum, Morhonine, PSS* e solução de neutralização *PSS*), agente de união e resina composta *Clearfil*. Metade de cada fatia foi isolada com um adesivo, servindo como controle, e a outra foi empregada como área de tratamento sendo submetida a um dos agentes de limpeza por 60s, seguido da lavagem com *spray* ar-água por 30s e seca por ar por 15s. A alteração da superfície, dureza Knoop e resistência adesiva foram avaliadas segundo o teste de Scheffe de múltiplas comparações entre as médias sendo possível observar que os agentes de limpeza proporcionaram um acréscimo na resistência adesiva especialmente quando apresentava hipoclorito de sódio e quando continha EDTA. Sendo que a aplicação de solução de hipoclorito de sódio 10% por 60s proporcionou melhor resultado. Os autores concluíram que os agentes para limpeza de canais radiculares são eficientes em aumentar a resistência adesiva à dentina, principalmente os que apresentam hipoclorito de sódio; que a remoção de *smear layer* não é fator essencial para o acréscimo da resistência adesiva; que o tempo de tratamento de 30 a 60s foi suficiente para favorecer a resistência adesiva; o uso conjunto de ácido seguido de hipoclorito de sódio apresentou os melhores resultados.

Van Meerbeek et al.²¹⁷ (1993), examinaram ao MEV e MET a zona de interdifusão resina/dentina formada após a aplicação de um sistema adesivo que remove a *smear layer* e descalcifica a dentina superficial. Foram utilizados terceiros molares humanos extraídos, armazenados em solução aquosa contendo 5% de cloramina, por até quatro semanas. O esmalte da superfície oclusal foi desgastado até a exposição da dentina; foram obtidos discos de 1,0 a 1,5mm de espessura de dentina; as fatias de dentina foram lixadas com lixas de papel granulação 600. O condicionamento foi realizado com ácido cítrico a 10% e cloreto de cálcio a 20% (10:20), aplicou-se o sistema adesivo *Clearfil Liner Bond System (Kuraray)* e resina composta de baixa viscosidade *Clearfil Protect Liner (Kuraray)*. Para o processamento das amostras para o MEV, os discos de dentina foram seccionados perpendicularmente à interface de adesão com disco diamantado em baixa rotação embutidos em resina epóxica. Após 14h, os moldes de resina foram desgastados e polidos em politriz automática com lixas de papel e discos macios com pastas diamantadas de 3 e 1 μ m. Em seguida, as interfaces foram condicionadas com uma corrente de íon argônio, por 30s, montadas em *stubs* de alumínio, metalizadas com ouro e observadas ao MEV. A MEV revelou uma camada de baixa resistência ao íon argônio denominada zona de interdifusão resina-dentina que mediu cerca de 2 μ m limitada à dentina intertubular e nenhuma interdifusão entre dentina-resina foi detectada na dentina peritubular. Uma abrupta transição da dentina peritubular para o *tag* resinoso pôde ser observada. Na abertura do túbulo, uma pequena zona triangular de dentina impregnada por resina foi criada na zona de interdifusão e os *tags* resinosos apresentavam-se afunilados. Esta análise promoveu informações bem definidas sobre a ultra-estrutura da zona de interdifusão, em que foram observadas três subcamadas: a) superior, desprovida de arranjo ultra-estrutural definido; b) intermediária com fibras colágenas paralelas à superfície de dentina e perpendiculares aos túbulos dentinários, e

entremeadas por espaços e cristais de hidroxiapatita; c) base, limite entre a dentina desmineralizada e intacta, com cristais de apatita parcialmente desmineralizados, ácido-resistentes, o que indica que foram envolvidos por resina adesiva. Os autores concluíram que: MEV e MET foram eficientes em evidenciar a zona de interdifusão resina/dentina; a difusão dos monômeros resinosos no interior da dentina descalcificada diminuiu com a profundidade, envolvendo os cristais de hidroxiapatita até a subcamada de base; e que o pré-tratamento da dentina com ácidos causou a desnaturação do colágeno superficial.

Ainda em 1993, Van Meerbeek et al.²¹⁸ realizaram um estudo da dureza e módulo de Young nas camadas sucessivas da área de união resina-dentina, através da técnica de nano-entalhe, de quatro sistemas adesivos comercialmente disponíveis: *All-Bond 2 (Bisco)*; *Clearfil Liner Bond System (Kuraray)* *Mirage Bond (Chamaleon)*; e *Scotchbond Multi-Purpose (3M)*. O Scotchbond Multi-Purpose e *Clearfil Liner Bond System* também foram aplicados com um agente de condicionamento diferente. Foram feitos cortes triangulares minuciosos dentro de uma pequena área de alguns micrômetros. A carga e deslocamento do entalhador foram monitorados continuamente durante a sucessão de carga-descarga, para que a dureza e módulo de Young pudessem ser registrados em função da geometria deste aparelho e a carga aplicada. A dureza da zona de interdifusão resina-dentina observada, foi significativamente menor do que a da dentina inalterada, abaixo da área de união. Foi observado um gradiente de módulo de elasticidade da dentina, bastante dura, sobre uma zona de interdifusão mais elástica e a camada de adesivo da resina composta. O gradiente foi mais significativo nos sistemas que produziram camadas de adesivo relativamente espessas ou de resina de baixa-viscosidade como uma camada intermediária entre o adesivo e resina composta restauradora. Esta área de união deveria ter uma capacidade de deformação suficiente para aliviar as

tensões entre a contração da resina restauradora e o substrato de dentina rígido, melhorando a conservação da união à dentina e, como consequência, da integridade marginal e retenção da restauração.

Com o intuito de avaliar a efetividade de um adesivo experimental com ação direta sobre a *smear layer*, sem a necessidade do condicionamento ácido, Watanabe & Nakabayashi²³⁰ (1993) utilizaram o 2-metacriloxietil fenil-hidrogênio fosfato (Phenyl-P) a 5%, dissolvido em trietilenoglicol dimetacrilato (TEGDMA) com 0,5% de N-fenilglicina (NPG) em dentina bovina. A área de adesão foi delimitada, recebendo o agente adesivo que foi deixado por 60s sobre a superfície e então fotopolimerizado. Os espécimes foram armazenados em água a 37°C por 24h, seis meses e um ano, sendo posteriormente submetidos ao teste de tração e as superfícies fraturadas analisadas em MEV e MET. Foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre um dia e seis meses e entre um dia e um ano. Mesmo não havendo diferença significativa entre seis meses e um ano, observou-se um efeito deletério da imersão em água sobre a resistência adesiva. Isto se deve possivelmente à resina que, embora tenha penetrado na *smear layer*, não foi capaz de impregnar uniforme e suficientemente a dentina mineralizada subjacente, de forma a criar uma adesão estável por longo período.

Attal et al.⁹ (1994), realizaram um estudo para avaliar a influência de seis tratamentos da superfície dentinária baseados em componentes ácidos ou básicos, na energia de superfície desse substrato. A dentina oclusal de molares humanos foi exposta por meio de lixas de granulação 240 a 4000, lavadas e secas. As características de energia de superfície foram calculadas por medição do ângulo de contato de quatro líquidos com características não-polar (α -bromonaftaleno) ou bipolar (água, glicerol e etilenoglicol), depositados sobre a superfície dentinária antes e após o condicionamento com seis tipos de solução: ácido oxálico/glicina, ácido

oxálico/glicina/HEMA, ácido fosfórico, ácido maléico, EDTA e NaOCl. Esses condicionadores após 30s. de aplicação, foram lavados e a superfície seca para receber os líquidos e medição do ângulo de contato. Três tipos de comportamento de molhabilidade foram observados: um aumento com a combinação oxálico/glicina/HEMA, uma estabilização com o ácido fosfórico e o NaOCl e um decréscimo com o ácido oxálico/glicina, ácido maléico e EDTA. Os cálculos demonstraram que a superfície da dentina é básica. Tais resultados podem contribuir para a elaboração de formulações de condicionadores e *primers*.

Em 1994, Burrow et al.²⁷ realizaram um estudo para investigar a influência da idade e profundidade da dentina na resistência de união de três sistemas adesivos. Discos de dentina preparados de molares humanos foram armazenados em solução salina com cristais de timol a 4°C, por três meses. Os dentes foram divididos em dois grupos: molares jovens, coletados de pacientes de até trinta anos de idade e molares coletados de pacientes com mais de cinquenta anos. Os discos foram obtidos da dentina próxima ao esmalte e da dentina próxima aos cornos pulpares e classificadas como superficial e profunda. As superfícies foram polidas com lixas de granulação 600. Os sistemas adesivos utilizados foram: *Scotchbond Multi-Purpose* (3M Dental Products), *Superbond D-Liner* (Sun Medical Co.) e *Liner Bond II* (Kuraray Co.). A resina composta *Photo Clearfil* (Kuraray Co.) para dentes anteriores foi aplicada em um lado das superfícies. Do outro lado foi cimentado um disco de aço com o cimento resinoso *Panavia EX* (Kuraray Co.) e os testes de resistência foram realizados. As superfícies de teste foram examinadas, em sua variação estrutural e a camada híbrida, por meio do MEV. Os autores observaram que as resistências excederam a 10MPa para todos os materiais. O efeito na resistência foi atribuído à idade ou profundidade somente para o *Superbond D-liner* usado em dentina jovem-profunda que era comparável à dentina velha-superficial. Todas as outras

comparações dos grupos não mostraram qualquer variação entre profundidade de dentina ou idade. Entretanto, os espécimes de dentina profunda apresentaram resistências ligeiramente menores. As análises em MEV mostraram uma camada espessa de dentina impregnada por resina para *Scotchbond MP* e *Superbond D-liner* comparados ao *Liner Bond II*. O *Liner Bond II* exibiu uma camada de impregnação de resina mais fina e mais difusa, provavelmente por ser um sistema autocondicionante. Os autores concluíram que a idade ou profundidade de dentina não mostrou ter uma grande influência na resistência adesiva nos sistemas observados. A qualidade da camada de dentina impregnada, mais do que a espessura mostrou ser o mais importante fator na obtenção de alta resistência adesiva.

Estudos prévios relatando a importância do grau de umidade dentinária para o sucesso do procedimento adesivo levaram Perdigão & Swift Junior¹³⁵ (1994) a estudarem em MEV os efeitos de vários condicionadores ácidos na dentina humana, além de avaliarem a interface adesiva formada entre a dentina e cinco sistemas adesivos: *All-Bond 2*, *Amalgambond*, *Gluma 2000*, *Optibond* e *ScotchBond Multi-Purpose*. Para tanto, foram utilizados molares humanos livres de cárie que permaneceram congelados momentos antes do uso. Anteriormente ao procedimento adesivo, os dentes foram lavados e mantidos em água destilada por 24h, em temperatura ambiente. Cavidades classe V de 3X2X1,5mm foram confeccionadas nas superfícies vestibular e lingual de 25 dentes, sendo variada a umidade superficial em ressecada ou visivelmente úmida, conforme a face do dente (n=5 dentes; dez cavidades). A margem gengival dos preparos limitou-se à superfície radicular dos dentes. Após o procedimento adesivo, os dentes foram armazenados por 24h em temperatura ambiente. Secções longitudinais de aproximadamente 300µm de espessura foram realizadas por um micrótomo para que a análise da interface de adesão. Estas secções

foram submersas em ácido clorídrico 6N por 30s e em hipoclorito de sódio 1% por 12h, para parcial desproteinização e descalcificação das estruturas dentárias. Secções transversais de 25 dentes adicionais foram realizadas para o estudo da ação dos agentes condicionantes sobre a superfície dentinária. A *smear layer* obtida após o corte foi mantida intacta e foi tratada com ácido fosfórico dos diversos sistemas adesivos estudados (n=5). Em seguida, várias secções foram fraturadas para permitir a visualização lateral e oclusal. Os espécimes foram seqüencialmente fixados em glutaraldeído 2,5% em cacodilato de sódio (pH=7,2) por 2h. Após a lavagem com cacodilato de sódio 0,02M os espécimes foram pós-fixados em tetróxido de ósmio, desidratados em concentrações ascendentes de álcool (25 a 100%) e secos em solução de hexametildisilazano (HMDS) por 15min. Os espécimes foram montados em *stubs*, dessecados em vácuo, metalizados com ouro-paládio e analisados em microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo (MEV-EC). O condicionamento ácido removeu a *smear layer*, abriu e alargou a entrada dos túbulos e desmineralizou a superfície dentinária, o efeito do ácido fosfórico a 10% visto na lateral dos túbulos revelou um formato afunilado e a desmineralização de dentina peritubular próxima à superfície. Fibras colágenas também foram evidenciadas na dentina desmineralizada. O *Amalgambond* utiliza ácido cítrico a 10% e cloreto férrico a 3% (10:3) por 10s, sendo notada sua restrita ação desmineralizadora sobre a dentina. O condicionador do *Gluma 2000* consiste de nitrato de alumínio 2,6% e 2,7% de glicina em água, deixou a superfície dentinária coberta com *smear* e não foi capaz de abrir a embocadura dos túbulos dentinários. *All-Bond 2* e *ScotchBond Multi-Purpose* formaram longos *tags* de aparência irregular e rugosa dentro dos túbulos dentinários. A camada híbrida obtida com este sistema adesivo na dentina úmida revelou-se ácido-resistente ao desafio químico. Em dentina ressecada a formação de camada híbrida não foi consistente e os *tags* resinosos eram de curta

extensão. Da mesma forma, o *Amalgambond* produziu interfaces adesivas com *tags* longos e camada híbrida ácido-resistente em dentina úmida; quando em dentina ressecada, notou-se a presença de *gaps* entre a dentina e a resina composta. O resultado mais desfavorável foi obtido para o *Gluma 2000* em dentina úmida, onde alguns espécimes não resistiram ao processo de seccionamento em micrótomo. Quando aplicado à dentina seca, os espécimes resistiram melhor ao processo de seccionamento, mas na análise ao MEV foram observados *gaps* entre resina e dentina em vários espécimes. Assim, com exceção do *Gluma 2000*, todos os sistemas adesivos agiram de forma mais eficaz em dentina úmida. Este comportamento, possivelmente, deve-se à presença de HEMA, monômero altamente hidrofílico, que necessita de água para a substituição pelos monômeros nos espaços perifibrilares, formando a união micromecânica. Os autores sugeriram a realização de estudos posteriores com MET para avaliar as diferenças nas profundidades de desmineralização ácida e de penetração resinosa dentro da dentina condicionada.

Para avaliar a resistência ao cisalhamento de sistemas adesivos a diferentes substratos dentinários, Perdigão et al.¹³⁹ (1994), utilizaram: *All-bond 2* (Bisco), *Amalgambond Plus* (Parkell), *Prisma Universal Bond 3* (Caulk/Dentsply) e *Scotchbond Multi-Purpose* (3M Dental Products) em dentina normal, hipermineralizada e desmineralizada, simulando dentina hígida, esclerótica e cariada, respectivamente. Para tanto, 120 molares humanos, livres de cáries foram selecionados, desgastados com lixas 240, 400 e 600 até a exposição de dentina, a qual foi condicionada com ácido fosfórico por 5s para remoção da *smear layer* obtida com o desgaste. Posteriormente, o primeiro grupo foi imerso em solução mineralizante, contendo 1,5mM de cálcio, 0,9mM de fosfato e 0,15M de cloreto de potássio, por 14 dias, em trocas diárias. O segundo grupo foi imerso em solução desmineralizante, contendo 0,1mol/L de ácido acético, por sete dias, que

remove mineral, mas não dissolve o colágeno. Os demais dentes, pertencentes ao terceiro grupo, foram imersos em água destilada. A aplicação dos sistemas adesivos foi realizada após sete dias dos dentes terem sido removidos das soluções de tratamento. Em seguida foi aplicada resina composta Z100 (3M) e fotopolimerizada por 120s, armazenada após 20min da adesão em água destilada por sete dias em temperatura ambiente. As amostras foram termocicladas, permaneceram por 48h em temperatura ambiente, foram submetidas aos testes laboratoriais de resistência ao cisalhamento e análise ao MEV após a fratura. Duas amostras adicionais foram seccionadas ao longo da interface de adesão com micrótomo, imersas em HCl a 6M/l por 30s e em NaOCl a 1% por 12h para parcial desmineralização e desproteinização da dentina. Os espécimes foram montados em *stubs*, dessecados em vácuo por 24h e metalizados seguido da análise ao MEV. Para todos os sistemas adesivos, a média de resistência em dentina normal foi significativamente maior em relação aos outros substratos. A resistência em dentina hipermineralizada foi significativamente maior do que a desmineralizada para todos os sistemas, com exceção do *Prisma Universal Bond 3*. A avaliação morfológica possibilitou a conclusão de que a dentina hipermineralizada, pela alta concentração mineral da dentina peri e intertubular, não permite um condicionamento ideal para que haja uma penetração efetiva dos sistemas adesivos o que afeta significativamente a adesão. Os autores sugeriram que se confeccionem retenções mecânicas apropriadas nestas situações clínicas.

Sano et al.¹⁶⁷ (1994), realizaram um trabalho com o objetivo de estudar as propriedades elásticas da dentina humana e bovina, mineralizada e desmineralizada, e testar a hipótese de que a matriz de dentina desmineralizada (colágeno), tem pouca contribuição na resistência à tração da dentina mineralizada. Empregaram fatias pequenas de dentina bovina e humana (0,5mm de espessura) obtidas na porção média da dentina

dos dentes coletados. Os espécimes foram imersos em 0,5M de EDTA (pH 7,4) em um banho ativado magneticamente por quatro dias, seguido da lavagem com água. As amostras foram testadas, ainda úmidas, em um dispositivo de microtração Bencor Multi-T modificado. Os dados coletados foram submetidos aos testes Barlett (homogeneidade de discrepância), teste de análise de variância e comparações múltiplas pelo teste de Duncan. A dentina coronária humana mineralizada apresentou uma média de resistência a tração (UTS) de 104MPa; a dentina coronária de incisivos bovinos exibiu UTS de 91MPa e a radicular fraturou a 129MPa. Os módulos de elasticidade de dentina humana e bovina mineralizada variaram de 13 a 15MPa. Quando as amostras de dentina bovina e humana foram desmineralizadas em EDTA a UTS e módulo de elasticidade caíram a 26-32MPa e 0,25 a 0,26GPa, respectivamente, aproximadamente um-quinquagésimo dos valores encontrados para dentina mineralizada. Com base nestes resultados, os autores concluíram que o colágeno contribui em 30% da UTS da dentina mineralizada e que a hipótese de que o colágeno tem pouca contribuição na máxima resistência à tração de dentina deve ser rejeitada.

Schuepbach et al.¹⁷⁴ (1994) realizaram um estudo para descrever a camada híbrida resina-dentina de um sistema adesivo dentinário (*ART Bond, Coltène, Switz*) e esclarecer como as variações anatômicas do dente podem afetar a união do adesivo em diferentes partes da cavidade. Após aplicação do *ART Bond* em cavidades classe V com cavo superficial de 90°, examinadas ao MEV e MET, ambos revelaram a presença da camada híbrida na interface dentina-resina. Nas secções ultrafinas não descalcificadas, a dentina da camada híbrida foi desmineralizada, firmemente envolvida em fibras colágenas e resíduos de cristais de hidroxiapatita e a camada dentinária foi totalmente impregnada por adesivo. Os autores concluíram que a boa impregnação da rede de colágeno não-

colapsado garante a união entre o adesivo e a dentina inalterada. A espessura da camada híbrida depende da orientação dos túbulos dentinários. Segundo os autores, para se evitar um desenho cavitário com túbulos dentinários correndo paralelamente às paredes, um bisel pode ser vantajoso para a ótima união ao longo das margens dentinárias.

Titley et al.²⁰¹ (1994) realizaram estudo com o objetivo de analisar de que modo o *primer* contido no *Scotchbond Multi-Purpose* (SMP) afeta a molhabilidade do colágeno desmineralizado por meio da morfologia obtida pelo MEV, além de avaliar a resistência adesiva dependente da quantidade de camadas aplicadas de *primer*. Para tanto, utilizaram dentes bovinos recém-extraídos que foram planificados com lixa de carboneto de silício até a exposição da dentina. O sistema utilizado neste estudo foi composto pela solução condicionante de ácido maléico a 10% (pH 1,2); solução aquosa de HEMA e um copolímero de ácido polialcenoico (pH 3,3) no *primer* e o adesivo fotoativado é baseado em Bis-GMA e HEMA. Os grupos foram divididos conforme o número de aplicações do *primer*, contendo cada um quatro espécimes. Para a análise em MEV, os dentes foram criofraturados (fratura por congelamento) após a inserção da resina composta, foram mantidos por duas horas em álcool absoluto e, então, secados ao ponto crítico ou submetidos à secagem convencional em temperatura ambiente. Em seguida, os espécimes foram montados em suportes metálicos (*stubs*) e cobertos por paládio antes do exame ao microscópio. As médias de resistência adesiva revelaram um aumento nos valores de 18,3MPa para 26,1MPa ou de 26,3% quando duas camadas do *primer* foram aplicadas e as camadas adicionais não representaram diferenças. O exame ao MEV dos espécimes secos ao ar, evidenciou uma zona de hibridização, entretanto, pareceu ser incompleta devido à presença de espaços vazios ao redor do colágeno. Os espécimes secos ao CPD evidenciaram a hibridização incompleta na dentina intacta subjacente,

embora o olágeno tenha sido envolto por monômeros. A aplicação de múltiplas camadas não resultou em aumento da hibridização.

Van Meerbeek et al.²¹⁹ (1994), avaliaram, retroativamente, a efetividade clínica de dez sistemas adesivos: *Scotchbond (3M)*; *Gluma (Bayer)*; *Clearfil Liner Bond (Kuraray)*; *Scotchbond 2 (3M)*; *Tenure (Den-Mat)* e *Tripton (ICI)*, comparados a quatro sistemas modernos, que empregam o condicionamento total (*Bayer exp. 1 e 2*, *Clearfil Liner Bond System (Kuraray)* e *Scotchbond Multi-Purpose (3M)*). Foram utilizadas, no total, 1.117 lesões de classe V cervicais, em 346 pacientes, seguindo dois tipos de cavidade: grupo a) esmalte não chanfrado, nem condicionado; grupo b) esmalte adjacente chanfrado e condicionado. Os autores concluíram que as taxas de retenção clínica indicaram definitivamente a eficácia melhorada dos sistemas mais recentes. A respeito da estratégia de adesão, os sistemas que removeram a *smear layer* e desmineralizaram a dentina, mostraram uma evolução clínica melhor do que aqueles que modificaram a camada desordenada de colágeno sem remoção completa do *smear layer*. Verificaram que a hibridização por interdifusão de resina na camada de colágeno da dentina exposta, com *tags* nos túbulos dentinários, pareceu ser essencial para uma união dentinária confiável, mas poderia por si só ser insuficiente. Relataram também que a formação adicional de uma área de união elástica funcionou como um amortecedor de contração de polimerização e o uso de um compósito restaurador de partículas microfinas, aparentemente garantiram um resultado clínico eficiente. A retenção após um ano foi registrada como perfeita para *Clearfil Liner Bond* e *Scotchbond Multi-Purpose*.

Grande parte dos estudos laboratoriais sobre sistemas adesivos utiliza dentes hígidos. No entanto, a condição clínica de exposição da superfície dentinária ao meio bucal desencadeia diferenças na composição e na morfologia destas superfícies e, sobretudo revela um substrato de maior dificuldade na adesão. Nesse sentido Van Meerbeek et

al.²²⁰ (1994) objetivaram neste estudo caracterizar a morfologia da interface adesiva em dentina cervical normal e esclerótica. Para tanto, foram utilizados dez dentes humanos, incisivos, caninos e pré-molares, com lesão não-cariosa cervical sobre os quais foi aplicado o sistema adesivo *Clearfil Liner Bond* (Kuraray). Após a secção das interfaces, realizaram um condicionamento com corrente de íon-argônio antes da análise em MEV, sendo revelada uma camada híbrida de menor extensão e poucos *tags* (por vezes ausentes) em dentina esclerótica. Estas observações foram associadas às obliterações tubulares devido à aposição de dentina peritubular e deposição irregular de minerais dentro dos túbulos, formando trajetos tubulares escleróticos. Segundo os autores, torna-se aceitável prever um resultado menos efetivo em dentina esclerótica comparada à normal, considerando que a principal estratégia de adesão envolve o entrelaçamento micromecânico entre dentina e resina com a formação de *tags* resinosos. Estes resultados contribuem para a explicação da dificuldade de adesão neste tipo de dentina e abre uma discussão a respeito da necessidade de adaptação de um sistema adesivo indicado para este tipo de substrato.

Walshaw & McComb²²⁷ (1994), procurando comparar seus resultados com os obtidos em estudos anteriores *in vitro* avaliaram, *in vivo* a interface estabelecida entre vários sistemas adesivos e a dentina. Para tanto, foram preparadas 44 cavidades em pré-molares humanos indicados para extração, sendo restauradas com os seguintes sistemas adesivos: a) *All Bond 2* (Bisco) com condicionamento; b) *All Bond 2* (Bisco) sem condicionamento; c) *Scotchbond 2* (3M Dental Products); d) *Scotchbond Multi-Purpose* (3M Dental Products); e) *Enamel Bond* (Kulzer) com condicionamento (grupo controle). Após a extração e o preparo para análise em MEV, observaram as seguintes situações: em A houve grandes áreas livres de fendas, sendo evidenciada uma camada híbrida com espessura

variando entre 5 a 8µm e a presença de *tags* com variados comprimentos. Quando foram observadas fendas, estas estavam associadas à falta de união do adesivo com o *primer*; o procedimento *B* mostrou-se menos efetivo, com poucos *tags* e camada híbrida não-uniforme; em *C*, os autores observaram grandes áreas sem união, com uma fina camada adesiva sobre a dentina e *tags* muito curtos; o procedimento *D* revelou grandes áreas livres de fendas, sendo evidenciada a camada híbrida; o grupo *E* apresentou desadaptação total. Os melhores resultados foram obtidos para os grupos *A* e *D*, concluindo que um cauteloso condicionamento da dentina com ácido, seguido da aplicação de *primer* resinoso, parece conduzir ao desenvolvimento de uma união satisfatória tanto *in vivo* quanto *in vitro*.

Watanabe et al.²³¹ (1994) realizaram um estudo para melhorar a qualidade da adesão, para tanto, empregaram grandes concentrações de Phenil-P associadas ao HEMA sobre a dentina bovina fraturada, coberta com *smear layer*. Os espécimes do Grupo I foram usados para obter a resistência de união, com cinco espécimes em cada subgrupo que variou a concentração de *Phenyl-P* (0 a 40%) em 30% de HEMA. Os espécimes do Grupo II foram destinados à MET, subdivididos em a) três espécimes de dentina fraturada e, b) dentina coberta com *smear layer* em duas situações distintas; c) superfície com *smear* delicado obtido com lixa abrasiva de granulação 180; d) superfície com *smear* espesso obtido com lixas de granulação 180, 400 e 600, por 10s cada uma, sob refrigeração com água. Os autores observaram que a solução desmineralizou a *smear layer* e a camada superficial de dentina, criando uma camada híbrida com a *smear layer* original. Os resultados de resistência adesiva foram expressos em MPa, as médias e desvio-padrão foram submetidos à análise de variância, seguido de comparações múltiplas usando os testes *Student* e *Newman-Keuls* ($p < 0,05$). Para o grupo submetido ao MET os autores observaram que os espécimes de dentina fraturada revelaram ausência de *smear layer*.

Quando este espécime recebeu o tratamento com 20% de *PhenyI*-P em 30% de HEMA por 1min antes da aplicação da resina de união, esta penetrou por 4-5 μ m na dentina fraturada. Os autores concluíram que este sistema apresenta vantagens sobre os convencionais, pois não desmineraliza excessivamente a dentina, evita a criação de uma zona de fragilidade, com a diferença entre a desmineralização pelo ácido e a penetração do adesivo, mantendo baixa permeabilidade com a manutenção do *smear plug*, sendo um sistema de um único passo de condicionador e *primer*, evitando o colapso do colágeno devido à remoção dos minerais e secagem após o condicionamento ácido que pode ocorrer em outros sistemas.

Phoenix & Shen¹⁴⁶ (1995), desenvolveu um estudo sobre métodos para aumentar a molhabilidade da superfície de porcelana feldspática, a fim de melhorar a resistência adesiva de reparos. Assim, baseados na avaliação do ângulo de contato e da MEV, utilizaram quatro tipos de tratamentos e os compararam ao controle (sem tratamento): (a) controle; (b) abrasão com óxido de alumínio; (c) condicionamento com gel de bifluoreto de amônia; (d) condicionamento com gel de flúor fosfato acidulado; (e) ácido hidrofúorídrico. Conclui haver diferenças significativas nos tipos de topografia de superfície pós tratamento, sendo a com ácido hidrofúorídrico a mais favorável. Também houve redução do ângulo de contato com medidas em graus: (1) 63,8 +- 2,7; (3) 39,4 +- 2,0; (2) 29,1 +- 2,9; (4) 24,9 +- 1,7 e (5) 16,5 +- 1,2. O aumento da área de superfície pode corresponder à melhora na resistência adesiva, sugere o autor.

Em 1995, Kato & Nakabayashi⁸⁸ realizaram um estudo para investigar a influência do colágeno exposto pelo ácido fosfórico, na durabilidade da adesão por longos períodos. Espécimes de dentina bovina foram preparados e condicionados com ácido fosfórico a 65%. A seguir foram realizadas a lavagem e aplicação de 4-META a 5% em acetona e da resina adesiva à base de 4-META/TEGDMA-CQ e NPG. Os espécimes aderidos

foram imersos em água destilada a 37°C por vários intervalos de tempo e a resistência adesiva à tração foi verificada. A resistência adesiva diminuiu significativamente ao longo dos períodos observados. Observações por MEV das superfícies fraturadas devido à carga de tensão mostraram que falhas coesivas ocorreram na camada colágena que não foi completamente reforçada com a difusão de resina, cuja incidência foi aumentando com o período de imersão. Os autores concluíram que o colágeno exposto pelo condicionamento com ácido fosfórico foi facilmente enfraquecido pela hidrólise e a durabilidade por longos períodos da adesão foi pobre com este sistema adesivo.

Miears Junior et al.¹⁰⁴ (1995), realizaram um estudo para avaliar os efeitos da umidade e tempo de estocagem na resistência adesiva ao cisalhamento. Sessenta molares humanos extraídos foram utilizados, através da redução da superfície oclusal, originando superfícies de dentina. Lixas de granulação 400 e 600 foram utilizadas para acabamento das superfícies para adesão. Os dentes foram divididos em quatro grupos de 15 amostras cada um. Foi realizado o condicionamento, lavagem e alguns foram mantidos com uma umidade visível na superfície e, outros, secos com ar comprimido. O sistema adesivo *Scotchbond Multi-Purpose* foi utilizado de acordo com as instruções do fabricante e cilindros de resina composta Z 100 foram unidos às superfícies. Dois dos grupos (um úmido e um seco) foram estocados por 24h em água destilada a 37°C, enquanto os demais, foram estocados por noventa dias em água destilada a 37°C. Ao final do período de estocagem, as amostras foram levadas ao teste de cisalhamento a uma velocidade de 0.5mm/min. Os valores médios de resistência adesiva, em MPa, observados durante o teste foram: Dentina seca/24h. – $13,30 \pm 5,1$; Dentina seca/90 dias – $13,07 \pm 3,8$; Dentina úmida/24h – $13,64 \pm 4,9$; e Dentina úmida/90 dias – $15,58 \pm 5,3$. Os autores observaram que não houve

diferença estatisticamente significante entre dentina seca e úmida nos dois períodos de estocagem. Os autores concluíram que o tempo de estocagem não teve efeito significativo no grupo de dentina seca, ou úmida.

Perdigão¹³⁴ (1995) apresentou um estudo morfológico da dentina humana exposta aos sistemas adesivos. O autor concluiu que embora alguns sistemas produziram interfaces intactas *gap-free* (livres de fendas) em espécimes específicos, todos mostraram separação na transição entre a zona de interdifusão resina-dentina e a resina fluida aplicada sobre ela. Era aparente que a presença de bolhas de ar e/ou de camadas espessas de resina fluida polimerizadas resultaram em menores áreas de separação freqüentes na interface resina-dentina, provendo evidência para o conceito da parede de cavidade elástica. Também foi confirmado que alguns sistemas adesivos não formaram uma camada espessa no topo da dentina, caso contrário a resina não teria penetrado em seus túbulos. A hipótese que o uso de uma resina composta quimicamente-ativada e um sistema adesivo dentinário de dupla-polimerização resultaria em restaurações *gap-free*, devido à técnica de contração direcionada foi negada nos experimentos *in vivo*, deste estudo. O uso de um adesivo dental *one-step* com uma resina submicroscópica preparada para criar uma zona de interdifusão cheia foi assunto de pesquisa *in vivo* com macacos em cavidades com menor formação de *stress*. Nesta pesquisa *in vivo*, testes de resistência adesiva foram combinados com a avaliação morfológica das interfaces para determinar a correlação *in vivo* entre os valores mecânicos para a interface resina-dentina e o grau de penetração de resina na dentina. O autor concluiu que ainda há um longo caminho para chegarmos a sistemas adesivos dentinários de adesão confiável, que se unirão à dentina vital, sendo a contração de polimerização de resina composta a principal desvantagem em adesão dental. Enquanto isso, o clínico deve estar atento às limitações dos produtos restauradores baseados em resinas. Quando realizar restaurações

de resinas compostas, o clínico deve eliminar todas as variáveis negativas que possam comprometer a durabilidade da restauração e a vitalidade da polpa. Observações de alta resolução de microscopia eletrônica das interfaces de dentina-resina junto com observação cuidadosa dos locais de fracasso são necessárias. Além disso, a observação ultramorfológica de fraturas em regiões que não foram desmineralizadas também deveria ser usada para estudar a relação do substrato com os monômeros incluídos nos mais novos sistemas adesivos.

A secagem ao ponto crítico (*Critical-Point Drying- CPD*) é um passo considerado fundamental na preparação de espécimes biológicos a serem avaliados em MEV já que a preservação da malha de colágeno após o condicionamento ácido contribui para o estudo do mecanismo de interação entre dentina e resina. Várias tentativas têm sido realizadas com o intuito de apresentar técnicas alternativas para a secagem. Para tanto, Perdigão et al.¹⁴⁰ (1995) realizaram um estudo para avaliar três diferentes técnicas alternativas a CPD: secagem com hexametildisilazano (HMDS), secagem com Peldri II e secagem ao ar ambiente. Utilizaram 24 discos dentinários de molares humanos hígidos, obtidos em cortes da região mediana da coroa, paralelos ao plano oclusal. A base dos discos foi recoberta por duas camadas de verniz e foi realizada sobre ela uma ranhura transversal para otimizar a fratura após a preparação do espécime. Na superfície tratada foi realizada a *smear layer* com lixa de silicone 600grit por 60s. Estas superfícies foram então condicionadas com ácido fosfórico a 10% semigel, *silica-free* por 15s, lavadas com jato de água por 10s e secas com jato de ar por 2s. Em seguida, os espécimes foram imediatamente fixados em glutaraldeído a 2,5% em solução tampão cacodilato a 0,1M (pH 7,4 em 4°C por 12h), lavados em três banhos de solução cacodilato por 1h seguido de banho com água destilada por 1min. Foram então desidratados em soluções ascendentes de álcool (25% por 20min, 50% por 20min, 75% por 20min, 95% por 30min e

100% por 60min) e finalmente divididos em quatro grupos (n=6) conforme o modo de secagem. Os espécimes foram avaliados em dois planos: longitudinal e transversal, aos túbulos dentinários, por meio de um MEV-EC. A técnica mais eficiente em preservar detalhes foi a que utilizou HMDS. Observou-se que a dentina intertubular desmineralizada, vista em seu perfil, obteve uma composição de três camadas distintas: uma primeira camada de colágeno desnaturado e de resíduos de *smear layer*, com fibrilas colágenas seccionadas, além da presença de alguns poros; a segunda, composta de feixes de fibras; e a terceira e mais profunda camada foi composta de espaços vazios, cristais de hidroxiapatita difusos e fibras colágenas escassas. O método de secagem com HMDS foi o mais eficiente na secagem por preservar a malha de colágeno e a microporosidade da superfície de dentina desmineralizada. Além disso, este método é simples e rápido de se realizar. A CPD também reserva certo grau de eficiência na manutenção da estrutura estudada, no entanto, apresenta como principais desvantagens o custo de aquisição e manutenção do equipamento, além do tempo necessário para realização (cerca de 1,5h), sob supervisão. O método Peldri II assemelha-se ao resultado obtido com a CPD, com a vantagem de requerer cerca de 30min de monitoramento, embora todo seu processo dure de 3,5h a 12h. A secagem ao ar ambiente causou alguns artefatos, como o colapso superficial e espessamento da camada de colágeno desnaturada, sendo descartada como metodologia de secagem de amostras para MEV.

Para avaliar o comportamento de microinfiltração de três adesivos dentinários e determinar se o dente bovino é um substrato comparável ao dente humano, Reeves et al.¹⁵⁴ (1995), realizaram um estudo utilizando o *Scotchbond Multi-Purpose*, *Prisma Universal Bond 3* e *All-Bond 2* que foram usados com a resina híbrida *Prisma APH* para determinar a microinfiltração. Foram utilizados trinta dentes humanos e trinta dentes bovinos, nos quais foram realizadas cavidades de classe V na junção

esmalte/cimento. Após a restauração, os dentes foram armazenados em água destilada a 37°C durante três dias, seguido de termociclagem de 100 ciclos de 4 - 58°C e retornaram à água destilada por mais quatro dias. Os autores utilizaram isótopo de Ca para verificar a microinfiltração que foi avaliada segundo escores, e realizaram a análise estatística com os testes de *Mann-Whitney U* e *Kruskal-Wallis*. Os autores concluíram, com base nos dados, que não houve diferença significativa na infiltração entre as paredes incisal e gengival para o substrato humano, mas que foi maior na parede gengival para o substrato bovino; *All-Bond 2* escoou mais do que *Scotchbond Multi-Purpose* na margem incisal do substrato humano; *All-Bond 2* apresentou maior microinfiltração do que *Prisma Universal Bond 3* na dentina e esmalte do substrato bovino; não houveram diferenças significantes em microinfiltração entre os sistemas de união para o substrato humano; não foi encontrada diferença significativa na microinfiltração entre substrato humano e bovino; e que estes resultados sugerem que os dentes bovinos podem ser usados no lugar de dentes humanos em estudos de microinfiltração *in vitro*.

Ao investigar a zona de colágeno exposto, Sano et al.¹⁶⁸ (1995), observaram uma nova modalidade de infiltração marginal denominada nanoinfiltração, estabelecida não por entre a parede cavitária e o material restaurador, mas por entre a camada de colágeno desmineralizado, sem ter sido envolvido pelos monômeros adesivos. Para tanto, foram utilizados terceiros molares humanos, não-irrompidos, extraídos, sobre os quais foram confeccionadas cavidades classe V, seguidas da aplicação de cinco sistemas adesivos diferentes: *All Bond 2 (Bisco)*, *Superbond C& B (Sun Medical)*; *Scotchbond Multi-Purpose (3M Dental Products)*, *Clearfil Liner Bond System (Kuraray)*; *KB-200* (experimental da *Kuraray*). A seguir, as cavidades foram restauradas com resina composta *Silux (3M Dental Products)*. Realizado o isolamento dos espécimes com exceção de 1mm ao redor das restaurações, estes foram imersos em

solução de nitrato de prata 3mol/L por 24h, lavados com água por 1min e imersos por 8h em solução fotoreveladora. Os resultados revelaram a penetração da prata através da dentina desmineralizada, com ou sem a formação de *gaps* em todos os espécimes. A infiltração ocorreu via poros nanométricos (20 a 100nm) abaixo da subsuperfície da interface adesiva, mesmo na ausência de fendas. Do maior para o menor nível de nanoinfiltração, os autores constataram: *All Bond 2* > *Superbond C & B* > *Scotchbond Multi-Purpose* > *Clearfil Liner Bond System* > *KB-200*.

Em 1995, Swift Junior et al.¹⁷⁸ estudaram a união ao esmalte e dentina, salientando as técnicas de condicionamento ácido e redução nos tempos de aplicação dos condicionadores; problemas na adesão à dentina e desenvolvimento dos adesivos dentinários com estudos *in vitro*; fatores clínicos que influem na adesão e as mais recentes aplicações dos sistemas adesivos clinicamente. Este trabalho relata uma revisão dos mecanismos de ação dos sistemas adesivos e dos problemas que impedem uma perfeita adesão ao tecido dentinário. A importância de estudos *in vitro* é discutida pelos autores, que segundo eles, são trabalhosos e detalhados, porém não refletem, em sua maioria, as condições clínicas. Os estudos de microinfiltração com corantes que, apresentam moléculas menores do que as bactérias, de acordo com os autores, sugerem que a microinfiltração é menor *in vivo* do que *in vitro*. Estudos *in vitro* devem considerar a necessidade de simulação da pressão pulpar e a presença de dentina esclerosada. Os autores concluíram que os avanços na tecnologia adesiva às estruturas dentais têm modificado a dentística restauradora radicalmente, conferindo adesão ao metal com aplicações inovadoras como adesão para restaurações de amálgama e núcleos. Todos esses avanços permitiram o advento de uma dentística restauradora caracterizada pela conservação de estruturas dentais, aperfeiçoando restaurações e acentuando a estética.

A adesão micromecânica por interdifusão é o mecanismo de adesão aceito por muitos pesquisadores. Com objetivo de examinar a micromorfologia da interface dentina-resina em dentina profunda (menos do que 0,5mm da polpa). Tay et al.¹⁹⁵ (1995) realizaram um estudo empregando sistema adesivo convencional (*All-Bond 2 / Bisco*) em oito dentes humanos que posteriormente foram indicados à extração por motivos ortodônticos. Os espécimes foram preparados para análise de perfis de adesão polidos e condicionados com ácido fosfórico a 10%, microscopia de luz e MEV. Os resultados evidenciaram camada híbrida de espessura entre 5 e 8µm, com presença de *tags* com prolongamentos laterais transversos na camada híbrida. Os *tags* apresentavam-se como uma continuação da resina no assoalho das cavidades, eram inicialmente sólidos e tinham formato afunilado. Estruturas fibrilares paralelas à orientação tubular estavam evidentes dentro do compartimento tubular. Assim, os autores concluem que o selamento apropriado de componentes celulares expostos dentro dos túbulos dentinários e da polpa com materiais biocompatíveis parece ser possível, necessitando de mais estudos para comprovar estes achados.

Yoshiyama et al.²³⁷ (1995), avaliaram a morfologia da interação adesiva entre dois sistemas adesivos e dentina superficial e profunda por meio de uma técnica inovadora denominada sanduíche-reversa, em MEV. A resistência adesiva foi medida através do teste de microtração. Foram usados dois sistemas adesivos (*All-Bond 2 – Bisco, IL, Usa* e *Imperva Bond – Shofu, Kyoto, Japan*), com e sem condicionamento ácido. Oito dentes foram utilizados para a microscopia (n=2). A primeira fatia removeu totalmente o esmalte oclusal. Em seguida, uma segunda fatia foi retirada com cerca de 1mm de espessura, referente à dentina superficial enquanto que uma terceira fatia foi removida da dentina profunda, também com cerca de 1mm de espessura. A camada superficial dos discos foi polida

com lixa 600 e foi tratada conforme as normas dos fabricantes dos respectivos sistemas adesivos e unidos, um ao outro, esta técnica foi denominada: sanduíche reverso. Esta técnica permite avaliar dentro de uma mesma amostra as duas profundidades de dentina e ao mesmo tempo reduz a variabilidade entre os dentes. Os espécimes foram armazenados por 24h em água a 37°C e fixados em solução de glutaraldeído (pH= 7,2) por 8h. A seguir os espécimes foram seccionados ao longo da interface adesiva e foram submetidos ao polimento com pastas diamantadas de 3µm e 1µm e então, condicionados com HCl 1mol/L por 15s para remover os debris do polimento e dissolver a dentina que não foi recoberta com resina. Após lavagem com água destilada, as amostras foram desidratadas em concentrações ascendentes de álcool até 100%, secas ao ponto crítico em aparelho CO₂, metalizadas em ouro e analisadas em MEV (JEOL JSM 6400, Tokio, Japão). Seis medidas aleatórias foram realizadas em cada interface para aferimento da espessura de camada híbrida e extensão de *tags*. Os resultados da MEV revelaram que a espessura da camada híbrida foi maior na dentina profunda (4-8µm) que na superficial (2-4µm). Quando o condicionamento não foi utilizado, a espessura da camada híbrida foi reduzida a 0,5µm para ambos os sistemas, em ambas as profundidades de dentina. A extensão dos *tags* foi maior em dentina profunda para ambos sistemas adesivos. A resistência adesiva da dentina superficial foi similar à da profunda e não mostrou diferenças significativas quando condicionada com ácido ou não (28 / 23MPa para o *All-Bond 2*; 26 / 19MPa para o *Imperva Bond*). Porém, em dentina profunda, o não condicionamento da superfície implicou em significativa redução na resistência adesiva (de 21 para 9MPa com o *All-Bond 2* e de 20 para 10MPa com o *Imperva Bond*). Os autores concluíram que o condicionamento ácido em dentina profunda afetou a espessura da camada híbrida, mas esta espessura não afetou

significativamente a resistência adesiva, sugerindo que a qualidade da camada híbrida é um fator mais importante a ser considerado em pesquisas futuras.

Após a desmineralização da dentina o colágeno perde seu suporte mineral que é substituído pela água proveniente do passo clínico de lavagem do ácido condicionante. Em seguida, a secagem deve ser cuidadosa para que não ocorra total evaporação desta água, colapsando, desta forma, a rede de colágeno. Se isto ocorrer, o espaço interfibrilar diminui, dificulta a penetração de monômeros resinosos e, conseqüentemente, forma uma camada híbrida de baixa qualidade. A importância deste passo clínico levou Carvalho et al.³¹ (1996) a pesquisarem a habilidade do HEMA em evitar a contração dentinária e em reexpandir o colágeno colapsado durante a secagem da dentina. Para tanto, quarenta discos dentinários (0,7 x 0,7 x 5,0mm) provenientes de terceiros molares humanos foram desmineralizados em solução 10/3 por 8h, padronizando-se a quantidade de colágeno desmineralizado a ser estudado, e foram, então, divididos em quatro grupos (n=10). Os grupos A e B foram destinados para o tratamento com água e 50% de HEMA e 100% de HEMA após o ressecamento da dentina. Os grupos C e D destinaram-se para o estudo da ação de 100% de HEMA e de 100% de etileno glicol antes da exposição ao ar por 24h, para secagem dentinária. Os resultados revelaram uma ação eficiente destas duas últimas substâncias em prevenir o colapso do colágeno durante a secagem da dentina. O ressecamento dos espécimes gerou uma contração volumétrica da ordem de 65,6%. Nos grupos A e B, tanto HEMA a 50% quanto HEMA a 100% não foram capazes de reexpandir totalmente o colágeno. HEMA a 50% restituiu 50% do volume inicial enquanto HEMA a 100% não foi capaz de reexpandi-lo. Somente a imersão em água por 24h foi eficaz na reexpansão total de colágeno. Segundo os autores, este estudo providenciou informações importantes sobre a contração máxima dentinária

durante a técnica adesiva.

Durante o processamento das amostras para MEV, ocorre uma contração das estruturas a serem avaliadas dependente dos reagentes utilizados nos passos laboratoriais. Com a preocupação de minimizar estes artefatos, Carvalho et al.³² (1996) avaliaram os efeitos da contração sobre a dentina desmineralizada variando três métodos de secagem na preparação das amostras, além de variar a prática de fixação dos espécimes. Para tanto, utilizaram discos de dentina obtidos de terceiros molares humanos que foram desmineralizados em solução de EDTA 0,5M contendo 0,05M de fenilmetilsulfonilfluoreto (pH 7) para prevenir a degradação enzimática do colágeno durante a desmineralização dentinária. A seguir, metade das amostras foram fixadas em solução de formalina 10% tamponada por 18h e todas foram desidratadas em acetona por 90min. Posteriormente, foram submetidas ao processo de secagem por ponto crítico, HMDS ou Peldri II. As extensões (largura, altura e espessura) dos espécimes foram verificadas em cada passo técnico, por meio de um micrômetro digital em um microscópio de dissecação e as mudanças no volume foram expressas em porcentagem do volume inicial da amostra desmineralizada. Esta mensuração foi realizada em ambiente aquoso para se garantir que os espécimes desmineralizados mantivessem-se hidratados e que o micrômetro não comprimissem a matriz de tecido colagenoso. A desidratação em acetona causou uma pequena, mas significativa redução no volume dos espécimes fixados com formalina, enquanto os espécimes não fixados sofreram mudanças não significantes em seu volume. Em geral, todos os métodos de secagem causaram alguma contração na dentina desmineralizada dos espécimes. As amostras não fixadas exibiram uma contração volumétrica de aproximadamente 15% a 20% após a secagem com qualquer um dos métodos. Os espécimes fixados contraíram mais do que os não-fixados após a secagem (25-35%). Independente da técnica de secagem empregada, os espécimes contraíram

de 10% a 20% quando submetidos à câmara de vácuo do MEV, onde se constatou uma menor contração para a técnica com HMDS. Com isso, os autores sugeriram que fossem realizados cálculos de correção para a verificação da contração real ocorrida após a preparação de amostras para MEV.

Ferrari & Davidson⁵⁹ (1996), avaliaram a formação da camada híbrida, de *tags* e extensões laterais de resina, com o uso de dois diferentes sistemas de adesão ao esmalte e à dentina, *Scotchbond Multipurpose* (3M Dental Products) e *Clearfil Liner Bond 2* (Kuraray) combinados com as resinas restauradoras correspondentes. As amostras *in vivo* foram realizadas em cinquenta pacientes voluntários, que possuíam um ou dois dentes posteriores vitalizados, comprometidos por doença periodontal e com indicação para extração. Grupo I: dez dentes foram selecionados para o estudo da formação da camada híbrida *in vivo* em fatias, de dentina vestibular obtidas com disco diamantado, sobre refrigeração. Cada sistema adesivo foi testado em cinco amostras. Os dentes foram extraídos imediatamente e armazenados por 1 a 2 semanas em solução aquosa com 0,5% de cloramine. Grupo II: os demais oito dentes foram usados para avaliar a presença da interconecção dos túbulos dentinários. Cavidades Classe II foram confeccionadas, receberam os sistemas adesivos e correspondentes resina compostas, pela técnica incremental, e extraídos imediatamente, colocados em uma solução de ácido hidrocloreídrico a 37% por dois dias, em seguida foram imersos em solução de hipoclorito de sódio a 5% por 2h. As amostras foram montadas em *stubs* de alumínio, metalizadas com ouro e observadas ao MEV. Os espécimes do Grupo I foram observados para detectar a presença e espessura da camada híbrida. Os espécimes tratados com *Scotchbond Multipurpose* exibiram uma zona de interdifusão resina-dentina de $4,2 \pm 1,7\mu\text{m}$ e os tratados com *Clearfil Liner*

Bond 2 revelaram uma camada entre dentina e resina de $1,65 \pm 0,9\mu\text{m}$. As amostras do Grupo II apresentaram a formação de *tag* com prolongamentos laterais para os dois tipos de sistemas adesivos. Alguns prolongamentos laterais tinham conexão com a dentina intertubular. Segundo os autores, a formação de camada híbrida e de *tags* de resina com prolongamentos laterais para os dois sistemas adesivos testados, pode aumentar a resistência de união e que sistemas autocondicionantes podem simplificar a rotina nas restaurações adesivas estéticas.

Ainda em 1996, Ferrari et al.⁶⁰ avaliaram a formação da camada híbrida, *tags* de resina e extensões laterais de resina, com o uso de três diferentes sistemas de adesão ao esmalte e dentina. As amostras *in vivo* foram realizadas em sessenta pacientes voluntários, em dentes posteriores vitalizados, comprometidos por doença periodontal e indicados para extração. Uma cavidade foi realizada na vestibular com ponta diamantada em alta-rotação e refrigerada por água. Os materiais testados foram: *Prime & Bond 2.0*, *Scotchbond Multi-Purpose Plus* e *Clearfil Liner Bond 2*. As amostras foram divididas em quatro grupos. Sendo eles: a) grupo 1 - *Prime & Bond 2.0*; b) grupo 2 - *Scotchbond MP Plus*; c) grupo 3 - *Clearfil Liner Bond 2*, com aplicação do *primer* autocondicionante por 30s em esmalte e dentina; d) grupo 4 - *Clearfil Liner Bond 2*, com aplicação do *primer* autocondicionante por 60s. Os dentes foram extraídos imediatamente após a polimerização do adesivo. Estes mesmos procedimentos foram executados em molares humanos extraídos para avaliação *in vitro*. Todas as amostras foram fraturadas em seu longo eixo e divididas em duas partes; metade foi usada para análise da camada híbrida e a outra para análise da morfologia dos *tags*, empregando-se o MEV. Pode ser visualizado que todos os sistemas avaliados formaram camada híbrida, nas amostras *in vivo* e *in vitro*, de morfologias semelhantes. Em algumas amostras dos grupos 1, 2 e 4, os *tags*

apresentavam forma de cones invertidos, com ramificações evidentes. Ao contrário, no grupo 3, os *tags* eram estreitos, nos orifícios dos túbulos e as ramificações eram escassas. O comprimento dos *tags* de resina observados nos grupos 1 e 2, foi maior do que o observado nos grupo 3 e 4. Os autores concluíram, baseando-se nos resultados que, o *Prime & Bond 2.0* e o *Scotchbond MP Plus* são efetivos clinicamente, quando aplicados de acordo com as instruções dos fabricantes e que, o *Clearfil Liner Bond 2* criou um entrelaçamento mais íntimo, quando aplicado pelo dobro do tempo recomendado pelo fabricante.

Gonçalves et al.⁷³ (1996), realizaram testes de resistência ao cisalhamento, para determinar se os mais recentes sistemas adesivos multi-uso poderiam ser utilizados com diferentes marcas de resina composta. A dentina de pré-molares humanos foi exposta através de lixas d'água de granulações 180, 400 e 600. As amostras foram divididas em três grupos: a) grupo 1 – *Scotchbond Multi-Usa* (3M); b) grupo 2 – *Optibond Light Cure* (Kerr); c) grupo 3 – *Optibond Dual Cure* (Kerr). Estes grupos foram subdivididos em subgrupos, nos quais foram empregadas as resinas compostas: Z100 (3M do Brasil), *Prisma APH* (Dentsply) e *Herculite XRV* (Kerr). Foi realizada ciclagem térmica e, após o armazenamento em água destilada a 37°C por 24h, o teste de cisalhamento foi realizado, seguido da análise em estereomicroscópio para avaliar o tipo de fratura e em MEV. Os resultados mostraram que o adesivo *Optibond Light Cure* produziu a maior média de resistência adesiva, seguida do *Scotchbond Multi-Usa* e do *Optibond Dual Cure*. Em relação à interação, adesivo/resina, os melhores resultados foram observados entre a resina Z100 e *Herculite XRV* com o adesivo *Optibond Light Cure* e entre a resina APH, com o adesivo *Scotchbond Multi-Usa*. O autor concluiu que o adesivo *Optibond Light Cure* apresentou a melhor resistência adesiva e que existe diferença na interação do adesivo com a resina.

Gwinnett et al.⁷⁶, em 1996, realizaram um estudo para determinar a contribuição da quantidade de colágeno da zona de hibridização, na resistência adesiva. Foram utilizados quarenta molares humanos estocados em cloramina a 0,5%, seccionados e desgastados com lixa de granulação 320, divididos em quatro grupos: o grupo 1 foi condicionado com ácido fosfórico 10% e recebeu o sistema adesivo *All-Bond 2 (Bisco)*; o grupo 2 foi condicionado com ácido cítrico, seguido da aplicação do adesivo *Amalgambond (Parkell)*; os grupos 3 e 4 foram submetidos à colagenase, após o condicionamento ácido e finalização com os sistemas adesivos *All-Bond 2* e *Amalgambond*. Os autores realizaram testes de resistência adesiva e observaram que não houve diferença, estatisticamente significativa, na resistência adesiva dos grupos. Análises em MEV mostraram alterações drásticas na superfície dentinária submetida a colagenase, com formação em extensão lateral, de *tags* resinosos. A MET não evidenciou a formação de camada híbrida para os grupos tratados com colagenase, mas não houve formação de *gaps*, nestas amostras. Com os resultados, os autores concluíram que a quantidade de colágeno na dentina desmineralizada não contribuiu, significativamente, nos resultados finais de resistência adesiva dos sistemas adesivos testados.

Kato & Nakabayashi⁸⁹, (1996), utilizaram dentina bovina para verificar o efeito da concentração do ácido fosfórico no umedecimento da dentina condicionada. A dentina bovina foi pré-tratada com ácido fosfórico a 10 e 35% por 30s. O sistema adesivo consistiu em 5% de 4-META em *primer* de acetona, e um agente de união fotopolimerizável, 4-META/TEGDMA-CQ/NPG. As forças de união foram medidas e os espécimes foram examinados com MEV. As melhores forças de união foram medidas quando o 4-META, *primer*/acetona foi aplicado para umedecer a dentina condicionada com ácido fosfórico a 10%, quando comparado com o condicionamento semelhante, em dentina seca. Porém, quando a dentina foi

condicionada com ácido fosfórico a 35%, não houve nenhuma diferença significativa em resistência à tração entre os espécimes, molhados e secos. A MEV das superfícies fraturadas revelou falhas adesivas na dentina desmineralizada. O exame microscópico destas superfícies indicou que a impregnação de resina era inadequada e que a camada híbrida estava defeituosa, nos espécimes que apresentaram fratura coesiva. Segundo os autores, estas observações sugerem que os canais entre as fibras de colágeno desnaturado, através do ácido fosfórico, foram difíceis de se preservar, a impregnação de monômero do adesivo neste substrato foi prejudicada em um número considerável de espécimes testados.

A caracterização das estruturas dentinárias, especialmente dos túbulos dentinários, é essencial para o conhecimento da permeabilidade dentinária e interpretação dos dados encontrados por pesquisadores de materiais adesivos. Com este objetivo Mjör & Nordhal¹⁰⁹ (1996) examinaram a densidade e os prolongamentos laterais dos túbulos dentinários, em dentina humana através de microscopia de luz e MEV. Os autores empregaram secções desmineralizadas, com uso de corante para microscópio de luz, e espécimes fraturados de dentina sem desmineralização. Cincoenta e oito dentes humanos foram destinados à análise ao microscópio de luz, nove foram destinados à MEV e treze dentes foram utilizados para a observação da densidade dos túbulos em três diferentes níveis e em oito localizações diferentes. Diferenças na densidade entre dentina superficial e profunda foram mais evidentes na dentina da coroa do que na raiz. A média da densidade dos túbulos na porção média da raiz foi significativamente menor do que na porção média da coroa. A densidade dos túbulos em dentina superficial próximos às cúspides foi significativamente diferente do que a subjacente à do sulco oclusal. O número de prolongamentos laterais foi abundante em locais onde a densidade tubular era menor. Estes prolongamentos revelaram uma

sistemática anastomose, atravessando a dentina intertubular. Os autores identificaram três tipos de prolongamentos, maior, fino e *microtags*, com base em tamanho, direção e localização. Prolongamentos maiores (0,5 – 1,0 μ m) foram observados na periferia, finos (300 – 700nm) que se bifurcavam em 45°, abundantes em áreas onde a densidade de túbulos era relativamente menor, como na raiz. *Microtags* (25-200nm) estenderam-se em diversas partes da dentina. Os autores concluíram que o conhecimento destas características detalhadas da estrutura da dentina é importante para compreender o modo de empregá-la em testes de adesão.

Com o objetivo de avaliar a confiabilidade da adesão de adesivos autocondicionantes na dentina intacta, i.e., livre de *smear layer*, Nakabayashi & Saimi¹¹³ (1996) desenvolveram este estudo. Para tanto, incisivos bovinos tiveram suas superfícies de esmalte removidas com disco de lixa de granulação 180 até que houvesse a exposição de dentina. As superfícies de dentina obtidas foram polidas com uma pasta de hidroxiapatita por 30s e foram, na sequência, submetidas à limpeza ultra-sônica por 30min em água deionizada, com o intuito de remover *smear layer* e *smear plugs*. Em seguida 10 μ l de *primer* foi aplicado a superfície dentinária por 0, 30 e 60s. Este *primer* possui em sua composição 20% de Phenyl-P, um monômero resinoso de características ácidas, e 30% de HEMA. No primeiro grupo aplicou-se a camada de adesivo sem a aplicação prévia de *primer*. No segundo e terceiro grupos, os tempos de ação do primer ácido foram de 30s e 60s, respectivamente. Em seguida, incrementos de resina composta foram polimerizados sobre os espécimes e foi aplicado teste de resitência adesiva a tração. Adicionalmente nove interfaces adesivas foram seccionadas longitudinalmente com disco diamantado, obtendo-se duas metades de cada espécime. Estas metades foram então polidas em lixa 600 com partículas de alumina de 0.05 μ m. Assim, houve a variação de três tempos de aplicação do

primer (0, 30 e 60s), sendo três amostras para cada grupo, de forma que cada amostra foi dividida em duas, analisando-se, desta forma, seis espécimes em cada grupo. Após este primeiro polimento, os espécimes foram secos em temperatura ambiente, e em seguida, foram dessecados em vácuo por 24h, e na seqüência, metalizados em ouro para observação em MEV. Após o registro das imagens em várias magnificações, as amostras foram colocadas em água para reidratação por 8h. A cobertura com ouro foi removida pelo polimento com partículas de alumina de tamanho $0,05\mu\text{m}$ e as amostras foram submersas em HCl 6mol/L por 30s para que houvesse a dissolução de qualquer componente mineral não envolvido pela resina. Este procedimento aumenta o contraste entre dentina infiltrada por resina e dentina não-infiltrada por resina, otimizando a observação ao MEV. Estas amostras foram então tratadas como descrito acima para possibilitar a observação no MEV. Realizadas as fotografias, as amostras foram novamente polidas e reidratadas, como já descrito, e submetidas a ação de HCl por 30s, lavadas com água, imersas em NaOCl a 1% por 1h e, finalmente, lavadas com água. Este último tratamento remove a matriz de dentina desmineralizada que foi exposta pelo HCl, permitindo uma clara visualização da camada híbrida e dos *tags* resinosos, procedimento de rotina desde 1992 nos laboratórios dos autores. Também foi realizada a visualização em MET. Dentro dos resultados foi verificada uma relação diretamente proporcional entre resistência adesiva, tempo de aplicação do *primer* e espessura de camada híbrida. A resistência adesiva não apresentou diferença significativa para os tempos 30 e 60s, mas sim entre o grupo zero segundo e os outros grupos. Com relação a espessura da camada híbrida, houve diferença estatística entre os três grupos, variando $0.3 \pm 0.2\mu\text{m}$ para 0s, $2.1 \pm 0.3\mu\text{m}$ para 30s e $4.1 \pm 0.2\mu\text{m}$ para 60s. Esta observação ressalta a falta de relação existente entre espessura da camada híbrida e resistência

adesiva, já que para 60s houve um aumento da espessura da camada híbrida, mas, não houve aumento significativo da resistência adesiva para este grupo. Os autores relataram uma alta resistência ao desafio ácido-base para as interfaces adesivas formadas pelo *primer* aplicado em 30s e em 60s. Esta evidência laboratorial revela, segundo os autores, uma formação de camada híbrida estável e, sobretudo de alta qualidade que pode ser extrapolada para uma situação clínica de resistência a cárie recorrente e a sensibilidade pós-operatória.

Perdigão et al.¹⁴¹ (1996) testaram a hipótese de que o uso de diferentes agentes condicionadores poderia resultar em profundidades de desmineralização semelhantes. Este estudo avaliou a ação de seis variações do ácido fosfórico na profundidade de desmineralização e na superfície da dentina humana. Foram empregados duas concentrações ácidas (10% e 32-37%) e dois tipos de agentes espessantes (sílica e polímero). Para tanto, 30 discos dentinários obtidos de terceiros molares humanos hígidos foram recobertos com duas camadas de verniz na base do disco e uma esplintagem transversal foi realizada para facilitar a fratura e posterior observação do perfil dentinário. A *smear layer* foi produzida na superfície tratada com disco de lixa 600 por 60s e os espécimes foram divididos em seis grupos (n=5) e submetidos aos seguintes tratamentos: a) ácido fosfórico a 10% sem espessante (grupo experimental)/ pH= 0,48; b) ácido fosfórico a 10% espessado com sílica/ pH= 1,31 (*Ultradent*); c) ácido fosfórico a 10% espessado com polímero/ pH= 0,48 (*Bisco*); d) ácido fosfórico a 37% sem espessante (experimental)/ pH= 0,43; e) ácido fosfórico a 35% espessado com sílica/ pH= 0,02 (*Ultradent*); f) ácido fosfórico a 32% espessado com polímero/ pH= 0,17 (*Bisco*). O condicionamento foi realizado por 15s, sucedido por lavagem com *spray* de água por 10s e secagem com breve *spray* de ar por 1 a 2s. Em seguida, os espécimes foram fixados em glutaraldeído a 2,5% por 12h, lavados em 20mL de solução de cacodilato de

sódio 0,2M, pH= 7,4 por 1h com três trocas, seguida de uma última lavagem com água destilada por 1min; desidratados em etanol (25%) por 20min, 50% por 20min, 75% por 20min, 95% por 30min e 100% (por 60min), secos em HMDS por 10min, colocados em filtro de papel e deixados para secagem final em temperatura ambiente. Após a secagem os espécimes foram fraturados, montados em *stubs*, metalizados e observados em MEV-EC. Após a fratura, cada metade do espécime foi destinada para avaliação longitudinal ou transversal dos túbulos. A aparência morfológica baseou-se nas seguintes observações: a) aspecto da dentina peritubular vista por dentro e por fora do túbulo, b) espessura da camada de colágeno residual, de restos de *smear layer* ou de espessante em uma vista lateral. Desta observação foram atribuídas três categorias: a) espessa, quando o material residual claramente obstruiu a dentina intertubular; b) fina, quando a dentina intertubular foi parcialmente descoberta; c) ausente, quando nenhuma camada residual foi detectada; d) formação de um hiato entre a base da camada de colágeno exposto e a dentina intacta. A obtenção do pH dos agentes condicionantes foi realizada com dois medidores, foi estabelecida uma relação entre estes valores e as maiores profundidades obtidas na desmineralização intertubular dentinária. A média dos valores de profundidade de desmineralização e as medidas de desvio padrão foram os seguintes (em μm): grupo 1- $2,44 \pm 0,5$; grupo 2- $1,30 \pm 0,28$; grupo 3- $2,70 \pm 0,54$; grupo 4- $3,9 \pm 1,03$; grupo 5- $1,60 \pm 0,14$; grupo 6- $4,02 \pm 0,75$. ANOVA de dois fatores revelou uma diferença estatística significativa nas médias de profundidade de desmineralização baseadas em dois fatores: concentração de ácido (10% *versus* 32-37%) e viscosidade do gel (sem espessante, sílica ou polímero), embora as interações não tenham sido significativas. ANOVA de um fator revelou uma diferença significativa com relação à profundidade de desmineralização para os seis agentes condicionantes utilizados. O teste

de *Duncan* foi aplicado para verificar e classificar a diferença entre os grupos, encontrando significativa diferença entre eles. A hipótese inicial foi, portanto, rejeitada. Diferentes concentrações de ácido com diferentes tipos de espessantes geraram medidas distintas na profundidade de desmineralização e resultaram em importantes diferenças na morfologia da dentina condicionada. Segundo os autores, os valores máximos de desmineralização podem ser subestimados. Primeiro, pela região que foi removida pelo ácido que não pôde ser medida, a menos que fosse colocada uma camada de verniz sobre a região não tratada. Por exemplo, sabe-se que a penetração de ácido pode atingir uma profundidade de cerca de 8 μ m enquanto que, geralmente observa-se uma espessura de 4 μ m. Em segundo lugar, há uma contração causada pelo processamento de amostras para a MEV. Segundo os resultados morfológicos, para o grupo de maior pH (1,31 / ácido fosfórico a 10%), foi encontrado a menor medida de desmineralização dentinária. Quanto maior a acidez do agente condicionante, maior a possibilidade de se obter padrão tubular afunilado, com exceção do grupo 5 (ácido fosfórico a 37% espessado com sílica) que resultou em um padrão pouco afunilado e do grupo 4 (ácido fosfórico a 10% espessado com polímero), apresentando um padrão definitivamente afunilado. Somente cinco espécimes não apresentaram hiato entre a base da camada de desmineralização e a dentina intacta. Uma camada superficial residual ao condicionamento ácido foi observada em todos os espécimes dos grupos 1, 3, 4 e 6, enquanto que para os grupos 2 e 5 a presença de partículas de sílica foi marcante.

Perdigão et al.¹⁴² (1996) investigaram a interação de seis sistemas adesivos experimentais e comerciais (*One-Step*, *Clerfil Liner Bond 2*, *Optibond*, *Permagen* com ácido fosfórico a 10%, *Permagen* com ácido fosfórico a 35% e *Prime & Bond*) em dentina *in vivo*. Foram utilizados pré-

molares indicados para extração ortodôntica, nos quais foram realizados preparos classe I, restaurados com resina composta auto ou fotopolimerizável. Após 5 minutos da polimerização resinosa, os dentes foram extraídos e fixados em glutaraldeído a 2,5% em uma solução 0,1M de cacodilato de sódio tamponado, pH 7,4, por 12 h a 4°C. Posteriormente à fixação, os espécimes foram lavados com 20mL de solução de cacodilato de sódio tamponada por 1h com três trocas seguidas de lavagem com água destilada por 1min. Em seguida, os espécimes foram desidratados em concentrações ascendentes de etanol (25% por 20min, 50% por 20min, 75% por 20min, 95% por 30min e 100% por 60min), secos em solução de hexametildisilazano (HMDS) por 10min, colocados sobre um funil de vidro contendo um filtro de papel, secos em temperatura ambiente, seccionados e processados para exame em MEV-EC. Embora alguns sistemas tenham produzido interfaces intactas (*gap-free*) em espécimes específicos, todos eles mostraram uma desadaptação entre a camada híbrida e a resina fluida colocada sobre ela. Estas imagens revelaram uma penetração deficiente na região desmineralizada da dentina tratada com Mirage Bond. Observou-se que a presença de bolhas de ar e/ou camadas espessas da resina fluida polimerizada resultaram em áreas de separação da interface dentina-resina menos freqüentes, associando este fato ao conceito de camada adesiva elástica. Os autores sugeriram a realização de mais estudos ultramorfológicos para desvendar o que ocorre nas áreas de fendas entre substrato dentinário e entre as variadas possibilidades químicas contidas nos sistemas adesivos.

Um estudo para investigar as diferenças micromorfológicas da dentina, geradas pelas técnicas adesivas à dentina seca e úmida, foi desenvolvido por Tay et al.¹⁹⁶ (1996). Foram utilizados 24 terceiros molares humanos íntegros, divididos em dois grupos: um que permaneceu visivelmente úmido após a lavagem do ácido fosfórico 10% (secagem

apenas com papel de filtro); e outro que recebeu secagem excessiva com jato de ar por 30s. A análise em MEV e MET revelou a formação de ampla camada híbrida (5 μ m) para o grupo úmido, com a visualização de uma banda de colágeno e espaços interfibrilares. O grupo que teve a dentina excessivamente seca apresentou fina camada híbrida (1-2 μ m) na dentina inter e peritubular. A ausência de uma banda de colágeno e espaços interfibrilares sugeriu o colapso da matriz dentinária, que restringiu a penetração da resina, produzindo uma zona incompletamente infiltrada, denominada região híbridoide.

Tay et al.¹⁹² (1996), realizaram um trabalho para ilustrar a dentina e a micromorfologia da interface resina-dentina, quando foram utilizados dois sistemas adesivos de frasco único, sem água e com acetona (*One-Step - Bisco* e *Prime&Bond - Dentsply*), aplicados à dentina condicionada por ácido, sobre diferente secagem e condições de adesão úmida. Utilizaram terceiros molares humanos extraídos, estocados em cloramina por um mês, dos quais foram realizados quarenta e oito discos de dentina de 1,0 ou 1,5mm de espessura que foram condicionados com ácido fosfórico a 10% e enxaguados por 20s. Eles foram divididos aleatoriamente em quatro grupos, de acordo com o remanescente de umidade superficial: grupo I (30s de secagem); grupo II (3s de secagem); grupo III (secagem com papel) e grupo IV (reumedecimento). Pares de discos de dentina submetidos à adesão foram desmineralizados em EDTA e embutidos em resina epóxica para exame ao MET. A micromorfologia dos dois sistemas de união foi, essencialmente, semelhante. Ambas foram afetadas até mesmo pela secagem moderada (3s), o que resultou em uma infiltração incompleta da resina nos túbulos. A melhor infiltração de resina foi alcançada quando a rede de colágeno foi mantida úmida, aparentemente não afetada pela presença de umidade excessiva da superfície. Por outro lado, a infiltração intratubular da resina foi severamente comprometida na presença de água

em excesso dentro dos túbulos de dentina e em seus orifícios na superfície de dentina. Não houve continuidade da camada de resina; formaram-se espaços como bolhas na superfície de dentina e foram achados glóbulos de resina ao redor do orifício tubular e na superfície da camada híbrida. Além disso, um complexo padrão de separação de fases foi observado no grupo que recebeu o *Prime & Bond*, caracterizado através da inversão de fase na presença de umidade de superfície. Segundo os autores, uma ótima integridade da interface para os sistemas estudados pareceu depender da manutenção da umidade da rede de colágeno desmineralizado, junto com a evaporação completa do excesso do *primer* e deslocamento de água dos tecidos antes de fotopolimerizar o *primer*.

Ainda em 1996, Tay et al.¹⁹¹ avaliaram o efeito da hidratação excessiva da superfície dentinária, condicionada por ácido previamente à aplicação de um adesivo à base de acetona. Discos de dentina foram obtidos de molares humanos e divididos em grupos, conforme a hidratação superficial após o condicionamento ácido: a) dentina seca com jato de ar por três segundos; b) dentina visivelmente úmida; c) dentina excessivamente úmida pela adição de 40ml de água destilada previamente à aplicação do adesivo. Embora a camada híbrida tenha sido observada em todos os grupos, foram detectadas falhas seqüenciais ao longo da interface adesiva, além da perda de um efetivo selamento tubular, conforme o aumento da umidade superficial. No grupo a foram observados entre curtos *tags* de resina glóbulos de resina intratubular. Pequenas bolhas incluídas dentro da camada de resina, adjacentes à camada híbrida, foram encontradas no grupo b, aumentando em número e tamanho no grupo c. Tais defeitos podem explicar a redução na resistência adesiva na presença de umidade associada com adesivos baseados em acetona. Os túbulos incompletamente selados, com a presença de bolhas, poderiam ser a explicação para o fenômeno de sensibilidade pós-operatória reportados, em especial, para este tipo de

sistema adesivo, já que estes espaços representariam uma via para a movimentação hidrodinâmica de fluidos.

Tonami et al.²⁰⁷, em 1996, realizaram um estudo para avaliar os efeitos das condições de estocagem na resistência ao cisalhamento da dentina bovina. Foram utilizados sessenta incisivos extraídos imediatamente após o abate dos animais, e divididos em quatro grupos: controle (0h após a extração); armazenamento em *freezer* por uma semana; armazenamento por quatro semanas em *freezer*; 45min em água fervente. Foi utilizada uma máquina Instron para a realização dos testes e os resultados foram expressos em MPa. Não foi verificada diferença significativa entre os grupos controle, uma e quatro semanas em *freezer* (77, 78 e 79MPa). Para o grupo submetido à água fervente, houve uma diminuição na resistência adesiva (70MPa). O autor concluiu que o armazenamento em *freezer* pode ser indicado para manter a integridade do tecido dentinário bovino, para a realização de testes *in vitro*.

A resistência adesiva regional de três sistemas adesivos (*All-Bond 2 – Bisco*, *Clearfil liner Bond 2 – Kuraray*, e *Scotchbond Multi-Purpose Plus – 3M*) foi mensurada em lesões naturais ou criadas artificialmente por Yoshiyama et al.²³⁸ (1996). Como controle, foram considerados dentes hígidos sobre os quais foram preparadas cavidades cervicais com o formato de defeitos, com instrumento cortante rotatório. O teste de microtração foi aplicado nas margens oclusais e gengivais das lesões, não apresentando diferença estatística entre as regiões, embora as lesões naturais, tenham apresentado valores médios inferiores (20% a 40%), em relação às lesões escleróticas artificiais. A camada híbrida foi mais espessa na gengival do que na oclusal, sendo muito delgada para o *Clearfil* (0,5µm em lesões naturalmente escleróticas e 1µm em lesões artificiais). O exame em MEV revelou que o *Clearfil Liner Bond 2* criou camadas híbridas de menores espessuras, as quais foram muito difíceis de mensurar em lesões

escleróticas naturais. Os autores concluíram que, embora o desempenho destes adesivos tenha sido inferior em dentina esclerótica, os valores absolutos (16 a 17MPa) foram superiores aos sistemas utilizados previamente a estes.

Boschian et al.¹⁴ (1997), realizaram um estudo para avaliar o efeito do NaOCl na superfície dentinária e determinar a influência na formação da camada híbrida e na resistência adesiva. Foram utilizados dentes bovinos, desgastados para a obtenção de discos com lixas de granulação 600, e divididos em três grupos de acordo com o tratamento: a) seguindo instruções do fabricante (MI); b) ácido fosfórico a 37%, NaOCl a 10% (60s), *primer* e adesivo (AD+P); c) ácido fosfórico a 37%, NaOCl a 10% (60s) e adesivo (AD+E). Os grupos foram restaurados usando Scotchbond Multi Purpose Plus (SMP), *Clearfil Liner Bond 2* (LB2), One Step (OS) ou *Clearfil Photobond* (controle). Foi usada a MEV para avaliar a interface resina/dentina. Foi realizado teste de resistência à tração a uma velocidade de 2mm./min., e os resultados foram expressos em MPa \pm DP (n=10). Os autores observaram que, com exceção do grupo controle, o tratamento com NaOCl aumentou significativamente a resistência adesiva sem mostrar, porém, a formação de camada híbrida típica. Segundo os autores, este estudo sugere que a camada híbrida nem sempre é de fundamental importância para uma resistência adesiva alta.

Com objetivo de verificar a influência da diluição de ácidos no condicionamento da dentina, reduzindo o grau e a profundidade da desmineralização e posterior penetração de monômeros adesivos, Chan et al.³⁷ (1997) utilizaram três diferentes diluições de ácido fosfórico e maleico, sobre dentina bovina e analisaram também a influência do tempo sobre a manutenção da resistência adesiva. A superfície de dentina bovina foi preparada com lixa de granulação 600 umedecida em água. Grupos de dez

dentos foram condicionados em diferentes diluições de ácido fosfórico e maleico. Foi usado o *Scotchbond Multipurpose System* (3M Co.) e a técnica de adesão úmida nas superfícies condicionadas que receberam o *primer* e uma resina sem carga. Um cilindro de resina Z 100 (3M Co.) foi fotopolimerizado na superfície de dentina. As amostras foram armazenadas em água por 24h ou 180 dias antes da realização dos testes de resistência adesiva ao cisalhamento. Baseados nos resultados obtidos, os autores concluíram que alta resistência adesiva foi observada usando ácidos mais diluídos do que as recomendadas pelos fabricantes, e que soluções aquosas produzem maiores valores de resistência adesiva que gel. A resistência adesiva, em curtos períodos, foi semelhante para os dois tipos de condicionadores, mas após 180 dias aquelas produzidas por ácido maleico foram significativamente maiores. Especularam que a solubilidade dos produtos de reação decorrentes dos condicionadores pode ser um fator de influência. Observaram também que o ácido fosfórico não é o condicionador de preferência para o sistema *Scotchbond Multi-Purpose*, sendo que o ácido maleico parece ser ideal para condicionamento neste sistema, para a manutenção da resistência adesiva por longos períodos.

O sucesso clínico das restaurações de resina composta depende do selamento efetivo dos túbulos dentinários através dos sistemas adesivos e de sua capacidade de se unir à resina composta, prevenindo a sensibilidade pós-operatória, por meio de uma união durável. Com o objetivo de avaliar o efeito do NaOCl a 5% sobre a dentina condicionada com ácido fosfórico, Vargas et al.²²⁵ (1997) realizaram um trabalho em que se observou em MEV a interface dentina-resina. Empregaram 28 terceiros molares humanos, cuja superfície oclusal foi polida com lixas de granulação 600. Os dentes foram divididos em quatro grupos, aleatoriamente (n=14). Os dados coletados foram submetidos à análise estatística ANOVA e teste de comparações múltiplas de *Duncan*. No grupo em que a dentina foi

condicionada com ácido fosfórico 37% seguida de aplicação de adesivo *Scotchbond Multipurpose* (SBMP), observou-se uma camada híbrida distinta de 2µm de espessura com fibras colágenas impregnadas por resina e ausência de *gaps* entre resina e dentina. Houve também penetração de *tags* resinosos nos túbulos e penetração parcial nas anastomoses tubulares. No grupo em que foi utilizado o adesivo *All-Bond 2*, os resultados foram semelhantes, mas a penetração resinosa nas anastomoses tubulares não foi tão evidente. A conclusão deste trabalho foi que a camada de fibras colágenas não é crucial para o mecanismo de adesão entre resina e dentina e que a adesão durável deve ser facilitada pela remoção desta camada colágena, permitindo difusão resinosa mais completa na dentina parcialmente desmineralizada. O pré-tratamento ideal da superfície dentinária ainda tem que ser determinado para manter a integridade adesiva da dentina à resina.

Tay et al.¹⁹³ (1998), avaliaram a micromorfologia da dentina condicionada seguido da aplicação de um sistema adesivo baseado em água. Para isso, vinte e oito discos de dentina de 1mm de espessura foram condicionados com ácido maléico a 10% por 15s. Destes, 24 discos foram aleatoriamente divididos em quatro grupos, variando-se a umidade superficial após o condicionamento ácido: a) grupo I - 30s de secagem; b) grupo II - 3s de secagem; c) grupo III - umidade visível; d) grupo IV - demasiadamente úmido. Em seguida, o sistema adesivo utilizado foi o *Scotchbond Multi-Purpose*. Os quatro discos restantes foram testados com um *primer* experimental contendo 35% de volume de HEMA (grupo V). Posteriormente, pares de lâminas obtidos dos discos de dentina foram preparados para o exame em MET. Em todos os grupos foi verificada a presença do copolímero do ácido polialcenóico, componente do *primer*, na região da camada híbrida. A subsuperfície desta camada, no entanto, mostrou-se variável. No primeiro grupo foi detectado o colapso das fibras colágenas. Nos grupos II e III,

observou-se uma região elétron-densa nos espaços interfibrilares. Já no grupo IV, detectou-se a diluição dos componentes do *primer*, representada pela observação de difusão gradiente. Além disso, também foram invariavelmente observados glóbulos elétron-lúcidos no interior da fase elétron-densa do *primer*, independente da hidratação conferida ao grupo. Esta fase elétron-densa foi ausente no grupo no qual o HEMA foi utilizado sozinho como *primer*, revelando sua ação de reversibilidade da expansão de colágeno mesmo após seu colapso causado por uma secagem excessiva. Os autores concluíram que com o uso dos adesivos à base de água, uma breve secagem da dentina condicionada com ácido permite que a água do *primer* hidrate novamente a matriz de colágeno colapsado, sem o risco da incompleta hibridização ou selamento tubular ao longo da interface resina-dentina, entretanto é necessário treinamento para minimizar a diluição do componente solúvel em água do *primer*.

Para examinar o efeito de vários métodos de estocagem na resistência ao cisalhamento de resina composta à dentina bovina, Titley et al.²⁰³ (1998), realizaram um trabalho onde foram usados dentes frescos divididos em grupos de dez e armazenados por dois meses seguindo os seguintes métodos testados: água destilada; formalina tamponada; hipoclorito de sódio; cloramina T; homofix; timol, metanol, irradiação, glutaraldeído, congelamento em água destilada. Dentes frescos foram usados como controle. Terminado o período de estocagem, os dentes foram embutidos em resina acrílica, em um molde de 2,5 X 2,0mm, mantidos em água por duas horas até a aplicação de resina. Os dentes foram preparados pelo desgaste do esmalte e expondo-se a dentina com lixa de granulação 600. A camada superficial de dentina foi empregada no teste. A dentina foi condicionada com ácido maleico a 10% por 15s e lavada com água destilada por 60s. Após a aplicação do sistema adesivo *Scotchbond Multi-Purpose* os dentes receberam a resina composta Z100 com auxílio de um cilindro. Foram

realizados os testes de resistência ao cisalhamento. Os resultados mostraram que: sete dos onze métodos tiveram resultados semelhantes em resistência adesiva e falha de adesão; irradiação ou estocagem em timol, metanol e glutaraldeído exibiram resistência adesiva significativamente menor e falha de adesão atípica, indicando que estes devam ser os últimos métodos usados em armazenamento de dentes para estudos deste tipo. Os autores concluíram que: um número insuficiente de dentes frescos está disponível para estudos de resistência e congelamento é o método preferido de armazenamento para o registro de resistências altas; são necessárias investigações adicionais para examinar que tipos de alterações acontecem na dentina após a extração, se estas alterações são modificadas por condições de armazenamento e se tem efeito significativo na união de resinas compostas.

Carvalho et al.³³ (1999) realizaram um estudo da resistência à tração em função da orientação (perpendicular e paralela à orientação dos túbulos) e densidade dos túbulos dentinários. Foram utilizados trinta molares humanos seccionados em fatias de 0,7mm e área de corte de 0,5mm², oclusal e proximal. O efeito da densidade dos túbulos foi verificado por variação em dentina superficial, média e profunda. Após o teste, a área fraturada foi analisada ao MEV para calcular a densidade tubular. A resistência adesiva à microtração foi analisada usando teste T e regressão linear. Os autores observaram que houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre as amostras testadas com túbulos paralelos ($n=20, 57,6 \pm 11,0$) e corte perpendicular ($n=20, 80,0 \pm 13,6$). A regressão linear mostrou não existir correlação significativa entre resistência à tração e densidade tubular. Segundo os autores os resultados sugerem que a resistência à tração da dentina depende da direção da força aplicada, mas não da densidade dos túbulos (profundidade) na área de fratura.

Ainda em 1999, Carvalho et al.³⁴ revisaram os fatores que influenciam a difusão de resina através da matriz de dentina desmineralizada, discutindo aspectos como umidade superficial e presença da camada de *smear*, porosidades dentro da camada híbrida e as conseqüências de uma pobre infiltração resinosa. Dentre as principais conclusões, foi destacado que a formação de uma *smear layer* de colágeno após o condicionamento ácido e a secagem com ar podem ser fatores limitantes à infiltração de resina na dentina, acarretando a formação de uma camada híbrida não-uniforme e, conseqüentemente, uma adesão à dentina não homogênea sendo, portanto, desfavorável. Esta infiltração deficiente foi considerada responsável pela ocorrência da nanoinfiltração em margens seladas ou *gap-free*, sendo que a relevância clínica deste fenômeno na durabilidade da adesão e do selamento ainda não está totalmente elucidada.

Com o objetivo de avaliar o efeito de dois *primers* comerciais e água destilada na morfologia, composição molecular e conformação do colágeno da dentina desmineralizada por ácido, Eliades et al.⁵⁶, em 1999, empregaram espécimes de dentina condicionados com *Scotchbond Etchant*, que foram analisados por espectroscopia. As superfícies receberam *Scotchbond Multi-Purpose Plus Primer*, *Scotchbond 1 Adhesive* ou água destilada e a análise por espectroscopia foi realizada, novamente. Foram estudadas as modificações químicas induzidas na camada superior da dentina preparada, de espessura de 2 μ m, após a subtração da água e *primer* originais. Os autores observaram que, todos os tratamentos reexpandiram o colágeno da dentina, colapsado e partido após o condicionamento. Nenhuma evidência de união primária foi encontrada após os tratamentos, enquanto aproximadamente 50% do colágeno da dentina condicionada aparentemente desnaturado. O tratamento com água destilada não mudou o estado de colágeno desnaturado, porém, aplicação do *primer* devolveu a estrutura α -

hélice em aproximadamente 95% da extensão da superfície de dentina de referência. A resposta dinâmica do colágeno da dentina para desmineralização e pré-tratamentos, revela o papel crítico de alguns *primers* em restabelecer, rapidamente, o estado de conformação do colágeno desnaturado por ácido. Implementação de grupos reativos nos adesivos para a recuperação da estrutura α -hélice podem prover meios associativos para modificar as propriedades mecânicas do colágeno desmineralizado, baseado na extensão de sua união intermolecular.

Com o objetivo de avaliar os efeitos do pré-tratamento da dentina com irradiação a laser, condicionamento ácido e hipermineralização na resistência adesiva ao cisalhamento do agente de união *Scotchbond Multi-Use Plus (3M)*, Gonçalves et al.⁷² (1999), realizaram este estudo. Para tanto, utilizaram superfícies dentinárias vestibulares de incisivos bovinos divididas em dois grupos: controle, armazenado em água destilada até o experimento e; hipermineralizado, imerso em solução mineralizante por 14 dias. Cada um destes grupos foi subdividido em três grupos, de acordo com o pré-tratamento da dentina: segundo normas do fabricante - F (condicionamento ácido + *primer* + adesivo); AL, condicionamento ácido + *primer* + adesivo + laser e LA, laser + condicionamento ácido + *primer* + adesivo. Após a inserção dos cilindros de resina composta, procedeu-se o teste de resistência adesiva. Os resultados demonstraram que o pré-tratamento da dentina com laser após a aplicação do sistema adesivo, grupo AL, foi promissor na criação de um novo substrato, originando os maiores valores de resistência adesiva.

Com objetivo de desmistificar a microscopia eletrônica e sua instrumentação, democratizando sua utilização e permitindo o acesso aos equipamentos de pesquisadores empenhados em se habilitar para manipular estes instrumentos, Kitajima & Leite⁹⁰ (1999) desenvolveram um curso

introdutório à MEV que passou a habilitar estes pesquisadores, desenvolveram uma apostila ditática que traz informações muito importantes para que o pesquisador adquira conhecimentos básicos de óptica eletrônica, interação elétron/átomo, constituição do MEV, preparo de amostras e emprego da MEV e obtenção de imagens de diversos tipos de amostras:

“Quando um feixe de elétrons incide sobre a superfície da amostras, ocorrem os seguintes fenômenos: 1) se o espécime for suficientemente delgado, parte do feixe poderá atravessá-lo e teremos os elétrons transmitidos; se o espécime for cristalino, com estruturas periódicas, estes elétrons podem gerar imagens difratadas; 2) se a superfície da amostra for condutora, parte dos elétrons poderá ser absorvida e originar uma corrente, ou força eletromotriz; 3) dependendo da substância que forma a amostra, ela poderá, sob o bombardeio de elétrons, ter seus átomos excitados e emitir fótons (luz) e o fenômeno é conhecido como catodoluminescência ou em outros termos, fluorescência; 4) parte dos elétrons podem ricochetear na superfície da amostra, sem perder energia temos, então, os elétrons retroespalhados, que podem ser coletados e gerar imagens; 5) parte dos elétrons incidentes, primários, pode ser retida nos átomos da amostra com que se chocam deslocando simultaneamente elétrons da órbita deste átomo que seriam ejetados, referidos como elétrons secundários e são utilizados no MEV para gerar imagens; 6) quando há emissão de elétrons secundários, ocorre no átomo que os gerou, um desbalanço energético, pois os elétrons secundários tem nível de energia mais baixo que os primários. Esta diferença de energia é dissipada em forma de raio X...O MEV destina-se basicamente ao exame de superfície das amostras (pode-se observar superfícies internas da amostra se fraturadas e expostas), utilizando-se principalmente os elétrons secundários. Para obter imagens empregando elétrons secundários, o MEV acha-se assim constituído: 1) Canhão eletrônico – dispositivo que gera o feixe de elétrons. O mais comum utiliza-se de um filamento de tungstênio em forma de V, contido dentro de um cilindro metálico dotado de um orifício na parte inferior. O filamento é aquecido com uma corrente auxiliar resultando na excitação dos átomos de tungstênio que liberam seus elétrons, em um processo conhecido como emissão termoiônica. Isto, porém não confere aos elétrons energia suficiente para gerar um feixe, o que é obtido aplicando-se ao filamento uma voltagem negativa elevada (1 a 40 KV). Isto faz com que os elétrons sejam violentamente repelidos e produzindo um fluxo contínuo que sai pelo orifício inferior do cilindro (conhecido como cilindro de Wehnelt) e segue pela coluna do instrumento; 2) Lentes – o feixe de elétrons produzido no canhão é condensado por duas lentes eletrônicas que produzem um pincel extremamente delgado que bombardeia a superfície da amostra

que por sua vez emite elétrons secundários, entre outros fenômenos. O diâmetro deste pincel é que em última análise determina a resolução. Quanto mais delgado, menores os detalhes detectáveis no espécime...a resolução atualmente obtida é da ordem de 30 – 50Å. A magnificação de trabalho pode variar de 10X até 200.000X. 3) Circuito de varredura – o feixe de elétron primário não incide fixamente em uma área da superfície da amostra. Através de um circuito auxiliar conhecido como varredura, um campo magnético pulsátil, o feixe é obrigado a fazer uma varredura em zig-zag sobre o espécime, de maneira intermitente. 4) Coletor e amplificador de sinais – os elétrons secundários emitidos pela superfície da amostra são capturados pelo coletor, que é uma grade com carga positiva de cerca de 500 V que atrai os elétrons. Os elétrons secundários, tendo energia mais baixa, são atraídos ao coletor, mesmo dirigindo-se em outras direções, e incidem a seguir no cintilador, uma pequena placa de plástico coberta com substância fluorescente. Cada elétron que incide sobre o coletor produz um sinal luminoso que é amplificado e convertido em um sinal eletrônico. 5) Tubo de raios catódicos (TRC) – os sinais produzidos pelos elétrons secundários, por sua vez, vem modular um TRC, cuja superfície é varrida de modo sincronizado com a varredura da amostra. A emissão de elétrons secundários pela superfície da amostra ocorre em função da sua topografia que será fielmente reproduzida ponto-a-ponto no TRC, como a reprodução de uma figura em papel quadriculado, ditando as características de cada ponto sucessivamente a um outro papel quadriculado. 6) Sistema de vácuo – o interior da coluna e a câmara onde fica o espécime fica sob alto vácuo, obtido com bombas de pré-vácuo e de alto vácuo. 7) Registro de imagens – usualmente existe um segundo TRC acoplado a uma câmara fotográfica para registrar as imagens. Existem dispositivos para digitalizar a imagem, que podem ser transferido a um computador, com um software adequado, processá-la e imprimir. 8) Controles – a variação de aumento é feita simplesmente reduzindo-se a área varrida na superfície do espécime. A qualidade da imagem pode ser controlada variando-se contraste/ brilho, velocidade de varredura, foco e correção do astigmatismo da lente, voltagem de aceleração (5 e 25 kV).

Kwon & Imai⁹⁴ (1999) utilizaram dentes bovinos para avaliar o efeito do cloreto férrico, ácido cítrico e fosfórico na adesão da resina 4-META/MMA-TBB em esmalte e dentina condicionados. Foram preparados sete condicionadores, que foram aplicados à superfície vestibular de dentes bovinos que haviam sido congelados. Foram utilizadas lixas de papel de granulação 400 e 600 para expor e adequar a superfície de dentina. Os

condicionadores foram aplicados por 30s e lavados com água por 30s que também foi o tempo utilizado para a secagem das amostras com ar comprimido. As superfícies foram preparadas, adequadamente, para o exame de MEV e MFA. Amostras foram preparadas para teste de resistência à tração, a área de adesão foi delimitada e recebeu um cilindro acrílico, de 8mm de diâmetro, para a inserção do sistema adesivo *Super-Bond C&B (Sun Medical)*. Os maiores valores de resistência foram obtidos usando cloreto férrico 3%, ácido cítrico 5% e ácido fosfórico 10%. Desta forma esmalte e dentina podem ser tratados, simultaneamente, antes da adesão com o sistema 4-META/MMA-TBB. Com base nos resultados os autores observaram a possibilidade do condicionamento de esmalte e dentina, em um único passo.

Miyasaka & Nakabayashi¹⁰⁸ (1999), utilizaram dentes bovinos para examinar um sistema de união que combina condicionamento com EDTA e um *primer* autocondicionante em um espécime com formato de haltere, para resistência à tração. Dentina bovina foi preparada com uma lixa de papel 180, condicionada com EDTA, preparada com Fenil-P/HEMA e foi aplicado com um agente de união fotopolimerizável. A amostra foi armazenada em água a 37°C durante um dia; a resistência de união foi medida e a hibridização foi avaliada em MEV. O maior valor de resistência foi verificado na associação de EDTA condicionador e fenil-P/HEMA (22MPa). As análises ao MEV mostraram, na superfície fraturada depois da prova de tração, fracasso coesivo na resina, e 1µm de dentina hibridizada foi identificado. Quando a concentração de Phenyl-P e o período de utilização de *primer* foram aumentados, a resistência adesiva diminuiu significativamente e o fracasso adesivo apareceu na superfície.

A ação de um novo tipo de sistema adesivo nanoparticulado (*Prime & Bond NT - PBNT*) foi avaliada por Perdigão et al.¹³⁶ (1999) em

comparação ao seu predecessor sem carga (*Prime & Bond 2.1* - PB2.1), em esmalte e dentina bovinos. Avaliaram tanto resistência adesiva ao cisalhamento quanto a ultramorfologia da interface adesiva por meio de MEV e MET. A superfície vestibular de vinte espécimes foi planificada, em esmalte e em dentina, formando-se quatro grupos: a) dentina com PB2.1; b) dentina com PBNT; c) esmalte com PB2.1; d) esmalte com PBNT. O fabricante do sistema PB2.1 preconiza a aplicação de duas camadas de adesivo, enquanto o PBNT de somente uma. Após a aplicação da resina composta e fotopolimerização, conforme normas do fabricante, seguiu-se o teste de cisalhamento. Os resultados deste teste não revelaram diferenças estatísticas entre os grupos. Para a análise morfológica, seis discos dentinários foram obtidos da dentina intermediária de terceiros molares humanos, procedendo-se o procedimento adesivo e restaurador com PB 2.1 e PB NT (n=3). Em seguida, os discos foram seccionados e cada metade foi analisada em MEV e MET, após descalcificação e desproteinização das interfaces (somente para o exame em MEV). Um disco adicional de dentina foi destinado para o estudo das alterações superficiais do condicionamento ácido. A observação em MEV revelou uma profundidade de penetração do ácido na dentina intertubular de 3 μ m a 4,1 μ m. Foram constatadas camadas híbridas consistentes e livres de *gaps*, para ambos os produtos, sendo que a espessura mediu de 3 μ m a 4,5 μ m. A MET confirmou estes achados, somente com a diferença da presença de partículas de carga pertencente ao sistema NT no topo e dentro da camada híbrida, em nível ultramorfológico. Clinicamente acredita-se haver uma correlação entre estas cargas e o alívio de tensões provenientes da contração de polimerização dos materiais resinosos. Com relação à resistência adesiva dos diferentes sistemas adesivos foram verificados valores estatisticamente semelhantes, validando, desta forma, a utilização dos novos sistemas adesivos nanoparticulados.

Ainda em 1999, Perdigão et al.¹⁴³ estudaram o efeito do agente de re-umedecimento, na adesão à dentina. Foi comparada, *in vitro*, a resistência adesiva e ultramorfologia da interface formada por três adesivos, de frasco único, sendo eles: *OptiBond SOLO* (etanol), *Prime & Bond 2.1* (acetona) e *Single Bond* (etanol e água). Os autores utilizaram 90 dentes bovinos, extraídos no local de abate e congelados em solução de cloramina a 5% por mais de uma semana. Foi testada a hipótese nula de que o re-umedecimento da dentina seca com HEMA em solução não resulta em aumento da resistência adesiva e impregnação na dentina desmineralizada, comparável àquela obtida em dentina úmida. As amostras de dentina foram agrupadas em: dentina úmida (controle), dentina seca por 5s, dentina seca por 5s e re-umedecida com uma solução de HEMA a 35%. Os autores observaram que para a dentina úmida, a morfologia da interface resina/dentina mostrou a penetração do adesivo até a profundidade de transição entre dentina desmineralizada e dentina intacta. A secagem por 5s determinou um decréscimo significativo na resistência adesiva e uma incompleta infiltração do colágeno, com área de fibras sem cobertura de adesivo. O re-umedecimento da dentina com HEMA restabeleceu os níveis de resistência adesiva obtidos para a dentina úmida e produziu um aumento da rede de fibras colágenas, com simultâneo aumento nos espaços interfibrilares. Os resultados sugerem que o uso de uma solução de HEMA aquosa poderia compensar a secagem induzida em superfícies de dentina usando seringa de ar, depois de enxaguar o condicionador. Como o comportamento do material que continha água também era afetado por secagem de superfície, a porcentagem de água incluída na composição de adesivos baseados em água e etanol, como *Single Bond*, pode não ser suficiente para compensar o colapso das fibras de colágeno após a secagem.

Com a finalidade de pesquisar a influência da estrutura

dentinária na resistência adesiva à microtração entre resina e dentina, Phrukkanon et al.¹³⁸ (1999) utilizaram dois sistemas adesivos: *Single Bond* (3M Dental Products) e um adesivo experimental contendo um *primer* autocondicionante MF-102 (GC Corp.). Foram utilizados 22 pré-molares humanos, divididos verticalmente em duas partes (mesial e distal). Uma parte foi usada para testar a adesão na superfície perpendicular aos túbulos dentinários e a outra, na superfície paralela aos túbulos. Em cada parte do dente, foram escolhidas seis áreas para adesão. Os espécimes receberam a aplicação do sistema adesivo, da resina composta (*Silux Plus* – 3M Dental Products) e foram submetidos aos testes. Foram preparados mais quatro dentes para a análise da interface em MEV. Para o adesivo *Single Bond*, a adesão na região média da raiz foi significativamente menor que nas outras regiões. As amostras submetidas ao MF-102, não apresentaram diferença significativa entre as regiões. A orientação dos túbulos não influenciou na resistência adesiva. Os autores concluíram que a adesão com o sistema *Single Bond* pode ser influenciada por sua capacidade de penetração na dentina desmineralizada, nas diferentes regiões da dentina, considerando-se o aparecimento de uma zona porosa na base da camada híbrida, enquanto que o MF-102, exibiu boa adesão independente da região, sem apresentar descontinuidade entre dentina normal e camada híbrida.

Prati et al.¹⁴⁹ (1999), realizaram um estudo para avaliar o efeito da remoção das fibras colágenas da superfície na união dentina-resina, examinando a morfologia da camada híbrida e realizando teste de cisalhamento depois de tratamentos de dentina diferentes. Discos de dentina foram tratados com: a) ácido fosfórico 35% (aqui denominado PA) 20s; b) tratamento PA seguido por 1.5% NaOCl, 2 min; c) tratamento PA, seguido por imersão em NaOCl a 10% por 120h. A análise ao MEV foi usada para observar a morfologia da dentina e sua interface com agentes de união à dentina. Após os testes de adesão, todos os espécimes foram fraturados em

duas partes: metade foi inspecionada através de MEV; a outra metade foi colocada consecutivamente em PA a 10% seguida por NaOCl a 12,5% por 70h, para remover toda a dentina da réplica de resina da interface de união. As análises de MEV mostraram fibras de colágeno completamente afastadas da superfície condicionada através de tratamento de NaOCl. O diâmetro e tamanho dos túbulos dentinários e o número de extensões laterais aumentaram após o tratamento com NaOCl aplicado sobre a *smear layer* que não foi modificada significativamente em sua morfologia. Foram observadas camadas de dentina infiltrada por resina somente nas amostras que receberam o tratamento ácido convencional e esta infiltração de resina não foi observada após o tratamento combinando ácido fosfórico e NaOCl. Amostras de condicionamento/NaOCl apresentaram resistência de união menor do que as amostras de *Scotchbond* e *Single Bond*, mas a resistência foi mais alta do que nos grupos *Optibond FL* e inalterada em *Prime & Bond 2.0*, quando comparados com controles condicionados. O tratamento da dentina com o condicionamento com NaOCl por 120h produziu um tipo incomum de infiltração de resina na dentina mineralizada que poderia ser chamado de camada híbrida reversa, e pode explicar o mecanismo de união da resina à dentina tratada com NaOCl. Os autores concluíram que o uso de condicionadores ácidos para exposição da matriz de colágeno expõe uma malha delicada, macia que pode desmoronar interferindo, assim, com a infiltração de resina. Se o condicionamento ácido for seguido de tratamento com NaOCl, podem ser alcançadas resistências adesivas altas através da formação da “camada híbrida reversa”, um novo mecanismo proposto de retenção micromecânica da resina, que ainda não é recomendado para uso clínico, mas representa um novo modo de retenção da resina. Segundo os autores, este estudo deu suporte à hipótese de que as fibras colágenas não são necessárias para valores altos em resistência adesiva; o uso de condicionamento ácido seguido de NaOCl não é defendido para a união de

resina, mas foi usado para ilustrar as diferenças na habilidade dos sistemas adesivos em vários substratos.

Em outro estudo Prati et al.¹⁵¹ (1999) avaliaram a morfologia dos *tags* resinosos e da camada de dentina infiltrada por resina de vários sistemas adesivos em dentina humana normal e esclerótica, de jovens e adultos, superficial e profunda. Para tanto, obtiveram discos dentinários da oclusal de molares extraídos, condicionados com ácido fosfórico 35-37% e submetidos à aplicação dos seguintes sistemas adesivos: *OptiBond FL*; *Prime & Bond 2.0*; *Scotchbond Multi-Purpose Plus*, *Scotchbond 1* e *One Step*. Em seguida, cada espécime foi seccionado ao meio, sendo uma das partes polida com lixas abrasivas 600, 1000, 1200 e 4000, tratada com NaOCl 1,5%, lavada, limpa em ultra-som por 2min e, finalmente, seca ao ar antes da metalização com ouro. Este protocolo foi seguido para visualização da espessura e morfologia da camada híbrida em MEV. A outra metade das amostras foi desmineralizada em ácido fosfórico 20% por 70h, lavada e desproteínizada para a avaliação da morfologia dos *tags* resinosos e de suas extensões laterais. Os autores observaram que a camada híbrida apresentou-se mais homogênea, espessa e livre de *gaps* em dentina jovem e sadia quando comparada à dentina senil e esclerótica e atribuíram este resultado à dificuldade do ácido fosfórico penetrar na dentina intertubular esclerótica no tempo recomendado pelo fabricante. Independente do tipo de dentina, a espessura da camada híbrida foi menor na dentina superficial comparada à profunda. As dentinas esclerótica e adulta mostraram as menores espessuras de camada híbrida, com *tags* curtos, e poucas ramificações laterais em relação à dentina normal. Houve uma alta incidência de *gaps* nas interfaces adesivas em dentina esclerótica, confirmando a premissa de que este substrato apresentaria um comportamento adesivo inferior em relação à dentina jovem e sadia.

Em 1999, Ribeiro et al.¹⁶² realizaram um estudo comparando a adesão em dentina decídua, cariada e hígida, onde submeteram 48 lesões de cáries à avaliação clínica, radiográfica e em MEV, após a restauração dos dentes. Os dentes foram divididos em dois grupos (n=24): a) grupo 1 (*controle*) - lesões de cárie infectadas e totalmente removidas antes do procedimento adesivo e restaurador; b) grupo 2 (*experimental*) - lesões de cárie infectadas parcialmente removidas antes dos procedimentos de adesão e restauração. Houve monitoração clínica e radiográfica a cada três e doze meses após a restauração dos dentes. Ao redor do tempo de exfoliação, os dentes foram extraídos. As interfaces receberam o desafio ácido-base com ácido clorídrico 6N por 30s seguido de NaOCl 2% por 10min e foram processadas para exame em MEV. A taxa de retenção, de integridade marginal e de sintomas pulpares foram idênticos para os dois grupos. Radiograficamente, a área radiolúcida presente no grupo *experimental* não aumentou com o tempo em 75% dos casos. Para o grupo *controle*, o sistema adesivo formou camada híbrida. No grupo *experimental*, houve uma evidência morfológica de formação de uma camada híbrida alterada e resistente ao desafio químico. Um tecido ácido-resistente, resultado da interdifusão do sistema adesivo com o tecido cariado, foi observado adjacente e abaixo da camada híbrida alterada. Os autores concluíram que a aplicação de restaurações adesivas sobre lesões cariosas infectadas irreversíveis não afeta a performance clínica destas restaurações, com a ressalva da existência de esmalte nas margens destas restaurações.

Com base na importância da durabilidade da interação resina-dentina para a longevidade das restaurações Sano et al.¹⁶⁹ (1999) realizaram um estudo para avaliar sua estabilidade na cavidade oral, bem como testar a hipótese que a interface adesiva pode mostrar modificações morfológicas *in vivo* com o tempo. Foram confeccionadas cavidades rasas em dentina de dentes hígidos de macacos, posteriormente restauradas com

Clearfil Liner Bond II e *Clearfil Photo Posterior* (Kuraray). Os dentes foram extraídos após três diferentes períodos: imediatamente, 180 e 360 dias após a colocação das restaurações e foram submetidos ao teste de microtração. As superfícies adesivas, após a fratura, foram observadas em MEV. Os autores verificaram que a resistência adesiva foi estável em aproximadamente 19MPa durante um ano de teste. As observações em MEV das superfícies fraturadas revelaram, no topo da camada híbrida e dentro da resina adesiva, porosidades que aumentaram com o tempo. Com este estudo os autores validaram o método que utiliza teste de resistência com observações morfológicas em MEV, na avaliação da durabilidade da adesão.

Em 1999, Schilke et al.¹⁷¹ realizaram um estudo com objetivo de verificar a conveniência em substituir a dentina de molares humanos permanentes e decíduos por dentina, coronária e radicular bovina, em testes de adesivos dentais. Empregaram trinta incisivos centrais bovinos, trinta molares humanos decíduos e trinta molares humanos permanentes, não erupcionados. Os dentes foram cortados e foram obtidas fatias de 1mm na coroa, paralelas à parede pulpar e vestibular e fatias de 1mm na dentina da raiz. O sistema adesivo *Syntac* (Vivadent) foi empregado da seguinte forma: *Syntac Primer* aplicado na dentina com *microbrush*, o excesso removido após 15s e secagem por 10s com ar de acordo com instruções do fabricante, seguido da aplicação do *Syntac Adhesive* e secagem após 10s. Subseqüentemente foi aplicado o agente de união *Heliobond Vivadent* (60% Bis-GMA, 40% TEGDMA), removeu-se o excesso com ar e fotopolimerizou-se por 10s. Foram confeccionados cilindros de 2mm altura e 2,5mm de diâmetro em um incremento de resina composta *Tetric* (Vivadent), posicionados com o auxílio de uma matriz de acetato, na superfície vestibular e pulpar de dentina preparada, o excesso de material foi removido e a resina composta foi fotopolimerizada por 60s. Em seguida os espécimes foram imersos em solução salina a 37°C por 24h. O teste de resistência adesiva foi

executado em uma máquina controlada por computador com célula de carga de 20Kg e velocidade de corte de $1.0\text{mm}/\text{min}^{-1}$, com uma ponta posicionada paralelamente à superfície aderida. Os dados foram analisados através dos testes *Wilcoxon* ou *Mann-Whitney-U*. Os autores observaram que não houve diferença significativa na resistência adesiva entre dentina humana permanente e coronária bovina e entre superfície vestibular e pulpar. Foram encontradas diferenças significantes entre dentina radicular bovina e dentina de molares decíduos. Foram encontradas diferenças entre dentina radicular bovina e dentina humana permanente, entre a dentina de raiz e coroa bovina, entre dentina humana decídua e permanente e dentina bovina coronária. Os autores concluíram que não houve diferença significativa entre dentina coronária de dentes permanentes humanos e, coronária bovina. A resistência adesiva, com o sistema empregado, resultou em altos valores para dentina bovina coronária e radicular em comparação com a dentina de dentes decíduos e que a dentina radicular bovina não deve ser empregada como substituta da dentina humana, devido aos valores significativamente maiores de resistência adesiva.

Armstrong et al⁷. (2000) realizaram um estudo para avaliar a durabilidade da camada híbrida, em meio aquoso e não aquoso, pois a possibilidade de degradação hidrolítica do colágeno é questionada por vários pesquisadores. Isso pode ser decorrente da inadequada, ou insuficiente, penetração do sistema adesivo. Foram utilizados dez molares livres de cárie, desgastados em sua superfície oclusal com lixa de granulação 600, submetidos ao sistema adesivo *Scotchbond Multipurpose* e em seguida foram confeccionadas as coroas de resina composta em dois incrementos. Obtiveram-se espécimes de 2X2mm, levados ao teste de tração após duas semanas, seis meses e 12 meses de armazenamento. Após análise estatística o armazenamento em água por seis e 12 meses resultou em número maior de falhas do que por duas semanas. Os tempos de

armazenamento em água resultaram em risco maior de falha do que os armazenamentos em óleo. A hidrólise da junta adesiva dentina-resina composta pode ocorrer, como observado pelo risco significativamente alto de falha para a estocagem em água, comparado à estocagem em óleo.

Hashimoto et al.⁷⁷, em 2000, avaliaram os efeitos da variação do tempo de condicionamento dentinário com ácido fosfórico a 35% sobre a espessura da camada híbrida e sua relação sobre a força de adesão com o sistema adesivo *Scotchbond Mutli-Purpose (3M Dental Products)*. Utilizando tempos de condicionamento de 15, 60 120 e 180s, os autores encontraram que o aumento no tempo de condicionamento elevou a espessura da camada híbrida (3, 6, 10 e 10µm, respectivamente), porém contribuiu para a redução da resistência adesiva, especialmente quando o tempo ultrapassa a 15s. Isto se deveu ao aumento da profundidade de desmineralização excessiva fazendo com que o adesivo não possa chegar até a base da zona desmineralizada, provocando falhas no interior da camada híbrida. A avaliação das superfícies dos espécimes fraturados ao MEV revelou a presença de zonas de dentina desmineralizada sem impregnação por resina no interior da camada híbrida.

Kwong et al.⁹⁵ (2000) realizaram um estudo ultraestrutural sobre a adesão de sistema adesivo autocondicionante, precedido ou não por condicionamento ácido, e a dentina normal e esclerótica. Os autores consideraram lesões cervicais não-caríadas, sem preparos cavitários adicionais e, para o grupo controle, prepararam cavidades simulando lesões cervicais em formato de cunha em pré-molares hígidos. Dois tratamentos foram realizados nos grupos tratados (dentina esclerótica) e controle (dentina hígida): a) sistema adesivo autocondicionante *Clearfil Liner Bond 2V*; b) condicionamento com ácido fosfórico a 40% seguido da aplicação do mesmo sistema adesivo. Para a análise em MEV, os dentes foram criofraturados em duas partes a partir de uma ranhura confeccionada na lingual dos dentes.

Diferentes regiões da lesão foram observadas após a realização do condicionamento ácido e/ou *primer* ácido, lavagem e desidratação dos espécimes. Para a investigação em MET, as interfaces de união dentina-resina foram processadas em cortes ultrafinos obtidos da oclusal, da gengival e da região central mais profunda da lesão. Os resultados obtidos revelaram a presença de uma camada superficial hipermineralizada na dentina esclerótica condicionada. Esta camada era bastante espessa, na região mais profunda das lesões escleróticas, onde a colonização bacteriana na superfície da lesão também foi aparente. Ambos os protocolos de tratamento foram incapazes de dissolver os trajetos escleróticos que ocluíam os túbulos dentinários. Detectou-se uma autêntica camada híbrida (i.e., dentina intertubular hibridizada) de menor espessura na dentina hígida tratada somente com o adesivo autocondicionante. Esta observação também pôde ser feita em relação à região mais profunda da lesão quando da aplicação adicional de ácido fosfórico. Dentro desta região, não foi possível observar a presença de uma camada híbrida autêntica, para os tratamentos. *Tags* resinosos foram detectados esporadicamente em todas as regiões observadas. Os autores concluíram que, as estratégias adesivas baseadas somente na retenção micromecânica podem ser comprometidas pela ausência de camada híbrida e de *tags* resinosos na dentina esclerótica. Baseados nas características morfológicas apresentadas sugerem que a introdução de estratégias, como a remoção superficial de dentina esclerosada e a extensão do tempo de condicionamento, pode não ser completamente eficaz na adesão resinosa à dentina altamente esclerótica, sendo recomendados novos estudos interdisciplinares que visem otimizar esta interação.

Ainda em 2000, Nakajima et al.¹²⁰ compararam a eficácia de três sistemas adesivos (*One-Step*, OS; *Single Bond*, SB e *Clearfil PhotoBond*, PB) sob condições de dentina úmida ou seca (jato de ar por

cinco segundos). Os autores empregaram o teste de microtração em terceiros molares humanos e avaliação em MEV da espessura e da qualidade da camada híbrida, por meio de um desafio ácido-base, após o polimento das interfaces. Os resultados do teste de resistência mostraram valores significativamente mais baixos para o grupo em que a dentina foi ressecada, 8-19MPa, contra um valor de 39-50MPa no grupo que manteve a dentina úmida, para os três produtos. A camada híbrida não foi observada nas interações OS, SB e dentina ressecada, enquanto que uma fina zona híbrida foi detectada para o PB. Em contraste, para todos os sistemas adesivos uma espessa camada híbrida foi observada quando a dentina foi mantida úmida e, sobretudo, esta interface revelou-se resistente ao desafio químico. Estes resultados dão suporte ao modelo morfológico previamente publicado, pelos autores, além de oferecer uma explicação morfológica para as diferenças de resistência de união estabelecida com a dentina úmida *versus* ressecada.

Paraizo et al.¹²⁶ (2000) compararam a capacidade de selamento marginal de sistemas adesivos usando dentes humanos e bovinos. Os autores realizaram dez cavidades de classe V padronizadas, para cada grupo testado, em dentes recém extraídos, com uma margem em dentina/cimento e a outra em esmalte. Foram estudados *Scotchbond Multiuso Plus* (3M Dental Products), *Clearfil Liner Bond 2V* (Kuraray), *Etch&Prime 3.0* (Degussa), aplicados segundo as normas dos fabricantes em dentes humanos e bovinos e foi usado o compósito TPH *Spectrum* (Dentsply). Os espécimes foram armazenados em água destilada por uma semana, corados com solução de nitrato de prata a 50%, incluídos em resina epóxica e seccionados. Três examinadores calibrados avaliaram as restaurações utilizando uma lupa (25 X), atribuíram uma classificação, de acordo com a penetração do corante, de 0 (ausência de penetração) a 3 (infiltração além da parede axial). Os resultados obtidos foram tratados

estatisticamente pelos testes ANOVA, *Kruskal-Wallis* e *Mann-Whitney*, após os quais os autores concluíram que, o substrato bovino impediu melhor a microinfiltração de corantes do que o humano, não sendo adequado para estudos de infiltração.

Estudando a permeabilidade da dentina ao HEMA, Pashley et al.¹³³ (2000) utilizaram terceiros molares, não erupcionados extraídos. Os autores buscavam desenvolver um macromodelo de camada desmineralizada de dentina, formada após o condicionamento ácido e determinar se a deposição de HEMA era de responsabilidade da secagem por ar. Cubos de dentina foram preparados (2 X 2 X 2 mm) e incubados em HEMA a 100% por 1.000min e, então, o excesso de HEMA foi removido. Utilizou-se a espectrofotometria para quantificar o HEMA. Os cubos de dentina foram desmineralizados em 0,5 M de EDTA por 10 dias e a deposição de HEMA foi verificada novamente em 1, 10, 100 e 1.000 min. Os cubos foram secos por ar e a deposição foi quantificada. Após a reexpansão das amostras em água, os cubos foram colocados em concentrações crescentes de acetona 100%, foram secos e a deposição de HEMA foi mensurada. Finalmente, após nova hidratação, os cubos de dentina foram condicionados com ácido fosfórico 37% por tempos variados de 1 a 10min, e a deposição de HEMA foi verificada outra vez. Após a remineralização, a camada de HEMA foi pequena comparada àquela conseguida após 1, 10, 100 e 1.000min; o condicionamento ácido não influenciou na camada de HEMA; e a secagem por ar produziu uma contração volumétrica de 70% e 97% de redução da camada de HEMA depositado. Com base nos resultados obtidos os autores concluíram que, a camada de deposição de HEMA na dentina desmineralizada depende do grau de expansão da matriz de dentina.

Informações detalhadas da estrutura da dentina são essenciais para interpretar os dados das análises dos sistemas adesivos. Desta forma, Schilke et al.¹⁷² (2000) compararam o número e diâmetro dos

túbulos em preparos semelhantes em dentina coronária humana de decíduos (n=30) e de terceiros molares (n=30) e de dentina coronária e radicular de dentes bovinos (n=30). A densidade tubular, em túbulos/mm², na dentina média foi maior para dentina da raiz bovina - BR (23.760 ± 2453) do que para humanos decíduos - HD (18,243 ± 3845), humano permanente - HP (18.781 ± 5855), e dentina coronária bovina - BC (17.310 ± 2140). Os valores correspondentes para dentina profunda, em túbulos/mm², foram: 23.738 ± 4457 (BR), 24.162 ± 5338 (HD), 21.343 ± 7290 (HP) e 20.980 ± 4194 (BC). Não foram observadas diferenças significativas para o número de túbulos na dentina bovina coronária, quando comparado com a dentina humana de molares permanentes e decíduos. A média do diâmetro dos túbulos dentinários bovinos foi ligeiramente, mas não significativamente, maior do que na dentina humana (camada média / profunda ± desvio padrão em µm): BC (2,85 ± 0,18 / 3,5 ± 0,33); BR (3,10 ± 0,33 / 3,23 ± 0,30); HD (2,55 ± 0,16 / 2,82 ± 0,28); HP (2,65 ± 0,19 / 2,90 ± 0,22). Os valores encontrados foram testados pelo teste *t-Student* (p < 0.05). Os dados de diferentes amostras foram submetidos a ANOVA. O teste *Scheffe* foi usado para determinar diferenças significativas (p < 0.05). O número e diâmetro de túbulos de decíduos humanos e molares permanentes, e dos incisivos centrais bovinos, não sendo significativamente diferente. Entretanto, na raiz bovina a densidade tubular é estatisticamente maior. Estes resultados sugeriram a necessidade de padronizar os preparos, sendo que a coroa do incisivo bovino pode ser considerada como possível substituta para molares humanos em estudos de adesão dental.

Tay et al.¹⁹⁷ (2000) realizaram um estudo com o objetivo de examinar as características ultra-estruturais da interface resina-dentina em lesões cervicais não-cariosas em seguida à aplicação de um sistema adesivo autocondicionante (*Clearfil Liner Bond II*), além de avaliar a resistência adesiva em diferentes regiões de lesões cervicais, naturais e artificiais. Para

a avaliação morfológica, aplicaram o adesivo em lesões cervicais profundas e examinaram várias regiões dentro destas lesões em MEV e em MET. As características ultraestruturais foram comparadas com a interface adesiva obtida em lesões artificiais criadas em dentina normal. Foi avaliada a resistência adesiva regional das porções oclusais, gengivais e porção central mais profunda de lesões cervicais naturais e artificiais. Uma camada hipermineralizada destituída de fibras colágenas intactas foi invariavelmente encontrada nas interfaces de lesões naturais. Dependendo da espessura desta camada em diferentes regiões da lesão, a ação do *primer* autocondicionante mostrou-se limitada a esta superfície, produzindo uma camada híbrida superficial hipermineralizada. Quando houve a penetração do sistema adesivo além da extensão da camada hipermineralizada, ocorreu a formação de um complexo hibridizado formado pela camada híbrida superficial hipermineralizada e pela camada híbrida subsuperficial intertubular. A colonização bacteriana da superfície da lesão resultou em uma camada adicional sobre a superfície de adesão, denominada zona hibridizada com a matriz intermicrobiana. Os túbulos dentinários apresentaram-se bloqueados por trajetos escleróticos e os *tags* resinosos foram raramente observados. Os resultados de resistência adesiva regional mostraram que, no geral, houve uma diferença de cerca de 20% a menos nos valores para a dentina esclerótica natural em comparação com a dentina hipermineralizada artificialmente. Com isso, quatro fatores foram postulados, por interferirem com a redução da resistência adesiva na dentina esclerótica:

- a) presença da camada hibridizada com a matriz intermicrobiana misturada com bactérias pode enfraquecer a união adesiva;
- b) inabilidade do *primer* autocondicionante penetrar através da camada espessa e hipermineralizada;
- c) presença de uma camada de colágeno desnaturado, possivelmente remineralizado, na base da superfície hipermineralizada;
- d) formação de

trajetos escleróticos no lúmen tubular que evitam a formação dos *tags* resinosos.

Como objetivo principal de propor a utilização de técnicas apropriadas em microscopia para estudar os mecanismos de adesão à dentina e ao esmalte, Van Meerbeek et al.²²² (2000) sugeriram um protocolo de análise morfológica de novos materiais adesivos anteriormente à sua permissão para utilização clínica. Quatro técnicas mais comumente utilizadas para isso foram descritas, sendo destacada a relação existente entre a metodologia empregada e suas respectivas possibilidades, limitações e potencial de formação de artefatos. A possibilidade de observação da camada híbrida é obtida somente após processamento químico das amostras posteriormente ao seccionamento ou fratura das interfaces. A técnica mais comumente utilizada para visualização de interfaces em MEV envolve a dissolução parcial ou total da dentina superficial com ácidos concentrados, como o ácido clorídrico e ácido nítrico, para remover os componentes orgânicos dentinários desta superfície, os espécimes são comumente desproteinizados com (hipoclorito de sódio). A utilização desta técnica (desafio ácido-base) sobre as interfaces adesivas, verifica a resistência da camada híbrida quanto à sua degradação, além de revelar as características morfológicas de *tags* e da própria camada híbrida sua resistência da região de colágeno infiltrada e copolimerizada por monômeros, protegendo do processo de dissolução clínica e laboratorial. Desta forma, altos valores de resistência adesiva, obtidos para alguns sistemas adesivos, têm sido correlacionados com uma avaliação morfológica positiva em MEV ao desafio ácido-base. O protocolo sugerido pelos autores consta da observação em microscopia de força atômica (MFA) em condição ambiente, após o corte ultrafino com lâmina de diamante. A vantagem da MFA sobre a MEV-EC consiste no fato de que a superfície escaneada de dentina é a real, sem nada interpondo, enquanto a vista em MEV recebe a cobertura

condutiva. Os autores avaliaram a determinação da presença de nanoinfiltração dentro da camada híbrida que pode ocorrer mesmo na ausência de *gaps* na interface. Segundo os autores, as possíveis razões para a inclusão de poros na camada híbrida, são: a) infiltração incompleta de resina; b) evaporação incompleta de solvente (água, acetona ou álcool); c) dissolução (lixiviação) de monômeros adesivos incompletamente polimerizados; d) hidrólise ou degradação de colágeno ou de polímeros resinosos; e) inadequada umidade do colágeno. Os sistemas autocondicionantes além da retenção micromecânica oferecida pela hibridização, cristais de hidroxiapatita residuais podem servir como receptores químicos para adesão de adesivos baseados em fosfatos ou carboxilatos e que estudos adicionais devem ser realizados para verificar o efeito da nanoinfiltração na longevidade clínica das restaurações adesivas. A MEV é uma técnica microscópica muito utilizada dentro da ciência dos materiais odontológicos, principalmente pela profundidade de ação, por sua alta resolução e por seu fácil manuseio. Uma série complexa e extensa de passos é necessária para evitar a formação de artefatos devido à contração decorrente da desidratação e da presença de alto vácuo para a observação de amostras biológicas. Assim, este preparo deve seguir um protocolo sistemático e rigoroso, envolvendo fixação, desidratação, secagem e cobertura com material condutor. Os autores concluíram que apesar da alta resolução morfológica obtida com a microscopia é necessário conhecer a técnica de utilização deste recurso, além de suas limitações. Desta forma seria possível a análise correta dos dados obtidos. Pesquisas adicionais deveriam ser direcionadas para o estudo das propriedades físico-químicas da união resinosa com a dentina, sendo que o objetivo final destas pesquisas seria alcançar um patamar cada vez mais confiável e durável para a utilização clínica de restaurações adesivas.

Com o objetivo de avaliar a durabilidade da adesão de três

tipos de sistemas adesivos dentinários (*Scotchbond Multi Purpose/Z100*, *Single Bond/Z100* e *Imperva Fluorbond/Litefil II*) Yamamoto et al.²²⁰ (2000) empregaram amostras de dentina bovina (n=10) e a resistência à tração com variação do tempo (1, 30, 90, 180, 360 dias). As superfícies fraturadas foram avaliadas ao MEV e os dados analisados com ANOVA e teste *Scheffe*. Os autores observaram que, a resistência adesiva foi significativamente reduzida após 360 dias no sistema adesivo *Scotchbond Multipurpose* e que a degradação superficial da dentina foi efetiva após noventa dias. Para o sistema *Single Bond*, resistência adesiva e padrão de falha adesiva foram constantes e observados em todos os períodos. No grupo *Fluorbond*, a resistência adesiva não reduziu significativamente após 360 dias. De acordo com os autores, estas observações sugerem que os sistemas *Single Bond* e *Fluorbond* exibiram durabilidade adesiva superior, por meio de uma dentina hibridizada estável, resultado da infiltração suficiente do monômero adesivo na superfície de dentina tratada.

2.6 O novo milênio: para onde iremos ?

Yoshida et al.²³⁶ (2001), avaliaram por meio de espectroscopia de raios X (XPS), espectroscopia por emissão atômica de plasma (ICP-AES) e espectrofotometria de absorção atômica (AAS), a capacidade de descalcificação da hidroxiapatita sintética por ácidos diversos orgânicos ou não. Constataram que os ácidos, maléico, cítrico e lático, promovem intensa descalcificação da hidroxiapatita, porém os sais de cálcio originados da reação, mostraram-se muito solúveis. Por outro lado, os ácidos orgânicos,

como o poliacrílico e o oxálico, somente removem o cálcio da hidroxiapatita, formando sais de cálcio menos solúveis.

A interação entre *tags* e *microtags* resinosos e fibrilas colágenas resultantes do condicionamento ácido da dentina é um assunto pouco explorado dentro da área da adesão. Assim, Andia-Merlin et al.⁴ (2001) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar morfologicamente por meio da MEV o íntimo contato dos monômeros adesivos com a estrutura dentinária. Para tanto, dois discos dentinários (1mm) de 25 terceiros molares humanos hígidos recém-extraídos foram polidos com lixa 600 grit por 3min, para obtenção de *smear layer* padronizada. As superfícies foram condicionadas com ácido fosfórico por 15s e lavadas com *spray* de ar-água por 15s. O *Scotchbond Multi-Purpose* - SBMP (*3M Dental Products*) e a resina composta (Z-100, *3M Dental Products*) foram aplicados conforme normas do fabricante. O *primer* foi aplicado na dentina e gentilmente seco com jato de ar por 5s. O adesivo foi aplicado, foto-ativado por 10s, aplicado incremento de resina composta de 2mm fotopolimerizado por 40s. Os discos dentinários foram deixados em água destilada a 37°C por duas semanas e fraturados perpendicularmente à área de adesão. As superfícies fraturadas foram tratadas com ácido clorídrico a 2N por 2min, lavadas com água destilada, armazenadas em solução alcoólica a 70% e desidratadas em concentrações ascendentes até 100%. Para a secagem, as amostras foram imersas em HMDS por 10min, montadas em *stubs*, metalizadas com ouro e analisadas em MEV (*JEOL LTD, Tokio, Japan*). A interface de adesão mostrou uma penetração de resina nos túbulos dentinários e dentro dos canalículos. Os *tags* resinosos mediram cerca de 100µm. Foram observados numerosos *microtags* finos, alongados e anastomosados na região de dentina intertubular. Abaixo da camada híbrida, foram observados numerosos *microtags* ao redor dos *tags* resinosos. Os *tags* revelaram um

formato afunilado com a base mais larga que o restante, com aparência superficial lisa. Entretanto, em algumas regiões as fibrilas colágenas envoltas por monômeros adesivos mostraram um íntimo contato com os *tags*. Os *microtags* resinosos foram observados em toda a extensão dos *tags* resinosos. A interação das fibrilas colágenas com os *microtags* também foi evidente na região basal dos *tags*. Esta difusão dos monômeros adesivos dentro da dentina formando camada híbrida, *tags* resinosos e numerosos *microtags* podem validar a retenção micromecânica dos adesivos dentinários. Por outro lado, os resultados deste estudo sugeriram ocorrer dois tipos de mecanismos de adesão entre a dentina e o colágeno dentinário. Além de ocorrer a adesão micromecânica, a adesão química também pode ser esperada já que um dos componentes do *primer* do SBMP é o ácido polialcenóico que reagiria com o cálcio existente na região mais profunda da desmineralização ácida, na qual não houve total descalcificação, restando o cálcio para estabelecimento do polialcenoato de cálcio. Segundo os autores, a microinfiltração pode ser diminuída por uma penetração eficiente dos monômeros resinosos nos túbulos (*tags*) e canalículos (*microtags*). Entretanto, deve-se considerar fatores como a densidade, orientação e diâmetro dos túbulos e canalículos, que são variáveis segundo a região do dente. Ainda, fatores clínicos influenciam a densidade tubular como idade, estado pulpar e outros, obliterando a abertura dos túbulos dentinários e canalículos pela formação de dentina esclerótica, alterando a permeabilidade transdentinária.

Em 2001, Anido⁵ realizou um estudo com objetivo de comparar a resistência adesiva da dentina humana e bovina em três diferentes espessuras de remanescente, frente ao teste de cisalhamento, a fim de estabelecer uma possível relação de profundidade entre os substratos visando a substituição da dentina humana em testes de adesão. Empregaram-se 48 dentes humanos (H) e 48 dentes bovinos (B), recém-

extraídos, armazenados em água destilada e congelados a -18°C , por no máximo quatro semanas. Foram utilizadas lixas de granulação 240, 400 e 600, para expor a dentina e padronizar a *smear layer*, com espessura de dentina de 0,5; 1,0 e 2,0mm. O sistema adesivo *Scotchbond Multipurpose Plus* foi utilizado seguindo instruções do fabricante, em uma área padronizada de 4mm, seguido da aplicação incremental da resina Z100. O ensaio de cisalhamento foi realizado em máquina Instron Universal à velocidade de 0,5mm/min. Foi realizada análise estatística pelo teste ANOVA ($p < 0,05$). Houve diferença significativa entre a resistência adesiva em dentes H e B, sendo os maiores valores para H; houve diferença significativa de resistência para as profundidades analisadas; houve semelhança de comportamento entre os substratos H0,5mm. e B2mm.; o substrato B presta-se aos estudos laboratoriais de resistência adesiva como indicativos da performance inicial de novos produtos, observando-se a relação de profundidade entre os substratos.

Bouillaguet et al.¹⁵ (2001) realizaram um estudo comparando a adesividade dentinária entre sistemas adesivos de condicionamento ácido total de três passos clínicos, condicionamento ácido total de dois passos e autocondicionantes, empregando trinta dentes bovinos, por meio de um teste de microtração seguido da observação dos espécimes fraturados em MEV. O grupo do *Scotchbond Multipurpose Plus* (SBMP) apresentou os maiores valores de adesão com significância estatística em relação a todos os outros. Os outros materiais foram classificados em ordem decrescente de valores de adesão: *Optibond FL*, *Scotchbond 1*, *Clearfil Liner Bond 2V*, *Primer & Bond NT*, *Asba S.A.C.*, *Excite* e *Prompt L-Pop*. A observação em MEV dos espécimes mostrou que a maioria das fraturas foi adesiva (70%), ocorrendo entre a resina e a camada híbrida. Alguns espécimes (20%) mostraram fraturas mistas, adesivas e coesivas. Apenas alguns espécimes mostraram fraturas coesivas, sendo que em 72% ocorreram na resina e, em 28 %,

ocorreram na dentina. Para o SBMP observou-se uma zona de camada híbrida bem desenvolvida (2-4 μ m) coberta por camada uniforme de adesivo (30 μ m), havendo fratura adesiva na maior parte. Os dois sistemas adesivos autocondicionantes mostraram diferenças significativas na performance em termos de adesividade e modo de fratura e, o estudo em MEV mostrou pobre infiltração dentro da *smear layer*.

Zuanon et al.²⁴⁰ (2001), avaliaram a correlação entre umectabilidade e penetração dos selantes Fluroshield e Seal Dent, após 30, 60 e 120s. de condicionamento ácido por meio de microscopia óptica e medida fotográfica do ângulo de contato. Os autores utilizaram 60 molares e 60 incisivos decíduos hígidos, que após profilaxia, lavagem e secagem foram condicionados pelos tempos mencionados, nova lavagem, secagem e aplicação dos selantes seguido de fotopolimerização. Os espécimes foram então cortados no sentido vestibulo-lingual e desgastados com lixa 80, 360 e 600 até atingirem 10mm de espessura. Os cortes foram acomodados em lâminas de vidro, descalcificados em ácido nítrico 40% e levados ao M.O. Para o estudo da umectabilidade através da medida do ângulo de contato, os dentes foram condicionados nos tempos já descritos, lavados e secos. Com a temperatura controlada a 22,3°C e a umidade relativa em 47,5%, os dentes receberam uma gota do selante sobre a superfície vestibular, que foi polimerizada após 15s. Imediatamente após, os dentes foram observados e fotografados em microscópio estereoscópico adaptado. Foram realizadas 5 medidas de cada ângulo de contato direito e esquerdo da gota. Os resultados mostraram que independente do material, quanto maior o tempo de condicionamento ácido, maior a penetração (30s. tags de 20,14 μ m; 60s./20,83 μ m e 120s./23,47 μ m). Para os ângulos de contato (30s./24°; 60s./30,9°; 120s./29,3°). Quando analisaram os materiais separadamente, o selante fluroshield apresentou 18,92 μ m/50,7° e o Seal Dent 24,27 μ m/5,5°. Os autores concluíram que existe relação direta entre a penetração e

redução do ângulo de contato, com conseqüente aumento da umectabilidade à medida que aumenta o tempo de condicionamento.

Dagostin & Ferrari⁴¹ (2001) realizaram um estudo *in vivo* sobre o mecanismo de adesão de um sistema adesivo experimental de esmalte e dentina de polimerização dual, através de observação em MEV, para observar a formação de *tags* de resina uniformes sob condições clínicas. Para isso, confeccionaram cavidades classe V em cinco dentes com doença periodontal e, após aplicação de ácido fosfórico a 37% por 20s, seguido da aplicação de um ativador de polimerização química e de uma solução fotopolimerizável do sistema adesivo *Excite (Vivadent)*, os dentes foram restaurados com resina *Tetric Flow*. Após uma semana, os dentes foram extraídos e processados para avaliação em MEV. Os dentes foram fraturados ao longo eixo do dente ao centro da restauração. Um grupo foi preparado de modo a permitir a observação da interface dentina-resina, descalcificado com H₃PO₄ a 36% por 10s e desproteinizadas com NaOCl a 2% por 60s. O outro grupo foi mantida em HCl a 30% por dois dias para a completa dissolução dos tecidos duros dentais, para produzir uma réplica em resina. Após a MEV, os resultados mostraram a formação de uma camada evidente de dentina hibridizada de 4µm a 6µm de espessura e alta densidade de *tags* resinosos com distribuição uniforme ao longo das paredes cavitárias. As réplicas em resina mostraram comprimento dos *tags* maior que 10µm, havendo numerosas ramificações laterais de adesivo, que criou uma rede tridimensional e aumentou a área de dentina intertubular. Este mecanismo foi sugerido como sendo o responsável pelo aumento da adesividade após condicionamento ácido da dentina. Não se observaram *gaps* na interface dentina-resina.

Inúmeros estudos são conduzidos de forma a avaliar a integridade marginal ou a resistência adesiva após armazenagem em água por curto período de tempo após o procedimento adesivo. Nenhum estudo

preocupou-se em estudar a ação do tempo e da função *in vivo* sobre a eficiência de restaurações adesivas. Com esta preocupação, Hashimoto et al.⁷⁸ (2001) analisaram em MEV a morfologia de interfaces adesivas mantidas na cavidade oral por vários anos. Molares decíduos, com cárie de dentina, foram restaurados, sob anestesia local, com sistema adesivo *Scotchbond Multi-Purpose* e resina composta Z100 (*3M Dental Products*). A estrutura dentária foi condicionada com ácido maléico a 10% por 15s, totalmente lavadas com spray de água e a superfície foi seca com jato de ar, mas deixada visivelmente úmida. O *primer* (HEMA e um copolímero do ácido polialcenóico) foi, então, aplicado por 10s e levemente seco com jato de ar. Uma fina camada de adesivo foi aplicada e polimerizada por 10s. Em seguida dois incrementos de resina composta foram inseridos na cavidade e polimerizados por 60s cada. Após a esfoliação, estes dentes foram processados para visualização das interfaces adesivas em MEV. O grupo controle possuía dez dentes molares decíduos hígidos extraídos por razões ortodônticas que, após a extração, foram restaurados de forma idêntica ao grupo tratado e mantidos por 24h a 37°C. Com isso, dois grupos foram obtidos: adesão por curto período de tempo – controle, e por longo período em meio oral - tratado. Em seguida, foi realizado seccionamento transversal com disco diamantado em aparelho de baixa rotação, no sentido perpendicular à interface adesiva, e a superfície correspondente à interface adesiva foi polida com lixas de papel silicone de abrasividade decrescente 600, 1200 e 2000 e com tecido macio e suspensão de pó de alfa-alumínio em água destilada. Na seqüência, os espécimes foram colocados em solução de ácido fosfórico a 4% por 2s e foram dissecados em temperatura ambiente por 12h. As amostras foram finalmente recobertas com ouro e examinadas em MEV-EC. Após o exame em MEV, os espécimes foram fraturados para que ocorresse a separação da resina com a dentina, os fragmentos foram recobertos com ouro e reexaminados em MEV. Os

espécimes controle apresentaram uma camada híbrida bem formada, com ausência de *gaps* entre dentina e resina. A espessura da camada híbrida mediu entre 3 μ m a 4 μ m e vários *tags* resinosos puderam ser visualizados medindo cerca de 1 μ m a 2 μ m. Na interface resina-dentina mantida em função por 40 meses, observou-se uma grande fenda na parede pulpar da restauração classe II. Em maior aumento notou-se que esta separação ocorreu entre o adesivo e o topo da camada híbrida. A hibridização foi observada ao longo da extensão de dentina. No segundo espécime, que foi mantido por 38 meses em meio oral, também houve a presença de *gap* entre dentina e resina, também sendo observada presença de camada híbrida no restante da interface. O terceiro espécime manteve-se em meio oral por 14 meses. A camada híbrida não foi detectada e um extenso *gap* foi observado ao longo de toda a extensão. Porém, houve formação de *tags* resinosos. A ocorrência de separações entre dentina e resina foi associada à função mecânica *in vivo*, que gerou a possibilidade de ocorrer degradação de componentes da interface adesiva ao longo do tempo, confirmando a hipótese inicial do estudo. Assim, segundo os autores, é crescente a necessidade de questionarmos a estabilidade destas interfaces adesivas em prazo mais longos.

Itou et al.⁸⁴(2001) realizaram um estudo com o objetivo de comparar as diferenças morfológicas e a resistência adesiva atribuídas a diferentes tempos de aplicação do *primer* autocondicionante em esmalte e dentina bovina. Foram utilizadas duas marcas comerciais de *primers* autocondicionantes: *Clearfil SE Bond* (SE) e *Unifil Bond* (UB), em tempos de aplicação de 5s, 20s e 60s. Foi aplicado o teste de resistência à tração e a morfologia da interface foi observada em MEV. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas para os produtos, e suas interações com os tempos de aplicação, exceto para o UB em que foi verificada uma

baixa resistência adesiva em dentina no tempo de 5s de aplicação do produto. As observações em MEV revelaram uma maior penetração do *primer*, tanto em esmalte quanto em dentina, conforme foi aumentado o tempo de aplicação. Estes resultados sugerem não haver efeito adverso com o aumento do tempo de aplicação do *primer*, embora a sua diminuição possa acarretar em efeitos negativos na resistência adesiva em dentina.

Li et al.⁹⁶ (2001) realizaram um estudo para avaliar a durabilidade da adesão à dentina com o passar do tempo, através do estudo da nanoinfiltração. Sobre a dentina de oitenta molares humanos, foi obtida a camada de *smear*, sendo os dentes divididos em: grupo a) *Single Bond –3M Dental Products*; grupo b) *Stae -Vivadent*; grupo c) *Clearfil SE Bond –Kuraray* ; grupo d) *Perma Quik - Ultradent*. A seguir as superfícies foram cobertas com uma camada de resina composta *Silux Plus (3M Dental Products)*, e cada grupo foi dividido em quatro subgrupos: três meses, seis meses ou 12 meses. Depois de decorridos os respectivos tempos de armazenamento as superfícies dentais, com exceção de 1mm adjacente à interface dente/restauração, foram cobertas com esmalte para unhas e imersas em solução de nitrato de prata a 50% por 24h, levadas à solução reveladora e expostas à luz fluorescente por 8h. Três secções foram realizadas longitudinalmente, no sentido vestibulo-lingual. As superfícies seccionadas foram polidas, montadas em *stubs* (suportes) e observadas em MEV-EC, usando o modo de elétron retroespalhado. Segundo os autores, os resultados mostraram que os sistemas que usam ácido fosfórico como condicionador, tiveram uma linha contínua de deposição de prata na base da camada híbrida, enquanto o sistema autocondicionante *Clearfil SE Bond* mostrou uma difusão da prata de forma intermitente e difusa dentro da camada híbrida. Porém, após 12 meses de armazenagem, a deposição de prata aumentou significativamente para todos os sistemas adesivos.

Minto¹⁰⁶ (2001) realizou uma avaliação qualitativa da camada híbrida em MEV quanto ao efeito do condicionamento dentinário em função de sistema adesivo empregado. Empregou 32 terceiros molares humanos extraídos cujos terços oclusais foram seccionados e lixados. Foram preparadas cavidades de classe I de 6mmX4mmx1mm em dentina. Quatro sistemas adesivos (*Scotchbond Multi-Purpose*, *Prime & Bond 2.1*, *Single Bond* e *Prime & Bond NT*) foram aplicados às cavidades tratadas de quatro maneiras: dentina condicionada úmida; dentina condicionada seca; dentina condicionada desproteïnizada úmida e dentina desproteïnizada seca. As cavidades foram restauradas com resina composta *Charisma*. Os espécimes foram termociclados e processados para avaliação em MEV em aumentos de 500 e 2000X. Os resultados revelaram que a camada híbrida foi adequadamente formada quando os adesivos foram aplicados à dentina condicionada úmida; quando a dentina estava seca a camada híbrida foi mal-formada e apresentou severas fendas e afalhas de adesão. Observou-se ainda que a remoção de fibras colágenas com hipoclorito de sódio após o condicionamento ácido causa efeitos danosos à faixa de adesão devido à ausência da camada híbrida.

Em 2001, Ogata et al.¹²⁵ realizaram um estudo para avaliar a importância da direção dos túbulos dentinários na variação da resistência adesiva à dentina. Empregaram os sistemas adesivos: *Clearfil Liner Bond II (LB, Kuraray)*, *Imperva Fluoro Bond (FB, Shofu)*, *Single Bond (SB, 3M)* e *One Step (OS, Bisco)*, 36 molares humanos para o teste de adesão e oito dentes adicionais, para análise ao MEV. Os dentes foram divididos em dois grupos de acordo com a direção dos túbulos dentinários na interface dentina/resina: grupo *perpendicular*, esmalte foi removido perpendicular ao longo eixo do dente e, grupo *paralelo*, onde a metade mesial foi removida paralelamente ao longo eixo axial do dente. Os discos de dentina foram polidos com lixa de papel 600, e as superfícies foram tratadas de acordo com o sistema adesivo

e recomendações dos fabricantes e, em seguida, foi aplicada resina composta *Clearfil AP-X, Kuraray*, para a realização do teste de microtração após armazenamento por 24h em água 37°C. A interface foi submetida à tração a uma velocidade de corte de 1mm/min. Os dados foram avaliados pelo teste de *Fisher* e ANOVA. A análise ao MEV revelou fraturas coesivas na resina de união e resina composta para LB e coesivas na resina de união para FB, SB e OS para os grupos *paralelos*. Nos grupos *perpendiculares*, as fraturas foram coesivas no agente de união e na resina composta para todos os sistemas. A camada híbrida observada apresentou diferença significativa em espessura para cada sistema adesivo e para os grupos *perpendicular* e *paralelo*, respectivamente. Para LB, SB e OS, a espessura da camada híbrida foi maior para o grupo *paralelo* do que o *perpendicular* ($p < 0,05$) e para FB o grupo *paralelo* apresentou maior espessura de camada híbrida do que o grupo *perpendicular* ($p > 0,05$). Os autores concluíram que a resistência adesiva para o grupo paralelo foi maior do que para o grupo perpendicular e que a direção dos túbulos aparenta ser uma variável importante na determinação de resistência de união.

Reis et al.¹⁵⁵ (2001) realizaram um estudo dos vários conceitos de adesão em dentina e discutiram vários fatores que podem prejudicar a hibridização dos tecidos. Relataram a complexidade da adesão à dentina, umidade e reumedecimento da dentina, presença de *smear layer*, condicionamento ácido total. Com relação aos diferentes tipos de solventes e sua atuação em dentina, observaram que os adesivos cujo solvente é a acetona, parecem ser muito mais sensíveis ao substrato mais seco, do que os à base de água que podem propiciar a reexpansão das fibras de colágeno colapsadas durante a secagem. Os adesivos sem água devem ser aplicados no substrato úmido. A acetona e álcool não são capazes de promover reexpansão do colágeno e aumentam sua rigidez, o que impedirá mais ainda a infiltração dos monômeros resinosos. A dificuldade na remoção do excesso

de água também foi abordada pelos autores, que observaram que a forma mais adequada de realizá-la deve ser com o emprego de filtros de papel absorvente. Observaram que incluir no processo de hibridização a *smear layer* constitui-se em uma nova abordagem que diminui a variabilidade da técnica, com sua dissolução e/ou modificação, através dos sistemas autocondicionantes. Estes sistemas podem ser de dois passos (*Clearfil Liner Bond 2V - Kuraray*) onde o condicionador e o *primer* são combinados e o adesivo é aplicado separadamente; ou de passo único (*Prompt L-Pop – Espe*) que apresenta condicionador, *primer* e adesivo, combinados. Estes sistemas são menos sensíveis à umidade, promovem poucas mudanças na superfície de dentina, deveriam promover melhor selamento da dentina, pois teoricamente não haveria discrepância entre profundidade de condicionamento e extensão de infiltração dos monômeros resinosos, apresentam resistência adesiva similar aos sistemas *total-etch*, mas em esmalte não criam retenções típicas como as obtidas com o uso de ácido fosfórico, o que deve ser solucionado com variação na técnica. Os autores concluíram que são necessários mais estudos referentes aos sistemas adesivos e a constante atualização do clínico geral para maior longevidade das restaurações.

Toledano et al.²⁰⁵ (2001) realizaram um trabalho para avaliar a resistência adesiva de compostos resinosos à dentina e esmalte usando três sistemas adesivos, sendo dois deles autocondicionantes: *Clearfil SE Bond* (CSEB), *Etch & Prime* (E&P) e *Scotchbond Multi-Purpose Plus* (SBMP). Trinta molares extraídos foram armazenados em solução de cloramina a 0,5% por um mês, no máximo. Os grupos apresentavam dez dentes. Foram medidos os ângulos de contato de cada agente adesivo para determinar a sua capacidade de molhamento e foi realizado um teste de adesão ao esmalte e dentina com cada tipo de sistema adesivo, sendo que após a fratura todos os espécimes foram observados em estereomicroscópio de luz

para determinar o tipo de fratura (coesiva, adesiva ou mista). Após o teste na dentina superficial, os dentes foram seccionados para obter um nível de dentina profunda, novamente verificou-se o ângulo de contato para os três previamente descritos, em dentina profunda. As médias e desvio-padrão foram calculados para cada variável e teste ANOVA foi aplicado par duas variáveis (ângulo de contato e resistência adesiva). O teste ANOVA foi para analisar a variável independente resistência adesiva ao esmalte. Em seguida foram realizados os testes de comparação múltipla de *Student* e *Newman-Keuls*, com $p < 0,05$. Os resultados mostraram que não houve diferença entre os ângulos de contato encontrados na dentina superficial e profunda; CSEB e E&P resultaram em maior ângulo de contato do que o SBMP. Isso significa que os *primers* autocondicionantes apresentaram-se menos permeáveis e com menor capacidade de molhamento. Na dentina, a profundidade também não influenciou o teste de adesão, sendo que CSEB resultou em adesividade significativamente maior, sendo que não houve diferença significativa entre E&P e SBMP, mas o E&P mostrou os menores valores de resistência adesiva. Uma das razões para a menor resistência adesiva do SBMP quando comparado ao CSEB é o uso prévio de ácido fosfórico, que penetra mais profundamente na dentina, possivelmente causando um excesso de condicionamento e subsequente colapso da rede colágena, levando à formação de uma zona porosa no interior da camada híbrida. Ocorreu fratura adesiva em todos os casos exceto para o CSEB, em que metade das fraturas foi adesiva e a outra metade foi mista. O emprego dos *primers* autocondicionantes pode ser uma alternativa ao ácido fosfórico, pré-tratamento convencional nas técnicas de adesão, reduzindo os passos e o tempo empregado no procedimento. O sistema adesivo *Clearfil SE Bond* mostrou alta resistência de união em dentina e esmalte.

Abdalla & García-Godoy² (2002) desenvolveram um estudo objetivando aproximar os resultados morfológicos obtidos em dentes

extraídos, a exemplo da maioria dos trabalhos da literatura, utilizando uma metodologia *in vivo*, obtendo vantagens como o conhecimento exato da idade dentária, umidade intrínseca e pressão pulpar que, em sua ausência, podem dificultar os estudos laboratoriais em especular o comportamento clínico dos materiais adesivos. Para tanto, vinte pacientes entre 55 a 68 anos de idade com vários dentes anteriores condenados à extração por indicação protética participaram deste estudo. O sistema multi-uso (*Scotchbond Multi-Purpose*) foi utilizado como controle. Outros quatro sistemas adesivos convencionais de frasco único foram utilizados: *One-Step (Bisco)*, *Prime & Bond 2.1 (Dentsply)*, *Syntac SC (Vivadent)* e *Scotchbond 1 (3M Dental Products*, o mesmo que o *Single Bond* na América do Norte). Para cada dente, uma restauração vestibular padronizada com instrumento cortante rotatório de aço *carbide* foi realizada, totalizando seis dentes para cada material testado. Imediatamente após a polimerização resinosa, os dentes foram extraídos e armazenados por uma a três semanas em solução aquosa de cloramina a 1% em temperatura ambiente. A raiz de cada dente foi seccionada com disco de diamante e a coroa foi delimitada para a fratura. Uma das secções foi descalcificada com ácido fosfórico a 37% por 10s e desproteinizados com hipoclorito de sódio a 2% por 60s sobre a interface resina-dentina. A outra secção foi mantida em HCl a 30% por dois dias até a completa dissolução dos tecidos dentários para visualização da morfologia e extensão dos *tags* resinosos. Finalmente, todas as secções e as réplicas de resina foram montadas em suportes de alumínio, metalizadas com ouro e observadas em MEV. Foi verificada a presença da camada híbrida e de *tags* resinosos em todos os grupos estudados, sendo que as diferenças mais marcantes relacionam-se ao grupo do adesivo multi-uso que produziu os maiores valores. Contudo, os autores ressaltam a importância de estudos que correlacionem estes valores ao desempenho clínico dos adesivos dentários.

Akagawa et al.³ (2002) realizaram um estudo da resistência de união à dentina coronária superficial, profunda e à dentina do assoalho pulpar de vinte molares humanos extraídos. Foram confeccionados dez espécimes para cada grupo, onde a superfície de dentina recebeu os sistemas adesivos *Single Bond* (3M Dental Products) ou *Clearfil Liner Bond 2V* (Kuraray), em seguida foi construído um cilindro de resina *Clearfil Photocore* fotopolimerizado por 40s. Após o armazenamento em água a 37°C por 24h, a resistência adesiva foi medida usando máquina de teste universal a uma velocidade de corte de 2.0 mm/min. Os dados obtidos no teste de adesão foram analisados pelo teste de *Fisher* e ANOVA ($p < 0,05$). As modificações na dentina condicionada e camada híbrida foram observadas ao MEV para tanto os espécimes tratados com *Single Bond* e *Clearfil Liner Bond 2V*, de acordo com instruções dos fabricantes, foram imediatamente colocados em uma solução de 50% de etanol e lavados em água sem secagem para prevenir o colapso das fibras colágenas desmineralizadas, em seguida foram desidratados em soluções ascendentes de etanol (50%, 75%, 95% e 100%) por 20min cada, seguido da imersão em HMDS por 10min, secas em frasco de vidro com filtro de papel em temperatura ambiente. Outros espécimes receberam o *Clearfil Liner Bond 2V*, onde a dentina foi condicionada com *LB Primer* por 20s, lavada com acetona por 10s para remover o *primer* e lavada em água destilada, em seguida estes espécimes foram submetidos às concentrações ascendentes de etanol, como descrito anteriormente. Os espécimes receberam uma camada de ouro para a observação das superfícies. A interface de união de espécimes fraturados também foi observada ao MEV. Após armazenamento em água por 24h, os espécimes foram seccionados verticalmente na interface usando um disco diamantado, polidos com pasta diamantada de 1 μ m e imersos em ácido hidrocloreídrico 6N, por 30s e hipoclorito de sódio a 5% por 10min, para remover componentes orgânicos e inorgânicos da dentina. Foi aplicada uma

camada de ouro para a análise ao MEV. Os resultados de resistência adesiva foram de 23MPa para dentina superficial com *Single Bond*, 15MPa para dentina profunda e 13MPa para assoalho pulpar. Para o grupo do *Clearfil Liner Bond 2V* valores mais altos foram observados em todas as regiões (30MPa). Os autores observaram na microscopia que a aparência da dentina condicionada varia de acordo com a região e condicionador. Para o *Single Bond*, foram observadas camadas híbridas de 3-4 μ m e camadas menores do que 0,5 μ m para *Clearfil Liner Bond 2V* em todas as regiões.

Borges ¹³(2002), avaliou a degradação sofrida por diferentes materiais restauradores que contém monômeros resinosos em sua composição, frente a uma situação de alto desafio cariogênico, por meio de cromatografia de líquido de alta resolução (HPLC) e medida do ângulo de contato. As amostras foram divididas em quatro diferentes grupos: grupo 1- TPH Spectrum (Dentsply); grupo 2- Dyract AP(Dentsply); grupo 3- Definite (Degussa) e grupo- Vitremer (3M), sendo A os grupos avaliados antes e B os grupos avaliados após ciclagem de pH. A medição do ângulo de contato foi realizada em um goniômetro Ramé-Hart com 60% de umidade relativa e 25°C de temperatura.. Cada amostra recebeu 4 gotas, uma por vez, em áreas diferentes, obtendo-se 10 medidas em intervalos de 20s.. Os resultados do HPLC demonstrou ter ocorrido degradação em todos os compósitos. O CIV modificado por resina Vitremer não sofreu alteração superficial, sendo as medidas do ângulo de contato muito próximas antes e após a ciclagem (68,64° e 67,18° respectivamente).

Sundfeld et al ¹⁷⁷(2002) verificaram em estudo in vivo e in vitro a efetividade da técnica do condicionamento total quanto ao poder de formação da camada híbrida de adesão e tags em tecido dentinário hígido e pós remoção de cárie. Para tanto foram empregados dois sistemas adesivos (Prime & Bond 2.0-Dentsply e Single Bond-3M) e um ionômero resinoso (Fuji II LC-G.C.). Concluíram após análise em M.^o de luz polarizada que o

comprometimento dos tags não depende dos tipos de materiais empregados, mas sim do tipo de dentina hígida ou pós-remoção de cárie, sendo maiores para a primeira.

Won-suck Oh et al.²³⁴(2002), avaliaram a influência da topografia da superfície de cerâmicas no umedecimento por água ou resina adesiva. Três diferentes tipos de cerâmicas (Eris, Empress e Experimental – todas da Ivoclar) foram tratadas de quatro maneiras: abrasão com jato de óxido de alumínio (A); polimento com lixa de papel SiC 1200 (P); condicionamento com ácido hidrofúorídrico 5% (E) e associação abrasão com jato/condicionamento com ácido hidrofúorídrico (A/E). Os 120 espécimes foram divididos em 12 grupos de 10 dentes cada de acordo com as combinações cerâmica/tratamento. Utilizando água ou resina adesiva (65% Bis-GMA e 35% TEGDMA) foi verificado o ângulo de contato com os diferentes substratos. Os autores concluíram após os testes estatísticos t, ANOVA e Duncan que o umedecimento ou molhabilidade das cerâmicas foi afetada pelos diferentes tratamentos; o tratamento E e A/E promoveram os menores ângulos de contato refletindo-se em maior umedecimento pela maior superfície real; água e resina adesiva exibiram comportamento de molhabilidade diferente na superfície das cerâmicas tratadas, daí a significância dos resultados com resina, visto que são elas utilizadas para adesão das peças cerâmicas ao dente.

Baseados na importância que a camada híbrida exerce no mecanismo atual de adesão, Arrais & Giannini⁸ (2002) avaliaram as diferenças dimensionais desta camada, quando estabelecida a união entre a dentina humana e quatro sistemas adesivos (n=8): um convencional de múltiplos passos (*Scotchbond Multipurpose Plus* - SM), um convencional de frasco único (*Single Bond* - SB) e dois autocondicionantes (*Etch & Prime 3.0* - EP e *Clearfil SE Bond* - CB). As amostras foram preparadas a partir da oclusal dentinária de molares humanos, sobre as quais, após aplicação dos

sistemas adesivos e da resina composta, foi analisado o perfil de penetração resinosa por meio do MEV em uma magnificação de 2000x. Os perfis pré-seccionados foram polidos com lixas de óxido de alumínio (granos 600, 1000 e 1200, respectivamente) e com pastas de diamante (6, 3, 1 e $\frac{1}{4}$ μm , respectivamente). Em seguida, para facilitar a visualização da camada híbrida na interface dentina-resina, foi aplicado ácido fosfórico a 37% por cinco segundos. Na preparação para o exame em MEV, as amostras foram fixadas em solução *Karnovsky*, pós-fixadas em tetróxido de ósmio, desidratadas em concentrações ascendentes de acetona (30%, 50%, 70%, 90% e 100%), secas ao ponto crítico em aparelho com CO_2 e cobertas com ouro. As medidas de espessura da camada híbrida foram analisadas estatisticamente por ANOVA, para os diversos sistemas. Foram registradas espessuras de camada híbrida de diferentes valores para cada tipo de sistema utilizado, sendo o SM, o responsável por produzir a de maior espessura, seguida pelo SB. Já os adesivos EP e CB resultaram em espessuras de menores valores.

Para caracterizar a dentina e esmalte bovino, Dutra-Corrêa et al.⁴⁷ (2002), empregaram a difratometria de Raios X e espectroscopia por infravermelho destas estruturas, para que os resultados obtidos em trabalhos com dentes bovinos possam ser extrapolados com segurança para dentes humanos. Os dentes bovinos foram armazenados em soro fisiológico por um período máximo de duas semanas. Para o preparo das amostras, os mesmos foram seccionados com disco de diamante para separar esmalte e dentina. Empregou-se a difratometria de raios X (DRX) e os grupos funcionais avaliados por espectroscopia de infravermelho (IV), para determinar as fases cristalinas. Os autores observaram que hidroxiapatita (HAp) mostrou-se como majoritária em dentina e esmalte, e que o esmalte apresentou maior cristalinidade do que a dentina, apresentando maior

concentração de C-O, além de maior hidratação. Com base nos dados obtidos, os autores concluíram que o dente bovino é semelhante ao humano, quanto à fase HAp presente, cristalinidade e grupos funcionais, nada impedindo, nestes aspectos, a sua utilização em substituição ao dente humano.

Giachetti et al.⁶⁹ (2002) propuseram examinar as alterações morfológicas existentes na dentina esclerótica em MEV e em MET. Observaram que os espécimes mostraram alterações no diâmetro tubular e no conteúdo intratubular, acarretando variados graus de obstrução dos túbulos. Os autores confirmaram a hipótese prévia da ocorrência de uma aposição de dentina peritubular associada com uma deposição intratubular de cristais, embora ainda não esteja confirmado este mecanismo. Trajetos escleróticos são criados nos túbulos que podem tornar-se totalmente ocluídos ou, ainda, apresentar uma cavidade central. Em geral, estes trajetos são circundados por uma fina fissura que tem sido interpretada de forma bem variada. Muitos afirmam que a dentina esclerótica tem um aumento na composição mineral, mas sem esclarecer se somente há um aumento nesta quantidade ou se é também devido à hipermineralização da dentina preexistente. Os autores também discutem os relatos da literatura em relação às hipóteses da gênese da dentina esclerótica, sendo que alguns afirmam ser um fenômeno passivo de dissolução e precipitação enquanto outros sugerem haver um envolvimento ativo dos processos odontoblásticos e da polpa. Desde que nenhum estudo confirme ou refute estas hipóteses, deve-se associar a dentina esclerótica a um evento multifatorial, devido tanto ao aumento da espessura de dentina peritubular e da precipitação de sais de cálcio intratubularmente quanto a mineralização de estruturas orgânicas presentes no lúmen dos túbulos.

Macari et al.⁹⁸ (2002) avaliaram a interface dentina-resina de três sistemas adesivos de quarta geração (Scotchbond Multipurpose Plus,

SBMP; *Optibond*, OPB e *Denthesive Bond II*, DT) em MEV. Para isso, os adesivos e suas respectivas resinas compostas foram aplicados no interior do canal radicular de seis dentes incisivos e caninos humanos de acordo com as recomendações do fabricante. Os dentes foram embebidos em resina acrílica e cortados transversalmente ao canal radicular e perpendicularmente à interface dentina-resina. Os resultados mostraram que houve verdadeira hibridização e formação de *tags* de resina no interior dos túbulos dentinários de todos os grupos experimentais. No grupo SBMP houve maior impregnação do *primer* e adesivo na dentina peri e intertubular, resultando em *tags* de resina em maior quantidade com camada híbrida homogênea e consistente. O grupo OPB apresentou características semelhantes ao SBMP, mas foram vistos *gaps* entre as paredes dos túbulos dentinários e os *tags*, estes, mais curtos e a camada híbrida menos contínua. O grupo DT teve características diferentes dos outros dois: a camada híbrida não se apresentou homogênea e os comprimentos dos *tags* de resina foram variáveis; os túbulos dentinários não foram abertos e a *smear layer* não foi removida, devido à ausência do condicionamento ácido prévio da dentina. Variações na espessura de camada híbrida foram observadas entre os produtos, entre os espécimes do mesmo adesivo e em áreas diferentes do mesmo espécime. A análise da camada híbrida em MEV revelou diferentes padrões de hibridização, sugerindo que a união da dentina ao sistema adesivo é influenciada por muitos fatores, além disso, a padronização do substrato dentinário é impossível.

Torii et al.²⁰⁸ (2002) investigaram o efeito do condicionamento ácido dentinário precedente à utilização do adesivo autocondicionante. Para tanto, os dentes bovinos foram aleatoriamente divididos em quatro grupos de vinte espécimes cada. Os tratamentos superficiais foram os seguintes: a) grupo 1: esmalte desgastado com lixa de granulação 600; b) grupo 2: esmalte desgastado e condicionado com ácido

fosfórico a 35% por 15s; c) grupo 3: dentina desgastada; d) grupo 4: dentina condicionada da mesma forma que o grupo 2. Subseqüentemente, cada grupo foi dividido em dois subgrupos, com dez espécimes cada, sendo aplicado duas marcas de sistema adesivo auto-condicionante: *UniFil Bond* (UB) e *Clearfil SE Bond* (SE), seguido da aplicação de uma camada de resina composta (AP-X), conforme normas do fabricante. Para avaliação das performances foi realizado o teste de tração, por meio do qual obtiveram-se os seguintes resultados: 11,2MPa (Grupo 1-UB); 14,3MPa (Grupo 1-SE); 16,3MPa (Grupo 2-UB); 20,5MPa (Grupo 2-SE); 13,4MPa (Grupo 3-UB); 16,7MPa (Grupo 3-SE); 9,3MPa (Grupo 4-UB); 12,6MPa (Grupo 4-SE). A análise através do teste ANOVA e *Scheffe* revelou um aumento significativo nos valores de resistência adesiva para o esmalte, enquanto que para a dentina houve um decréscimo, também significativo.

Breschi et al.²¹ (2003), avaliaram as características morfológicas da interface dentina-resina entre quatro sistemas adesivos (dois autocondicionantes e um convencional, este último precedido ou não pela desproteinização colágena da dentina) e a dentina humana proveniente de terceiros molares hígidos. O objetivo central deste estudo foi testar a hipótese nula de que as características da camada híbrida não diferem entre os diferentes sistemas adesivos quando avaliados em duas técnicas microscópicas de alta resolução (MET e MEV-ECl, i.e., MEV por campo de emissão com associação de um equipamento que permite a análise da amostra submetida diretamente à lente objetiva). Anteriormente a este sistema, o microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo (MEV-EC) era o sistema de obtenção de imagens mais apurado e seguro em manter uma alta fidelidade de estruturas biológicas. Com a adaptação deste novo equipamento ao MEV-EC, foi possível reduzir ou eliminar alterações estruturais, denominadas artefatos de técnica. O esmalte oclusal de doze terceiros molares hígidos foi removido e doze fatias de dentina paralelas à

oclusal da região mediana das coroas dentárias foram obtidas e designadas aleatoriamente a um dos quatro tratamentos (n=3); a) *Clearfil SE Bond*, Kuraray; b) *One Coat Bond*, Coltène; c) *Prime & Bond NT*, Dentsply; d) *Prime & Bond NT* precedido do *AD Gel*, Kuraray). Após a aplicação do adesivo e fotopolimerização, uma resina *flow* de 1mm de espessura foi aplicada e fotopolimerizada por 40s. A resina *flow* foi utilizada para otimização da ultramicrotomia e para evitar danos à lâmina de diamante utilizada na preparação dos espécimes para o MET. Após o processamento dos espécimes para avaliação ao MET, os mesmos foram cobertos com um filme de platina-carbono para análise posterior no MEV-ECI. Para o *Clearfil SE Bond*, a observação em MET revelou uma camada híbrida de 0,5 a 0,7 μ m de espessura e *smear plugs* misturados à resina; o *primer* ácido não foi capaz de remover a *smear* da entrada dos túbulos, mas penetrou entre ela, obtendo a extensão dos *smear plugs*. Estruturalmente, a camada híbrida revela cristais similares a hidroxiapatita observados ao MET e vistos com maiores detalhes pelo MEV-ECI. Também foi possível observar com o MEV-ECI como a *smear layer* residual foi incorporada ao topo da camada híbrida. Esta observação foi complementada pelas características vistas no MET. Para o *Prime & Bond NT*, o MET revelou a ocorrência de grande intimidade entre as partículas de carga dispersas e as fibras colágenas superficiais da camada híbrida. Apesar dos autores recomendarem a complementação das duas ferramentas de estudo para observação de ultra-estruturas e sua relação com o sistema resinoso, o MET foi capaz de avaliar em maior nível e qualidade de resolução a região de transição entre a camada híbrida e a dentina intacta.

Em 2003, Dutra-Corrêa et al.⁴⁸ realizaram um estudo micromorfológico das dentinas humana e bovina, com o objetivo de normalizar o uso de dentes bovinos como substitutos dos dentes humanos

em pesquisas científicas. Os autores utilizaram dentes bovinos recém-extraídos fixados em formol a 10%, por 24 horas e conservados em formol a 2% até o momento da preparação das lâminas; dez lâminas preparadas pelo método de desgaste e cem lâminas preparadas por descalcificação, foram coradas pelos métodos de HE e Tricrômico de Masson. Com base no estudo das lâminas, os autores concluíram que a dentina bovina apresenta maior número de túbulos dentinários nas proximidades do tecido pulpar e menor número próximo ao limite amelodentinário, como ocorre na dentina humana. Com relação ao diâmetro dos túbulos, foi observado que, ao contrário do que ocorre na dentina humana, os túbulos dentinários da dentina bovina têm maior diâmetro próximo do limite amelodentinário, sendo que o diâmetro diminui nas proximidades da polpa. A distribuição da dentina intertubular bovina nas proximidades da polpa não é uniforme ao longo do dente e a dentina bovina possui estruturas tubulares que foram denominadas estruturas tubulares dentinárias que estão presentes tanto na coroa como na raiz, sendo mais freqüentes na coroa e não apresentam distribuição regular. Os autores observaram também que, quando se utilizam dentes bovinos na região próxima à polpa, simulando procedimentos de hibridização dentinária, há menor permeabilidade, devido ao menor diâmetro dos túbulos dentinários, contrário à dentina humana, e maior área de dentina intertubular. Nas áreas próximas ao esmalte encontraram menor número de túbulos com maior diâmetro, tornando esta região menos mineralizada e mais permeável. Estas diferenças de permeabilidade e quantidade de conteúdo aquoso no fluido dentinário podem influenciar nos testes de microinfiltração e resistência à tração e cisalhamento, pois estão diretamente ligados à eficiência da hibridização. Verificaram que os dentes bovinos utilizados em incidência e profundidade aleatórias podem alterar os resultados em testes de adesão e microinfiltração, quando comparados à dentina humana; não há, morfológicamente, na dentina bovina uma região idêntica à dentina humana;

a região que a dentina bovina mais se assemelha à dentina humana é em corte transversal, na região mediana, área de dentina primária próximo à polpa; e que são necessários outros estudos para complementar seus achados.

Egle Milia et al.¹⁰⁵, em 2003, usaram a MET para compararem a ultra-estrutura da camada híbrida formada por um sistema adesivo de frasco único (Optibond solo – Kerr) e um autocondicionante (Clearfil LB2V – Kuraray). O estudo foi realizado “*in vivo*” em pré-molares indicados para extração ortodôntica, por meio de preparo e restauração seguindo as orientações dos fabricantes para a técnica adesiva. Um grupo controle sem adesivo foi empregado. Houveram nítidas diferenças entre a morfologia da camada híbrida formada por ambos sistemas. Ocorreram irregularidades na zona coronal da camada híbrida para ambos sistemas. No de frasco único as irregularidades foram atribuídas à técnica de condicionamento, enquanto que para o autocondicionante foi atribuído ao material resinoso. Concluem que essas irregularidades são locais potenciais de falha de adesão.

Ikemura et al.⁸¹ (2003), realizaram um estudo para caracterizar a interação do ácido 4 acriloxietiltrimelítico (4AET), presente no sistema adesivo Reactmer Bond (experimental), com a apatita dentinária, para medir a solubilidade do 4AET-Ca (sal produto dessa interação) e examinar a ultra-estrutura da interface de adesão criada por esse sistema. Para a avaliação da solubilidade do 4AET-Ca cortes de dentina bovina foram tratados com NaOCl 0,1% por 10 min. Ou NaOCl 5% por 10 ou 30 min e examinados em espectrofotômetro infra-vermelho (FT-IR/ATR Spectra-Tech, Inc., Shelton, CT, USA/ Model FTS-SSA, Bio-Rad Digilab Division, Cambridge, MA, USA), após mistura AET/HEMA (40 – 60%). A dentina humana foi analisada por TEM após tratamentos com os comonômeros. Os resultados de solubilidade mostraram que o 4AET-Ca é muito pouco solúvel, tanto em água, quanto em HEMA ou solução de HEMA/água. A

análise em IR indicou que o carboxilato de Ca foi formado em todos os espécimes de dentina após a aplicação do 4AET com ou sem pré-tratamento com NaOCl. A TEM mostrou uma camada híbrida de 1µm com cristais de apatita encapsulados por uma camada elétron-densa. Sugerem os autores que os grupos carboxílicos ionizados no 4AET podem interagir com o Ca^{+2} dos cristais de apatita da camada híbrida parcialmente desmineralizada para formar um sal insolúvel (4AET-Ca), que pode contribuir para a adesão em dentina.

Itou et al.⁸⁵ (2003) realizaram um estudo para avaliar o efeito dos métodos de secagem, usados em MEV, sobre a espessura da camada híbrida obtida com diferentes sistemas adesivos. Foi empregado um sistema de união de condicionamento ácido total (*Photobond*), um sistema adesivo de três passos (*Scotchbond Multi-Purpose*), um sistema de adesão úmida (*All-Bond 2*), e um sistema de *primer* autocondicionante (*Mac Bond II*). Para permitir a medição da espessura de camada híbrida, as interfaces de dentina-resina foram polidas e condicionadas para remover os debris de polimento com a imersão em NaOCl a 10% por 4h. Metade dos espécimes de cada grupo foram submetidos à fixação, secagem ao ponto crítico e metalização. Os espécimes restantes foram secos em ar ambiente antes da metalização. Os autores realizaram análise em MEV para determinar estrutura e espessura da camada híbrida. Observaram que os métodos de secagem afetaram a espessura da camada híbrida e que a secagem ao ponto crítico produziu maiores espessuras de camadas híbridas ($p < 0,05$). Entre os sistemas adesivos de condicionamento ácido total as camadas híbridas mais delgadas foram obtidas com o *Photobond*; o *Scotchbond Multi-Purpose* e *All-Bond 2* produziram camadas híbridas de espessura intermediária. A menor espessura de camada híbrida encontrada foi produzida pelo sistema adesivo com *primer* autocondicionante, *Mac Bond II*.

Com a preocupação de comparar o tipo de substrato dental utilizado em testes de resistência adesiva, Lopes et al.⁹⁷ (2003) empregaram esmalte e dentina de dentes humanos e bovinos. Desgastaram-se vinte metades de coroas de dentes humanos e quarenta coroas de dentes bovinos, até a obtenção de uma área plana de 5mm de diâmetro. As oitenta amostras foram separadas em quatro grupos de vinte espécimes cada, sendo: a) dente humano em esmalte; b) dente bovino em esmalte; c) dente humano em dentina; d) dente bovino em dentina. As amostras de cada grupo foram divididas em dois subgrupos de dez espécimes, de acordo com o sistema de união utilizado: a) *Scotchbond Multi-Use* – SBMU; b) *Clearfil Liner Bond 2V* – CLB2V. Em seguida confeccionou-se um cilindro de resina composta Z100 (4mm de diâmetro x 5mm de altura), utilizando uma matriz bipartida, para submeter os corpos-de-prova ao ensaio de cisalhamento em máquina Instron com velocidade de 0,5mm/min. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias, ao teste de *Tukey* (5%). Os autores não verificaram diferença estatística entre os dentes humanos e bovinos em esmalte para os materiais SBMU e CLB2V. Em dentina humana, SBMU apresentou média estatisticamente inferior, quando comparado à dentina bovina. Não foi observada diferença estatística entre os substratos para o material CLB2V aplicado em dentina.

Em 2003, Rauscher¹⁵³ avaliou *in vitro* a qualidade da interface adesiva em dentina normal e hipermineralizada frente a dois sistemas adesivos de abordagem adesiva distinta, convencional e autocondicionante. Para tanto, quarenta incisivos bovinos tiveram suas coroas seccionadas ao meio de modo a se separarem as porções mesiais e distais, obtendo-se oitenta hemi-seções. Em seguida, a superfície vestibular foi desgastada até a obtenção de 1,5mm de dentina remanescente e os espécimes foram divididos em dois grupos: a) dentina normal - N, mantidos em água destilada a 37°C; b) hipermineralizados - H, mantidos em solução

hipermineralizante a 37°C por 14 dias. A seguir, cada grupo foi subdividido, de acordo com o sistema adesivo utilizado (n=20), em: a) S - condicionamento ácido + *Single Bond*, 3M Dental Products; b) O - *One-Up Bond F*, Tokuyama. Uma resina micro-híbrida foi posteriormente aplicada em todos os grupos, conforme normas do fabricante (*Tetric-Ceram*, Vivadent), seguido do armazenamento por duas semanas. Após os perfis de adesão terem sido polidos, foram submetidos a um desafio ácido-base e processados para análise em MEV, sendo atribuídos escores segundo o grau de porosidade e presença de *gap* nestas interfaces. Os dados foram analisados estatisticamente com os testes de *Kruskal-Wallis*, *Dunn* e exato de *Fisher* ($\alpha = 5\%$), determinando a melhor interação para ON, sendo que o grupo H obteve o pior nível de qualidade da interface adesiva para os dois sistemas adesivos. A autora observou que estes resultados sugerem que: a) os adesivos autocondicionantes aplicados à dentina normal são promissores em substituir os sistemas convencionais; b) estudos mais profundos devem ser ainda conduzidos em busca de melhores resultados para ambos os sistemas adesivos aderidos em dentina hipermineralizada.

Com a preocupação de aproximar os estudos laboratoriais com a prática clínica, Sakoolnamarka et al.¹⁶⁶ (2003), investigaram a micromorfologia da interface resina-dentina entre três sistemas adesivos autocondicionantes (*One Coat Bond*, *Clearfil SE Bond* e *One-Up Bond F*) e a dentina afetada por cárie obtida pelos métodos de instrumentação mecânica (rotatório) ou de remoção químico-mecânica, com o Carisolv. Sessenta molares cariados foram extraídos e submetidos à remoção do tecido cariado com um dos métodos acima se aplicaram um dos sistemas adesivos e posteriormente duas técnicas de preparação de amostras para MEV foram utilizadas: fratura ou desafio ácido-base sobre as interfaces de adesão. Na técnica de fratura, uma ranhura foi confeccionada ao redor do espécime,

anteriormente ao passo de fixação com formalina a 10% tamponada, em seguida foram desidratados em concentrações ascendentes de etanol até 100%, foram submetidos à secagem ao ponto crítico e fraturados ao longo da ranhura pré-confeccionada. Na técnica do desafio ácido-base, os espécimes foram seccionados verticalmente ao longo da interface adesiva, fixados em formalina fosfatada a 10% tamponada, foram polidos com pasta diamantada de 0,25µm e imersos em ácido ortofosfórico a 10% por 3-5s e hipoclorito de sódio a 10% por 10min. Todos os espécimes foram metalizados com ouro e observados ao MEV. Todos os grupos revelaram a formação da camada híbrida. Entretanto, a espessura variou conforme o sistema adesivo e técnica de remoção de cárie empregada. O *One Coat Bond* mostrou a camada híbrida mais espessa em dentina cariada, aproximadamente 2µm, enquanto o *One-Up F* aderido à dentina normal, exibiu a camada híbrida mais fina (0,3µm). Os autores concluíram que os três sistemas adesivos selecionados poderiam ter êxito na adesão à dentina afetada por cárie. Entretanto, o condicionamento desta dentina deve ser conduzido cautelosamente desde que um sobre-condicionamento possa ocorrer e o adesivo pode não ser capaz de infiltrar em toda a profundidade de desmineralização.

Toba et al.²⁰⁴ (2003) estudaram a resistência adesiva na dentina coronária e dentina do assoalho da câmara pulpar empregando dois sistemas adesivos (*Clearfil SE Bond* e *Single Bond*) comparando a ultra-estrutura da interface adesiva em duas regiões. Foram empregadas fatias de 2mm de espessura de trinta molares humanos na dentina coronária e no assoalho da parede pulpar, subdivididas em três grupos: *Clearfil SE Bond* empregado de acordo com instruções do fabricante, *Single Bond* aplicado após condicionamento ácido em dentina úmida (grupo de geçagem com gapel bsorvente) e em dentina ressecada por 30s (grupo seco), seguido da confecção de um cilindro de resina composta *Clearfil AP-X* no primeiro grupo

e Z250 no grupo 2 e 3. Foi empregada uma máquina de teste universal para a medir a resistência adesiva a microtração a uma velocidade de corte de 1mm/min. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística ANOVA e teste *Fischer* PLSD ($p=5\%$). A ultraestrutura da dentina fraturada foi analisada ao MEV. A resistência adesiva para o sistema adesivo *Clearfil SE Bond* e *Single Bond* foi de 40MPa na dentina coronária e 30MPa na dentina no assoalho pulpar. Entretanto, a adesão com *Single Bond* em dentina seca foi significativamente menor. A análise ao MEV revelou espessura de camada híbrida menores de $1,0\mu\text{m}$ em dentina coronária e pulpar. Para o *Single Bond* foi observada camada híbrida de espessura $3-4\mu\text{m}$ na dentina coronária e mais delgada na dentina pulpar. Variações morfológicas e estruturais em dentina influenciaram a resistência adesiva na parede do assoalho pulpar. Os autores concluíram que a resistência adesiva das resinas na dentina pulpar foi menor do que na dentina coronária para ambos os sistemas empregados. Entretanto, o *primer* autocondicionante promoveu uma união mais confiável à dentina de ambas as regiões.

Toledano et al.²⁰⁶ (2003), realizaram um estudo para determinar a resistência adesiva de cinco sistemas adesivos na dentina superficial e profunda. Foram usados trinta molares humanos extraídos, dos quais se obteve secções transversais na coroa, próximo ao LAD ou próximo à polpa, para expor fatias de dentina superficial e profunda. As superfícies foram tratadas com: a) três sistemas adesivos de condicionamento ácido total (*Single Bond*, *Prime&Bond NT* e *Excite*); b) um sistema adesivo com *primer* autocondicionante (*Clearfil SE Bond*); c) um sistema adesivo autocondicionante de passo único (*Etch&Prime 3.0*), seguindo as instruções dos fabricantes. Após o tratamento das superfícies foram construídos cilindros de resina composta Z250, de 6mm de altura, pela técnica incremental. Os espécimes foram armazenados por 24hs em água a 37°C ,

então os espécimes foram cortados para obtenção de áreas de adesão de 1.0mm², posteriormente levadas à *Instron* com velocidade de corte de 0,5mm/min. Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística ANOVA e comparações múltiplas (p=0,05). As interfaces de união foram analisadas ao MET e a nanoinfiltração foi estudada através do emprego da técnica do corante de prata. Os autores observaram que o *Single Bond*, *Prime&Bond NT* e o *Clearfil SE Bond* apresentaram performance semelhante quando empregados na dentina superficial; o menos valor foi obtido com *Etch&Prime 3.0*. Na dentina profunda, os maiores valores de adesão foram encontrados com *Clearfil SE Bond* e *Prime&Bond NT*. A resistência adesiva do *Prime&Bond NT* e *Excite* foram significativamente maior em dentina profunda do que em dentina superficial, os demais sistemas apresentaram resistência semelhante nas duas profundidades estudadas. A nanoinfiltração manifestou-se com extensões variáveis em todas as camadas híbridas examinadas. Os autores concluíram que existem diferenças na resistência adesiva dos sistemas analisados nas diferentes profundidades avaliadas.

Torii et al.²⁰⁹ (2003), avaliaram a capacidade do N acrilóil ácido aspartico (N-Aasp) em solução aquosa ser utilizado como *primer* autocondicionante na adesão ao esmalte, comparado com o ácido fosfórico 40%. Um *primer* autocondicionante experimental foi preparado por dissolução do N-Aasp em água, obtendo-se várias concentrações (5 – 10 – 15 e 20%). A solução foi usada sem receber lavagem pós aplicação e comparada ao ácido fosfórico 40%. Foram feitos testes de resistência adesiva (*TBS*) e análise em MEV do padrão de condicionamento. Observaram que o aumento da concentração do N-Aasp gerava uma solução com menor pH e maior poder de desmineralização assemelhando-se ao ácido fosfórico 40%, sendo considerado promissor como *primer* autocondicionante. Além disso, os autores obtiveram dados de resistência

adesiva semelhante para esmalte e dentina quando as variadas concentrações do N-Aasp foram utilizadas.

Cal-Neto et al.²⁸ (2004), realizou um estudo com o objetivo de comparar o efeito de um sistema adesivo autocondicionante e um sistema de ácido não lavável (NRC), quanto à profundidade de penetração na dentina de dentes humanos, através da observação em MEV. Desgastada a superfície oclusal de molares humanos, seis grupos foram formados: a) Prime & Bond NT (NT), controle negativo; b) Ácido fosfórico 37% + Prime & Bond NT (PANT), controle positivo; c) NRC + Prime & Bond NT (NRCNT); d) NRC + Prime & Bond 2.1 (NRCPB); e) NRC + Scotch Bond MP (NRCSB); e f) Prompt L-Pop (PLP). Todos foram cobertos com Diract AP. Após o desafio ácido-base, três examinadores atribuíram escores para o grau de penetração, onde sem penetração = zero; e penetração máxima = 3. Os testes estatísticos de Kruskal Wallis e Mann-Whitney a 5% evidenciaram grupos homogêneos (NT, NRCPB, NRCSB, e PLP); (NRCNT) e (PANT). Os autores concluíram que o sistema adesivo autocondicionante e o NRC apresentaram menor penetração em dentina que o sistema adesivo convencional.

A adesão às estruturas dentais deve selar eficientemente as margens após a remoção de esmalte. Para verificar a hipótese de que sistemas adesivos simplificados são eficientes em minimizar a permeabilidade após o preparo dental, Chersoni et al.³⁹ (2004) empregaram um estudo envolvendo experimentos clínicos e laboratoriais. Para a avaliação *in vivo* foram empregados 24 pré-molares de 17 pacientes, que necessitavam de preparos para prótese fixa. Para a fase *in vitro*, 35 terceiros molares recém-extraídos foram obtidos a partir de um protocolo para pesquisa, armazenados em solução de cloramina por até um mês. Foram utilizados quatro sistemas adesivos autocondicionantes (*Adper Prompt*, *3M ESP*; *Xeno III*, *Dentsply De Trey*; *One-Up Bond F*, *Tokuyama Corp.*; *iBond*,

Heraeus Kulzer) e um sistema adesivo autocondicionante de dois passos como controle (*UniFil Bond, CG Corp.*). Cinco dentes foram destinados para cada um dos sistemas adesivos. Para o estudo *in vivo* quatro dentes de cada grupo foram analisados em MEV. A análise *in vitro* incluiu cinco dentes para cada sistema adesivo. Para cada dente a condutância hidráulica foi medida em três tempos: a) após o condicionamento ácido para a determinação da máxima condutância; b) após a formação de *smear layer*; c) após a aplicação do sistema adesivo. Dez dentes foram usados na segunda parte do estudo *in vitro* com o emprego de uma resina como material de impressão; dois dentes de cada grupo foram analisados em MET. Os autores observaram que a presença de *smear layer* reduziu a condutância para 12-18% da apresentada por dentina condicionada com ácido. A condutância *in vitro* da dentina aderida com os quatro sistemas adesivos foi semelhante ou maior do que aquela da dentina recoberta por *smear layer*. Em contraposição a condutância da dentina submetida ao controle foi significativamente menor do que a dentina recoberta por *smear layer*. Os autores concluíram que nenhum sistema adesivo autocondicionante produziu maior selamento da dentina comparado àquele promovido pela *smear layer*, nos testes *in vivo* e *in vitro*.

As características morfológicas da dentina são responsáveis pelo comportamento desta estrutura frente às técnicas de adesão, sendo importante conhecer detalhadamente o substrato para predizer seu comportamento em testes de novos materiais. Dutra-Corrêa et al.⁴⁶ (2004) realizaram em estudo comparativo da densidade tubular e diâmetro dos túbulos dentinários em dentina bovina condicionada e fraturada, com a finalidade de empregar estes dentes em substituição aos dentes humanos em pesquisas. Foram empregados trinta incisivos bovinos, divididos aleatoriamente em dois grupos: a) Grupo I - dentes cortados e condicionados com ácido fosfórico a 35% por 90s; b) Grupo II - dentes fraturados. As

amostras foram processadas e analisadas em MEV em três diferentes profundidades. Os resultados foram processados estatisticamente, observando-se os valores médios de cada região e respectivos desvios padrão. Os autores observaram que para os dois grupos a dentina bovina apresentou maior diâmetro dos túbulos próximo ao LAD (GI: $5,21 \pm 0,64 \mu\text{m}$ e GII: $2,30 \pm 0,09 \mu\text{m}$) e menor diâmetro perto da polpa (GI: $2,71 \pm 0,72 \mu\text{m}$ e GII: $1,77 \pm 0,06 \mu\text{m}$). A dentina apresentou maior densidade tubular /área próximo à polpa (GI: $50.310 \pm 11.178 \text{mm}^2$ e GII: $44.901 \pm 8.427 \text{mm}^2$) e menor densidade nas proximidades do LAD (GI: $18.722 \pm 2.951 \text{mm}^2$ e GII: $35.756 \pm 6.174 \text{mm}^2$). No Grupo II, a dentina peritubular mostrou-se mais espessa nos túbulos próximos ao LAD. Os autores puderam concluir que, estes resultados podem interferir na permeabilidade da dentina e alterar resultados em testes de adesão.

El-din et al.⁵⁵ (2004), realizaram uma revisão cuidadosa com relação ao substrato dentinário esclerosado cervical não cariado. Essa extensa revisão incluiu a etiologia, o diagnóstico clínico, a micro-estrutura e suas variações morfoçógicas e químicas, a adesão a diferentes áreas (oclusal e gengival, profunda e superficial), além de ressaltar importantes observações com relação aos estudos clínicos e laboratoriais. Concluíram a revisão observando que muito há de ser pesquisado para oferecer alternativas adesivas a esse substrato no que se refere à qualidade de adesão a longo prazo, tais como o aumento do tempo de condicionamento ou de permanência dos auto-condicionantes, um outro passo condicionador, ácidos específicos e remoção mecânica da camada superficial entre outros.

Com a crescente preocupação em investigar a degradação da união entre resina e dentina, Koshiro et al.⁹³(2004) avaliaram em um estudo *in vivo* a durabilidade da união e as modificações morfológicas na interface de dois sistemas adesivos. Foram preparadas cavidades CI V na

superfície vestibular de 14 dentes íntegros de dois macacos. As cavidades foram restauradas com um sistema adesivo convencional – *Single Bond* e resina composta Z250 ou, com um sistema adesivo autocondicionante *Unifil Bond* e resina composta Z250. Após um ano, dez dentes adicionais foram restaurados com os mesmos materiais e os animais foram sacrificados após 24h. Todos os dentes foram submetidos ao teste de microtração. Após a fratura, as superfícies foram examinadas morfológicamente ao MEV e após o polimento de secções, examinou-se a interface resina/dentina. Os autores observaram que a resistência adesiva medida após 24h do procedimento adesivo, foi maior do que a observada após um ano, para os dois materiais. Entretanto, a interface adesiva produzida pelo sistema autocondicionante *Unifil Bond* não revelou modificações notáveis em sua morfologia entre os espécimes do grupo 24h e do grupo um ano. Os autores concluíram que a resistência adesiva diminuiu com o tempo, para os dois sistemas adesivos e que a interface de união com sistema autocondicionante foi relativamente estável com o passar do tempo, quando comparada àquela obtida com o sistema adesivo convencional.

Com a mesma preocupação de avaliar a longevidade da união, através de teste de resistência adesiva e análise morfológica, Tay et al.¹⁹⁹ (2004) empregaram sistemas adesivos autocondicionantes à dentina. Observaram também se um atraso na polimerização da resina, bem como o uso de uma resina de ativação dual, podem interferir nos resultados. Foram avaliados sete sistemas adesivos convencionais e um sistema adesivo autocondicionante experimental. Uma resina composta de ativação dual foi utilizada nas seguintes condições: a) grupo I -somente pasta base fotopolimerizada – controle; b) grupo II - pasta base e catalizador em ativação dual mantida em ambiente escuro; c) grupo III fotoativação da pasta base após a manutenção da resina aplicada ao substrato por 20min, em ambiente escuro. Após o teste de microtração, as superfícies foram

analisadas ao MEV. Amostras das interfaces adesivas, não submetidas ao teste, dos grupos II e III foram examinadas ao MET. Os resultados indicaram que todos os adesivos apresentaram diminuição significativa na resistência adesiva quando processados como os grupo II e III ($p < 0,001$). A camada híbrida estava intacta, com a presença de bolhas de água que se desenvolveram ao longo da interface nestes dois grupos, podendo ser responsável pelo declínio da resistência adesiva. Quanto à união à dentina desidratada, cuja ativação por luz ocorreu tardiamente, não houve o comprometimento da resistência adesiva. Segundo os autores, os resultados com a polimerização química da resina composta são melhores, mas são mais variáveis e são dependentes do sistema adesivo empregado.

Com o objetivo de verificar a permeabilidade do adesivo após a polimerização, com evidência de estudo *in vivo*, Tay et al.²⁰⁰ (2004) verificaram se ocorreria a redução da permeabilidade da dentina após a aplicação de sistemas adesivos convencionais simplificados. Foram realizados preparos coronários de dentes destinados à restauração com próteses. Quatro sistemas adesivos simplificados (*Single Bond – 3M ESPE; Excite DSC – Ivoclar Vivadent; Prime & Bond NT Dual-Cure – De Trey; One-Step, Bisco*) foram aplicados na dentina seccionada e condicionada com ácido. Foram realizadas impressões com um material de impressão de ultrabaixa viscosidade a base de polivinil siloxano, para copiar a superfície da dentina recoberta por *smear layer* e após procedimento adesivo, foi realizada uma nova impressão. Novas impressões foram realizadas sete ou dez dias após o procedimento adesivo e a instalação de coroas provisórias. Réplicas em resina epóxica dos preparos coronários, foram examinadas em MEV para avaliar a exsudação de fluido dentinário antes da adesão, imediatamente após a adesão e depois de um período da realização da adesão. Os autores observaram a exsudação de fluido dentinário em áreas próximas à polpa dental em todas as réplicas, inclusive nas que receberam a aplicação de

adesivos. A exsudação da dentina recoberta por *smear layer* foi menor do que dos espécimes que receberam o condicionamento ácido total e aplicação de adesivos. Gotas de fluido dentinário foram observadas especificamente sobre a camada de adesivo. Uma exsudação contínua ocorreu depois da remoção dos provisórios e foi mais intensa quando não foi empregada a anestesia local para esta remoção. Os autores concluíram que os adesivos simplificados são membranas permeáveis após a polimerização, devido a sua deficiência e característica hidrofóbica final da camada de resina adesiva. Eles permitem uma contínua exsudação de fluido dentinário e não promovem o selamento hermético da dentina humana profunda. Entretanto, a difusão ocorre lentamente sendo improvável que cause sensibilidade pós-operatória, mas isto pode interferir com a correta polimerização de resinas compostas de ativação dual, autopolimerizáveis ou dos cimentos resinosos, em restaurações diretas e indiretas.

Torres et al.²¹¹ (2004), realizaram um estudo no qual analisaram a influência da desproteinização da dentina na infiltração marginal em cavidades de classe V de bovinos. Um total de 180 dentes foram divididos em três grupos de 60: Grupo C (controle) - ácido +single bond (SB) + resina composta (RC); Grupo H – ácido + NaOCl 10% + SB + RC; Grupo HF - ácido + hipoclorito + SB + Flow + RC. O G1 recebeu 500 ciclos de ciclagem térmica, o G2 1500 ciclos e o G3 2500 ciclos. As avaliações foram feitas após 24h, 6 meses e 12 meses, caracterizando a divisão em subgrupos (0, 6 e 12). O corante utilizado foi o nitrato de prata e a microinfiltração avaliada por diafanização em salicilato de metila. A desproteinização foi eficaz na redução da microinfiltração e o uso da resina flow não mostrou significância nos resultados.

Para contribuir com o aumento da credibilidade das pesquisas *in vitro* que se utilizam de diferentes substratos, Dutra-Corrêa (2005), avaliou as propriedades térmicas, químicas e mecânica relacionando

dente bovino e dente humano. Esmalte e dentina de ambos foram avaliados individualmente em análises Termodiferencial, Termogravimétrica e de Condutividade Térmica. A Dissolução foi avaliada em diferentes tempos e concentrações de ácido. No teste de Desidratação os fragmentos foram colocados em estufa por tempos diferentes. Na Incorporação de Água, após a retirada dos fragmentos da estufa, foram resfriados e imersos em água destilada, verificando-se o quanto o tecido incorporou de água em sua massa. A Penetrabilidade de Corante foi avaliada pela Espectroscopia de Fluorescência. Para avaliar a Microdureza Vickers, os dentes foram incluídos em resina de poliéster e polidos até expor esmalte ou dentina. No teste Termodiferencial as dentinas comportaram-se semelhantemente. O esmalte bovino absorveu mais energia, indicando mudanças estruturais e apresentando comportamento estável a partir de 450°C, enquanto que o humano continuou instável. No teste Termogravimétrico a dentina humana foi duas vezes mais susceptível à perda de massa, porém o esmalte de ambos apresentaram Condutividades Térmicas semelhantes. A dentina humana foi mais condutora do que a bovina. Na Dissolução, a perda de massa foi mais lenta no dente humano. Na Desidratação, o esmalte bovino perdeu aproximadamente 25% e o humano 2,5%. No esmalte humano houve menor Penetrabilidade de Corante, porém semelhante nas dentinas. Assim, a autora concluiu que os dentes humanos e bovinos apresentaram um padrão de comportamento semelhante, do ponto de vista qualitativo, em praticamente todos os aspectos de suas propriedades físico-químicas, sendo que as diferenças apareceram com relação aos valores específicos e não com relação ao padrão de comportamento, o que não inviabiliza o uso de dentes bovinos em substituição aos humanos em testes in vitro. Assim, cuidados devem ser tomados na extrapolação dos resultados entre os dois substratos, principalmente em relação à incorporação de água, penetrabilidade de corante, dissolução e comportamento térmico.

O desafio de condicionar e hibridizar a dentina simultaneamente com adesivos autocondicionantes foi estudado por Carvalho et al.³⁶ (2005). Espécimes da superfície de dentina de terceiros molares humanos foram submetidos à adesão com cinco adesivos autocondicionantes de aplicação em passo único e cinco adesivos autocondicionantes de dois passos na técnica de aplicação. Fatias de 1,0mm contendo as interfaces de resina-dentina foram imersas em solução aquosa de 50% de nitrato de prata e processadas para exame ao MET. Uma zona de dentina parcialmente condicionada, mas não infiltrada por resina foi identificada abaixo da camada híbrida nas versões de acidez moderada dos dois tipos de sistemas adesivos autocondicionantes testados. Esta hibridização foi caracterizada pela ocorrência de depósitos de prata ao longo dos espaços interfibrilares do colágeno mineralizado. Os espaços interfibrilares infiltrados por prata foram claramente observados para os adesivos de passo único *Xeno III*, *iBond*, *Brush & Bond* e um adesivo experimental. Também foram observados, ocasionalmente, e em menor espessura para os adesivos de dois passos *Clearfil SE Bond* e *Clearfil Protect Bond*. Os adesivos testados, de maior acidez exibiram uma transição abrupta entre a dentina desmineralizada e mineralizada e foram isentos dos espaços interfibrilares infiltrados por prata na base da camada híbrida. A infiltração incompleta de resina observada em alguns adesivos autocondicionantes pode estar relacionada com a reduzida acidez de seus monômeros acídicos na base da zona hibridizada ou, pela presença de componentes adesivos acídicos não-polimerizáveis, criando sítios potencialmente degradáveis por hidrólise na união destes adesivos autocondicionante. Os autores observaram evidências morfológicas da discrepância entre a profundidade de desmineralização e a profundidade de infiltração dos monômeros acídicos em alguns adesivos autocondicionantes de acidez moderada.

Preocupados com a sensibilidade técnica dos adesivos autocondicionantes de um passo técnico, Van Meerbeek et al.²²⁴ (2005) discutiram os principais pontos negativos inerentes a estes sistemas. Assim, consideraram que, além da formação da camada híbrida, os adesivos autocondicionantes poderiam oferecer a vantagem adicional de formar uma interação química entre os monômeros funcionais e a hidroxiapatita residual. Contudo, os adesivos autocondicionantes de um passo técnico são comumente associados com uma baixa resistência de adesão, a qual poderia ser atribuída em parte à dissolução de monômeros hidrofílicos e hidrofóbicos em uma relativamente alta concentração de solventes. Dentro desta mistura instável, a presença da água também é essencial como um meio de ionização para desencadear a atividade autocondicionante do adesivo. Por serem altamente hidrofílicos, os adesivos autocondicionantes de um único passo têm sido reportados como uma membrana semipermeável, permitindo a passagem de fluidos e comprometendo seriamente a durabilidade de união. Pesquisas recentes também têm revelado que os adesivos de um passo sem a presença de HEMA seriam propensos a uma separação de fase, a qual seria responsabilizada pela baixa efetividade na adesão. Entretanto, empregando-se uma técnica apropriada de secagem ou de evaporação do solvente a efetividade de união seria aumentada, por remover substancialmente a quantidade de água destes adesivos.

Anido⁶ (2005), comparou a dentina humana e bovina quanto à profundidade de desmineralização com ácido fosfórico a 37% e com primer ácido e quanto à espessura de hibridização empregando um sistema adesivo convencional (Sigle Bond-3M ESPE) e um autocondicionante (Clearfil SE Bond-Kuraray), seguindo as instruções dos fabricantes. As amostras foram analisadas em M.E.V. e revelaram maior profundidade de desmineralização e espessura de hibridização para o sistema convencional; os substratos

humano e bovino apresentaram comportamento similar durante os procedimentos adesivos, mostrando que o substrato bovino pode ser considerado como substituto do humano para testes laboratoriais em primeira instância.

3 PROPOSIÇÃO

Comparar, tendo como substrato a dentina humana e bovina, os efeitos da tecnologia Grander:

- a) nas propriedades físicas de dois sistemas adesivos (convencional-Single Bond e autocondicionante-Clearfil SE Bond): tensão superficial e ângulo de contato, por meio de um goniômetro;
- b) nas características da hibridização: espessura de camada híbrida e presença de tags e microtags, por meio de MEV.

4 MATERIAL E MÉTODO

Esse trabalho foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa Local da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos-UNESP, para pesquisa envolvendo seres humanos e animais (Anexo 1).

Os materiais e equipamentos empregados na realização desse estudo estão especificados no Quadro 1, bem como os respectivos lotes e fabricantes.

Quadro 1- Materiais e equipamentos empregados, lotes e fabricantes.

MATERIAL/EQUIPAMENTO	LOTE	FABRICANTE
ADPER SINGLE BOND	5CU	3M ESPE DENTAL PRODUCTS
CLEARFIL SE BOND	51307	KURARAY MEDIAL INC.
RESINA COMPOSTA FILTEK Z250 (COR A2)	1370A2	3M ESPE DENTAL PRODUCTS
CONDICIONADOR DENTAL GEL (ÁCIDO FOSFÓRICO 37%)	42859	DENTSPLY
GONIÔMETRO		RAMÉ-HART INSTRUMENT Co.
PLACA DE TITÂNIO		UNESP-SOROCABA
FLEXIBLE UNIT - GRANDER		GRANDER TECHNOLOGIE
MEV LEO 435 VP		ZEISS-LEICA,ENGLAND

Para facilitar a compreensão do leitor, o capítulo foi dividido em 6 tópicos: modificação dos sistemas adesivos e da água pelo sistema Grander; medição da tensão superficial; medição do ângulo de contato; preparo dos espécimes destinados à análise das características da hibridização; preparo dos corpos-de-prova para análise ao M.E.V e análise estatística.

4.1 Modificação dos sistemas adesivos e da água pelo sistema Grander

O primeiro passo requerido para a execução de toda a metodologia foi a modificação dos sistemas adesivos (teste) e da água (controle) pelo sistema Grander.

Foram utilizados dois frascos de mesmo lote de cada sistema adesivo. O primeiro frasco foi mantido em condições de normalidade. O segundo frasco (único para o SB e duplo para o CS-*primer* e adesivo) foi colocado em contato físico com a unidade Flexível do sistema Grander para revitalização de águas por 48 h, para indução eletromagnética da reestruturação molecular dos sistemas adesivos (Figura 1).



FIGURA 1- Sistemas adesivos utilizados e Unidade Flexível do sistema Grander para revitalização da água.

Também foram utilizados dois frascos plásticos de 10ml cada adquiridos junto à Byofórmula (farmácia de manipulação) nos quais foram acondicionados 5ml de água destilada. Um dos frascos também foi revitalizado junto ao sistema Grander por 48h.

Salienta-se que a partir da modificação pelo sistema Grander, os frascos de adesivos ou de água, em hipótese alguma, tiveram contato físico com os frascos de sistemas adesivos ou água não-modificados, a fim de se evitar a modificação dos mesmos.

4.2 Medição da tensão superficial

De posse da água e sistemas adesivos convencionais e Grander modificados, oito grupos foram estabelecidos:

- a) Grupo 1- água destilada normal;
- b) Grupo 2- água destilada Grander modificada;
- c) Grupo 3- sistema adesivo SB normal;
- d) Grupo 4- sistema adesivo SB Grander modificado;
- e) Grupo 5- *primer* do sistema adesivo CS normal;
- f) Grupo 6- *primer* do sistema adesivo CS Grander modificado;
- g) Grupo 7- adesivo do sistema adesivo CS normal;
- h) Grupo 8- adesivo do sistema adesivo CS Grander modificado.

Os números ímpares correspondem ao grupo Normal (controle) e os números pares ao grupo Grander modificado (teste).

A tensão superficial de cada grupo teste foi medida em um goniômetro automático (Ramé-Hart instrument Co.,100-00, USA), um equipamento óptico de bancada que possui uma câmera para capturar e gravar a imagem da gota do líquido a ser analisado e processado por um software que acompanha o equipamento. Um aparato de iluminação para

propiciar qualidade de imagem com contraste claro/escuro e regulagem do foco, também acompanha o equipamento (Figura 2).

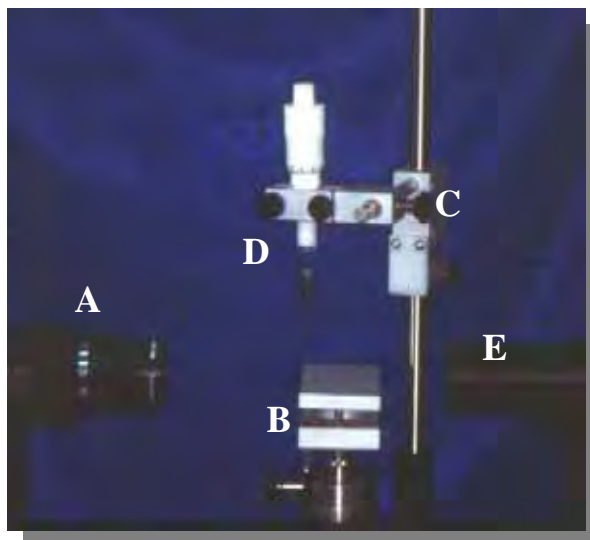


FIGURA 2- Goniômetro- acessórios: a) câmera; b) base; c) suporte; d) micro-seringa; e) fonte de luz..

Dos frascos de água, *primer* e/ou adesivo normais ou modificados, foram coletadas amostras em micro-seringa (Gilmont instruments division of Barnant Company, USA). A micro-seringa é composta por um parafuso micrométrico em teflon, um barrilete de vidro, anel de borracha para vedação e uma agulha metálica número 22. O barrilete foi envolto em papel alumínio a fim de se evitar a polimerização dos sistemas adesivos em seu interior, devido ao sistema de iluminação, sendo o conjunto então, fixado em suporte próprio do Goniômetro para a medição da tensão superficial.

Ao girar o parafuso micrométrico no sentido horário manualmente, obtêve-se gradativamente uma gota do líquido que se manteve presa à ponta da agulha graças a sua tensão superficial. Como o ajuste do tamanho da gota demanda certo tempo, atenção especial à iluminação também foi dada nesta fase, a fim de se evitar a polimerização da gota. Assim, primeiro foi ajustado o foco na agulha, sem qualquer

exposição do líquido. Somente após o posicionamento ideal da gota, a iluminação foi ativada e a medição realizada (Figura 3).



FIGURA 3- Tensão superficial-imagem da gota no momento da medição.

O aparelho permite a regulação do número de medidas/tempo. Foram realizadas vinte medidas para cada gota de cada líquido testado, obtendo-se ao final uma média da tensão superficial do líquido.

Convém salientar que o ambiente de trabalho encontrava-se com a temperatura e as condições de umidade reguladas em 23°C e 50% respectivamente

4.3 Medição do ângulo de contato

Quando um líquido entra em contato com um sólido no ar, um ângulo se forma entre a fase sólida e a tangente da interface líquido/ar, havendo um ponto de intersecção entre as três fases. Esse ângulo é chamado ângulo de contato. Os valores do ângulo de contato variam com o estado topográfico da superfície, tensão superficial do líquido, energia de superfície do substrato sólido e o nível de interação entre o líquido e o sólido. Então, as características de umedecimento do

sistema líquido-sólido podem ser descritas pelo estudo do ângulo de contato (Won-suck Oh et al.²³⁴, 2002).

O relacionamento termodinâmico do ponto de contato entre as três fases pode ser caracterizado, segundo Rangel et al.¹⁵², pela equação de Young:

$$\gamma_{SL} = \gamma_{SV} - \gamma_{LV} \cdot \cos \theta$$

Figura 4- Equação de Young, onde θ é o ângulo de contato e γ a energia interfacial entre o sólido e o líquido (γ_{SL}), o sólido e o vapor (γ_{SV}) e o vapor e o líquido (γ_{LV}).

A molhabilidade da superfície do sólido por um líquido é julgada pela magnitude do ângulo de contato: quanto menor o ângulo de contato, maior a molhabilidade da superfície.

Uma placa de titânio foi escolhida como substrato por ser inerte, não se alterando frente às diferentes substâncias que sobre ela seriam depositadas. A placa de titânio foi colocada sobre um suporte próprio do Goniômetro que permite a movimentação no eixo vertical e horizontal, de modo a favorecer o perfeito enquadramento pela câmera e possibilitar o trabalho do software, na determinação precisa do ângulo de contato.

Assim, foi padronizado um tempo de 20s para o congelamento da imagem da gota a partir do momento em que a mesma tomava contato com a superfície da placa de titânio.

Também foi padronizado em três o número de gotas a serem submetidas à medição, para cada líquido testado. As medidas foram feitas individualmente, ou seja, somente após a leitura da primeira gota, a segunda gota foi dispensada sobre a placa, medida como a primeira e, finalmente o mesmo para a terceira gota.

Desta forma, para cada gota dos oito grupos dispensada sobre a placa de titânio, foram registradas cem medidas, obtendo-se uma média do ângulo de contato gerado por cada substância.

Uma segunda etapa de medições do ângulo de contato para cada grupo foi realizada, porém variando-se o substrato. A placa de titânio foi substituída pela dentina humana ou pela dentina bovina.

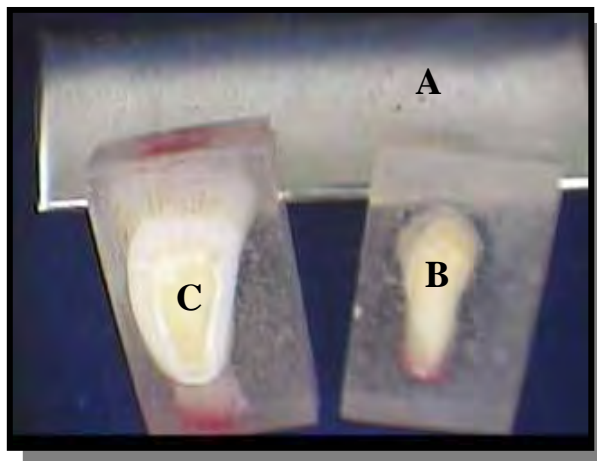


FIGURA 5- Substratos: a) Placa de titânio; b) Dentina humana; c) Dentina bovina

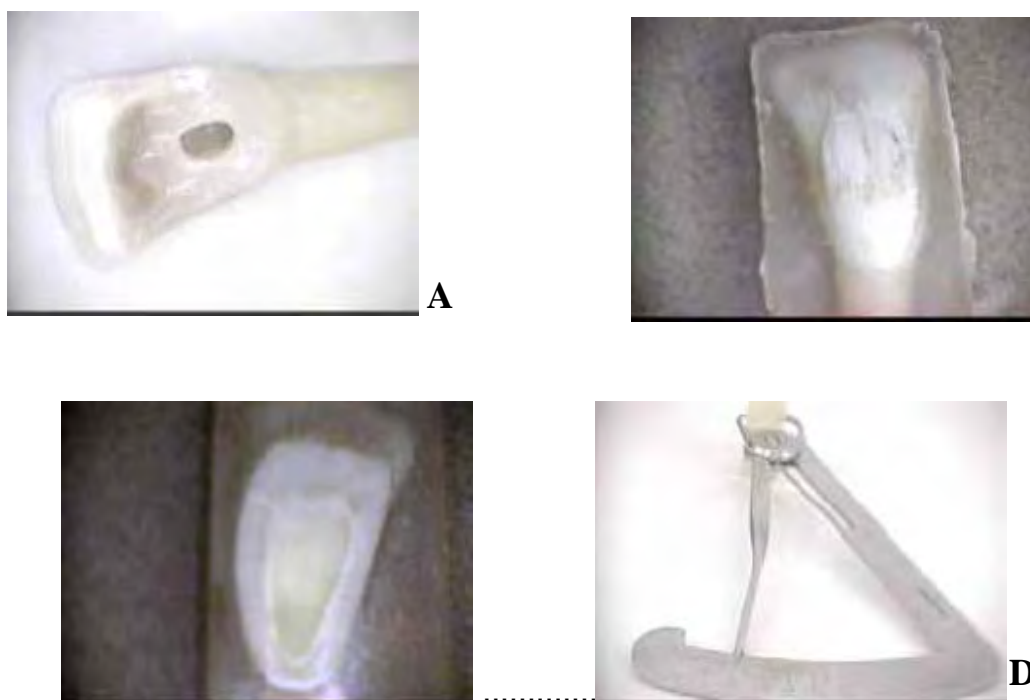


FIGURA 6- Confecção dos corpos-de-prova: a) desgaste lingual; b) embutimento em resina acrílica; c) desgaste de esmalte e dentina; d) medição da dentina remanescente com espessímetro

Para tanto 48 dentes (24 humanos e 24 bovinos) foram coletados e preparados imediatamente após a extração por finalidade ortodôntica ou periodontal (humanos) ou abate do animal (bovinos de três a quatro anos).

A limpeza dos dentes após a extração foi realizada com lâminas de bisturi nº15 montadas em cabo próprio, para a remoção dos restos periodontais.

Uma perfuração na face lingual dos dentes foi realizada com broca esférica nº 2 (KG Sorensen) para proporcionar a exposição da câmara pulpar e futuro posicionamento de um espessímetro para medir a espessura da dentina remanescente após o desgaste vestibular (Figura 6a).

As raízes foram cortadas no terço médio com auxílio de um disco de carborundum adaptado em torno de alta rotação (Nevoni, Ind. Bras.). Desta forma foi possível remover o tecido pulpar com o auxílio de limas endodônticas tipo Hoedstron (Maillefer) de calibre variável conforme o diâmetro do orifício radicular (GONÇALVES et al.⁷², 1999; ANIDO⁵ 2001). Após a lavagem da câmara pulpar com água destilada por meio de cânulas de irrigação e secagem com cânulas suctoras e jatos de ar, o orifício radicular e lingual foram vedados com cera utilidade (Horus Herpo produtos Dentários Ltda), para que a resina acrílica não penetrasse no interior do dente durante a próxima etapa: o embutimento.

O embutimento foi feito em resina acrílica, à partir de uma matriz confeccionada em silicóna pesada (Rodhorsil, Clássico Artigos Odontológicos-Ind. Brás). Os dentes foram embutidos utilizando-se resina acrílica incolor de rápida polimerização (Clássico Artigos Odontológicos-Ind. Brás), de modo a deixar a superfície vestibular paralela à bancada de trabalho (Figura 6b). O conjunto matriz/dente/resina acrílica foi imerso em água para evitar alteração do substrato pela reação exotérmica de polimerização da resina acrílica.

A superfície vestibular foi desgastada em recortador de gesso (Kohl Bach S.A - Ind. Brás.) refrigerado com água pela ação de lixa de carbetto de silício 80 (Figura 6c), até a remoção total do esmalte. Um espessímetro foi então utilizado, para medir a espessura inicial e final da dentina (Figura 6d). Esta foi reduzida à metade da medida inicial, por meio de desgaste em politriz (Struers DP-10, Panambra, Industrial e Técnica AS), com lixas de granulação 240, 400, 600, 800, 1200 e 4000 (3M), por 20s em cada lixa, também sob refrigeração com água, de maneira a planificar a dentina

Os espécimes compostos por dente/resina acrílica, devidamente polidos, com a superfície de dentina paralela à bancada de trabalho, foram imersos em água destilada e armazenados em freezer – 18°C até sua utilização, não ultrapassando 28 dias (TONAMI²⁰⁷, 1996).

Levados ao goniômetro, os substratos dentinários humano e bovino foram avaliados quanto ao ângulo de contato obtido com os oito grupos de substâncias, da mesma forma já descrita para a placa de titânio. Foram portanto utilizados três dentes humanos e três dentes bovinos para cada grupo ou substância, já que esses substratos são variáveis e interagem com os líquidos diferentemente da placa de titânio.

Nesse caso, trezentas medidas para cada grupo/substrato foram coletadas, e a média, devidamente registrada para posterior análise estatística.

Desta forma, ao considerar-se os substratos distintos (placa de titânio, dentina humana e bovina) e oito grupos de substâncias (água, sistema adesivo *SB*, *primer* e *bond* do sistema CS, normais e modificados), percebem-se 24 combinações, totalizando 7.200 medidas de ângulo de contato (300 x 24).

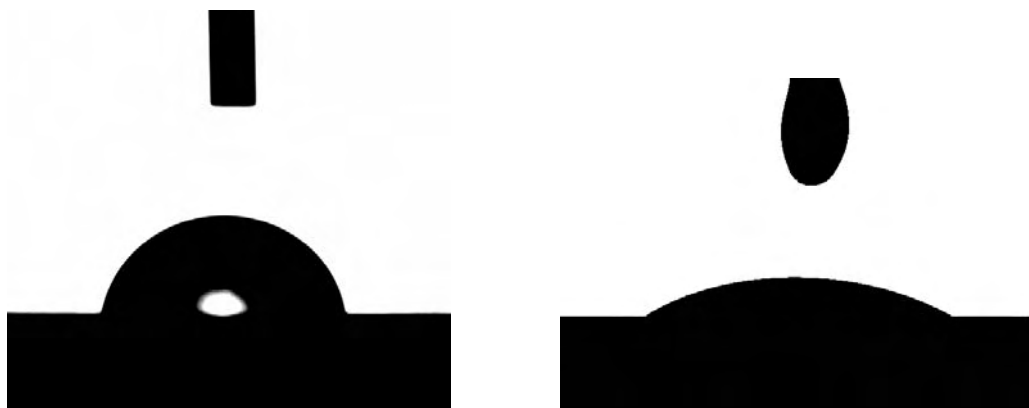


FIGURA 7- Medição do ângulo de contato: momento pós-gotejamento do líquido sobre o substrato: a) água sobre a placa de titânio; b) *primer* CS sobre a placa de titânio.

4.4 Preparo dos espécimes destinados à análise das características da hibridização

Outros dez dentes humanos e dez dentes bovinos destinaram-se à análise da hibridização e receberam inicialmente o mesmo preparo já descrito com relação aos procedimentos de limpeza e corte da raiz (Figura 8-a). Após o embutimento por suas raízes em resina acrílica (Clássico Artigos Odontológicos-Ind. Brás), (Figura 8-b), a borda incisal dos dentes foi desgastada em máquina recortadora de gesso (Figura 9-a), de forma a expor a dentina e criar-se uma superfície plana facilitando a próxima etapa, onde os dentes foram adaptados a uma máquina recortadora (Labcut Extec) em baixa rotação com o auxílio de um disco diamantado, sob refrigeração constante com água, para a secção vertical da coroa no sentido inciso-cervical acompanhando seu longo eixo, dividindo a coroa em duas metades ou, hemi-coroas (Figura 9-b).

Em seguida realizou-se uma secção horizontal, na região do colo dos dentes, a fim de separarmos as porções mesial e distal das coroas (Figura 9–c). A câmara pulpar, face incisal e região cervical expostas (Figura 10-a), foram seladas com o auxílio de cera utilidade (Horus Herpo produtos Dentários Ltda), (Figura 10-b).

Nesta fase os espécimes foram novamente incluídos, com o auxílio de uma matriz de silicona pesada e resina acrílica incolor de rápida polimerização, de modo que a parede pulpar vestibular ficasse paralela à base da matriz, para a padronização da orientação dos túbulos dentinários (RAUSCHER¹⁵³, 2003). O conjunto foi imerso em água para diminuição da temperatura durante a reação exotérmica de polimerização.

O esmalte vestibular foi removido em uma máquina recortadora de gesso, com a adaptação de uma lixa d'água de carbetto de silício de granulação 80, refrigerada com água.

Uma vez atingida a superfície dentinária, realizou-se a medição da espessura de dentina, com o auxílio de um espessímetro (Figura 11-a) e procedeu-se novo desgaste, em politriz, até alcançarmos a camada intermediária da espessura de dentina onde foram realizados os experimentos. Esta região foi selecionada, de acordo com Dutra-Correa et al.⁴⁶ (2004), onde observaram que a dentina bovina intermediária apresenta maior semelhança morfológica à dentina humana.

Para que a *smear layer* formada sobre a superfície de dentina ficasse uniforme, realizou-se a regularização dos espécimes manualmente com emprego de lixas d'água de granulação 240, 400 e 600 (3M), em um tempo padronizado de 20s por granulação, sobre pressão constante e irrigação abundante com água (PASHLEY et al.^{131,132}, 1993; ANIDO⁵, 2001; RAUSCHER¹⁵³, 2003).

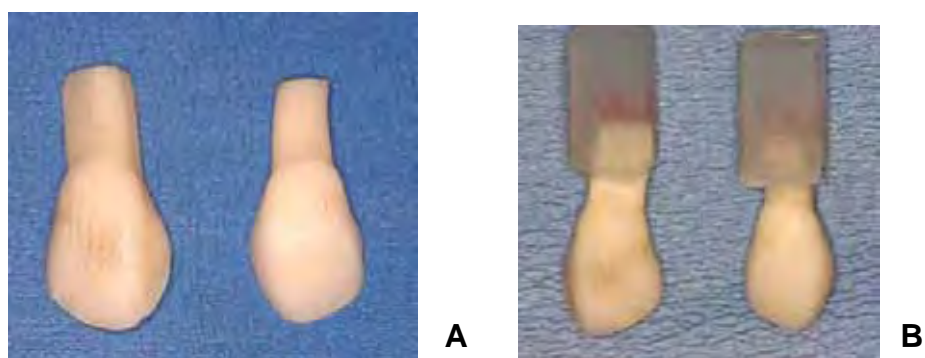


FIGURA 8 – Confeção dos corpos-de-prova: a) dentes bovinos com secção das raízes; b) selamento das raízes com cera utilidade e primeiro embutimento.

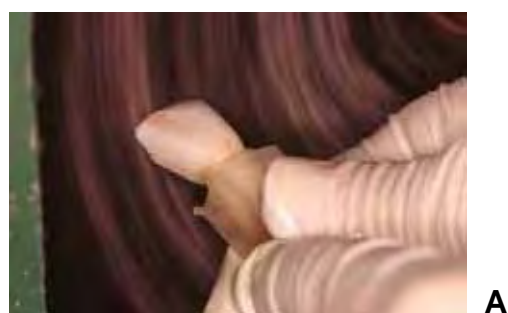


FIGURA 9– Preparo dos dentes destinados à análise da hibridização: a) desgaste incisal b) após o desgaste incisal o dente foi seccionado no sentido do longo eixo com disco diamantado em Labcut; c) secção na região do colo com disco carborundun em torno.

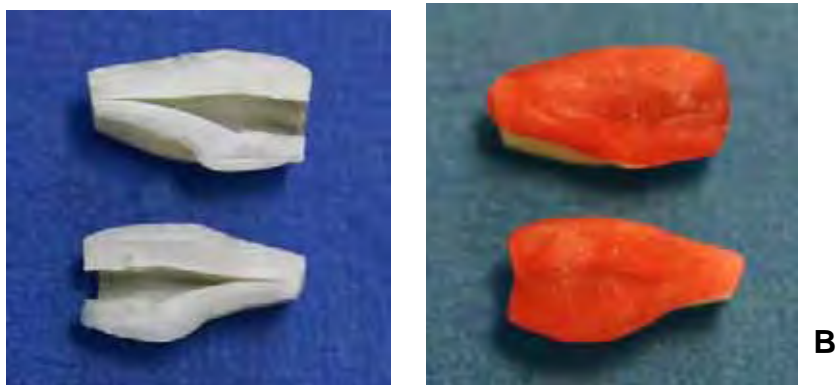


FIGURA 10—Preparo do perfil de adesão: a) perfil da hemi-coroa; b) selamento cera utilidade, para evitar contato com a resina durante o segundo embutimento.



FIGURA 11—Padronização da dentina. a) registro da espessura total de dentina, o espécime é levado à politriz para o desgaste até obtenção da metade da espessura de dentina, em seguida é produzido *smear layer* em lixa 600; b) o asterisco indica a aplicação de verniz para isolar a superfície – controle.

Os dentes receberam uma camada de verniz, em sua porção cervical, para que esta região protegida representasse o substrato controle intacto (Figura 11–b).

Os dentes humanos e bovinos foram identificados e divididos em grupos:

- a) **Grupo 9 – HSB** – 5 hemi-coroas de dentes **humanos** submetidos ao sistema adesivo ***Adper Single Bond***;
- b) **Grupo 10 – BSB** – 5 hemi-coroas de dentes **bovinos** submetidos ao sistema adesivo ***Adper Single Bond***;
- c) **Grupo 11 – HCS** – 5 hemi-coroas de dentes **humanos** submetidos ao sistema adesivo ***Clearfil SE Bond***;
- d) **Grupo 12 – BCS** – 5 hemi-coroas de dentes **bovinos** submetidos ao sistema adesivo ***Clearfil SE Bond***;
- e) **Grupo 13 – HSBgm** – 5 hemi-coroas de dentes **humanos** submetidos ao sistema adesivo ***Adper Single Bond Grander Modificado***;
- f) **Grupo 14 – BSBgm** – 5 hemi-coroas de dentes **bovinos** submetidos ao sistema adesivo ***Adper Single Bond Grander Modificado***;
- g) **Grupo 15 – HCSgm** – 5 hemi-coroas de dentes **humanos** submetidos ao sistema adesivo ***Clearfil SE Bond Grander Modificado***;
- h) **Grupo 16 – BCSgm** – 5 hemi-coroas de dentes **bovinos** submetidos ao sistema adesivo ***Clearfil SE Bond Grander Modificado***.

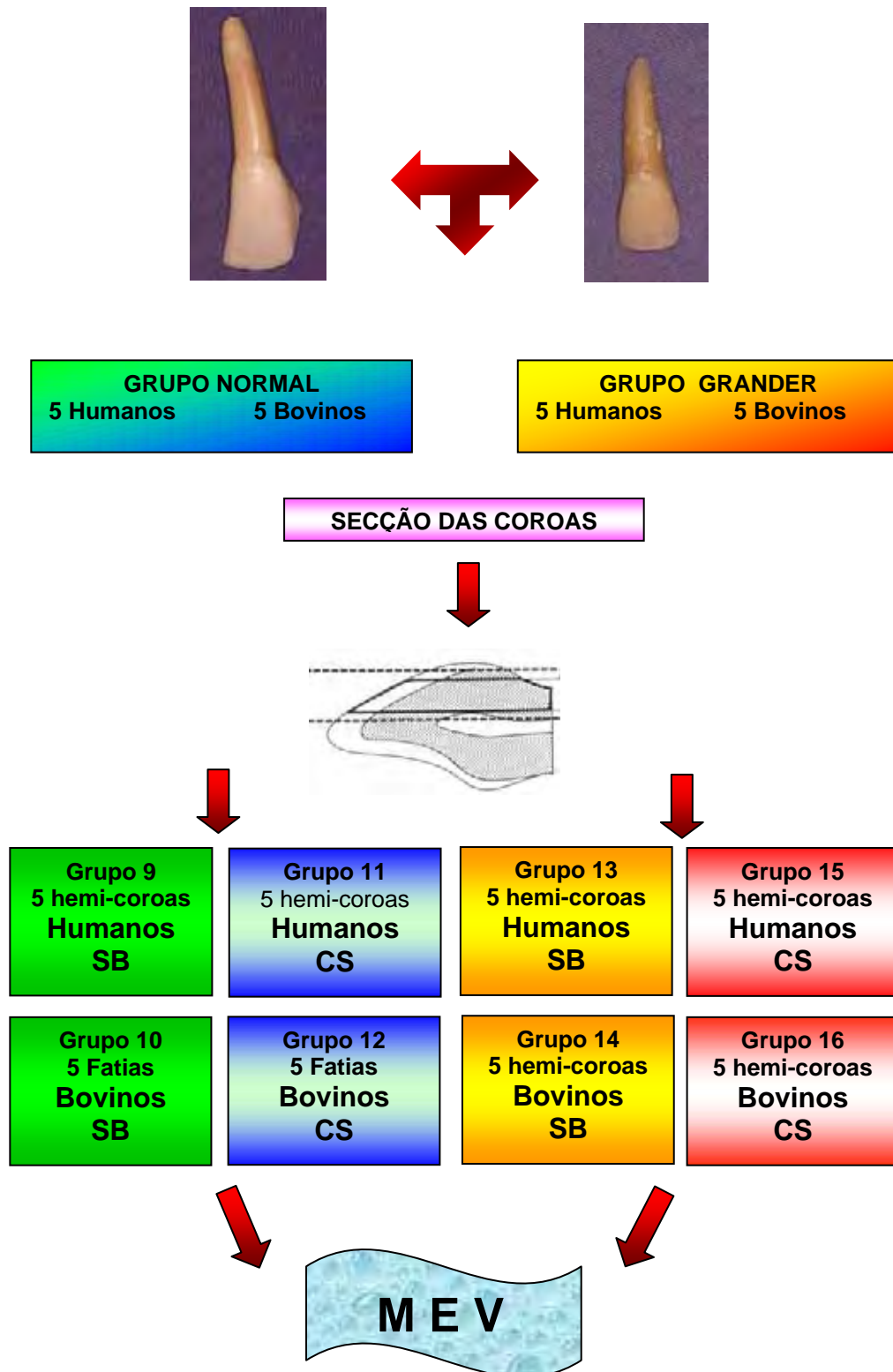


FIGURA 12–Representação esquemática da distribuição dos grupos.

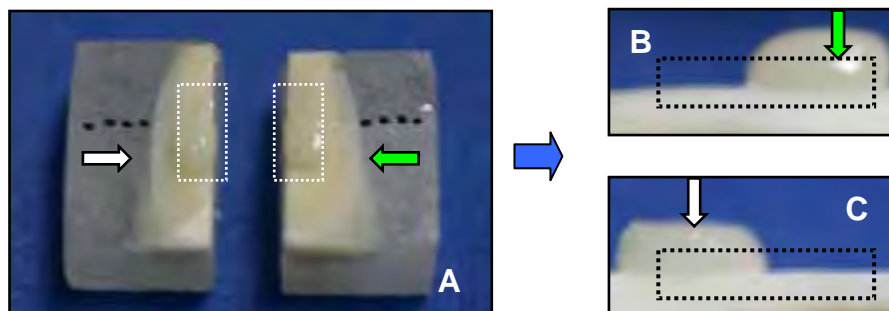


FIGURA 13 – Procedimento adesivo: a) aplicação do sistema adesivo e confecção de botão em resina composta Z250, após 24h os perfis foram polidos em politriz, b) espécime reduzido para avaliação, a seta branca indica a hemi-coroa que recebeu o sistema adesivo CS, a seta verde indica a superfície que recebeu SB, os pontilhados indicam as áreas analisadas ao MEV.

4.4.1 Procedimento adesivo

Realizou-se o procedimento adesivo com o sistema adesivo CS sempre na hemi-coroa direita de cada dente e com o sistema adesivo SB sempre na esquerda, sendo que estas referências consideram o posicionamento do operador com relação à amostra. Desta forma, foi possível observarmos a hibridização de diferentes sistemas adesivos em um mesmo espécime.

Os sistemas adesivos empregados foram utilizados seguindo instruções dos fabricantes conforme descrição no Quadro 2.

Quadro 2 – Orientações dos fabricantes para aplicação dos sistemas adesivos

Sistema Adesivo	Componentes	Composição Química	pH	Orientações
<i>Adper Single Bond</i>	Condicionador	Ácido fosfórico a 37%	0,02*	15s de aplicação, lavagem, e secagem
	Adesivo	Bis-GMA, HEMA, copolímero polialquenóico, água e etanol	pH final : 4,25**	2 camadas, secagem e fotopolimerização por 10s.
<i>Clearfil SE Bond</i>	Clearfil SE Bond Primer	10-MDP, HEMA, metacrilato hidrofílico água, N,N dietanol-p-toluidine	1,4	Aplicação por 20s, secagem
	Clearfil SE Bond	10-MDP, HEMA, Bis-GMA, sílica coloidal N,N dietanol-p-toluidine	pH final: 2,32**	Aplicação e fotopolimerização por 10s

As hemi-coroas de dentes humanos e bovinos, grupo 9 e 13 (**HSB** e **HSBgm**) e 10 e 14 (**BSB** e **BSBgm**), destinadas ao sistema adesivo *SB normal ou Grandeur modificado* (porção esquerda), foram condicionadas com ácido fosfórico a 37% por 15s e lavadas abundantemente por 15s com jato de ar/água. Removemos o excesso de umidade com filtros de papel e em seguida foram aplicadas duas

* Arrais & Giannini⁸, 2002

**Henostroza et al.⁷⁹, 2003

camadas de *SB normal* ou *Grander modificado*, com auxílio de uma *microbrush*, com o cuidado de não deixar excessos.

Procedemos, então, a fotopolimerização por 10s através de um aparelho fotopolimerizador (Ultralux, Dabi Atlante) constantemente calibrado com o auxílio de um radiômetro (Demetron), em 600mW/cm².

As hemi-coroas de dentes humanos e bovinos do grupo 11 e 15 (**HCS** e **HCSgm**) e 12 e 16 (**BCS** e **BCSgm**) que se destinaram à hibridização com o sistema adesivo *CS normal* ou *Grander modificado* (porção direita), receberam a aplicação do *primer normal* ou *Grander modificado* por 20s, secagem com breve jato de ar, aplicação do adesivo normal ou *Grander modificado*, breve jato de ar e fotopolimerização por 10s (Quadro 2), com um aparelho fotopolimerizador constantemente calibrado em 600mW/cm².

Todas as amostras receberam a aplicação de dois incrementos de resina composta *Filtek Z250*, fotopolimerizados por 20s cada, de acordo com as orientações do fabricante (Figura 13–a).

Após armazenagem em água destilada a 37°C por 24h, os dentes foram preparados para análise em MEV.

O preparo das amostras é a parte mais importante para a microscopia sendo esta etapa do experimento bastante complexa e meticulosa, além de depender da natureza do material. Os espécimes empregados neste estudo, por serem provenientes de material biológico e por haver a necessidade de observar com detalhes sua morfologia após o condicionamento e hibridização dentinária, necessitaram de um preparo adequado para cada situação em estudo.

Para possibilitar esta análise os espécimes foram submetidos ao preparo que incluiu fixação, desidratação, secagem, colagem em suporte metálico (*stub*) e metalização com ouro para tornar a superfície condutora de elétrons (PERDIGÃO et al.¹⁴², 1995; CARVALHO et al.³³, 1996; KITAJIMA & LEITE^{90,91}, 1999; VAN MEERBEEK et al.²²², 2000).

4.5 Preparo dos corpos-de-prova para a análise ao MEV

4.5.1 Análise da interface de união

As hemi-coroas dos dentes tiveram seus perfis de adesão submetidos a um polimento ultrafino, em politriz, refrigerada por água, com lixa d'água de granulação 600 por 30s; lixa de silicone de granulações decrescentes 1200 e 4000, por 60 e 90s, respectivamente. Empregaram-se, também, pastas diamantadas (Erios) de 3 μ m e 1 μ m, por 60 e 90s. Durante este polimento houve o cuidado de não alterar a inclinação obtida com o primeiro seccionamento, mantendo pressão uniforme, movimentos circulares e exame constante do perfil.

Os espécimes foram seccionados com disco de diamante flexível sob refrigeração, reduzindo o tamanho da amostra para aproximadamente 4mm, adequando para a análise ao microscópio. Para limpeza dos debrís gerados pelo polimento, as amostras foram levadas ao aparelho ultra-som (Ultrasonic Cleaner, Thornton Unique) por três minutos, imersos em álcool absoluto em Tubos Eppendorff (VAN MEERBEEK et al.²¹⁶, 1992; PERDIGÃO et al.¹²⁷, 1994; RAUSCHER¹⁵³, 2003). Em seguida, foram submetidas a um desafio ácido-base (ácido clorídrico 6N por 15s, seguido de hipoclorito de sódio a 1% por 10min) para revelar a subsuperfície da interface de união (NAKABAYASHI et al.¹¹⁶, 1982; WANG & NAKABAYASHI²²⁸, 1991; NAKABAYASHI & TAKARADA¹¹⁴, 1992; NAKABAYASHI¹¹¹, 1992; PERDIGÃO et al.¹³⁷, 1994; PERDIGÃO¹³⁶, 1995; YOSHIYAMA et al.²³⁷, 1995; KATO & NAKABAYASHI⁸⁹, 1996; PERDIGÃO et al.^{143,144}, 1996; RAUSCHER¹⁵³, 2003). Este procedimento também permite avaliar a resistência da camada híbrida frente ao desafio químico.

4.5.2 Fixação

Posteriormente todos os espécimes foram fixados para insolubilizar as proteínas, este procedimento é necessário para assegurar a estrutura das células e dos tecidos de espécimes biológicos (JUNQUEIRA & CARNEIRO⁸⁶, 1999). Os tecidos foram fixados em solução Karnovsky (solução aldeídica tamponada) por 1h, seguido de três banhos em tampão cacodilato 0,05M por 10min, alternando com água destilada para removermos o fixador (PERDIGÃO & SWIFT¹³⁷, 1994; PERDIGÃO et al.¹⁴⁴, 1996; KITAJIMA & LEITE⁹⁰, 1999; VAN MEERBEEK et al.²²², 2000).

4.5.3 Desidratação

Para a obtenção de vácuo dentro do microscópio todos os espécimes foram desidratados em concentrações ascendentes de etanol 30%, 50%, 70%, por 20min cada, etanol 90% por 30min e etanol 100% por 60min (PERDIGÃO et al.^{137,141,144}, 1994 e 1996; VAN MEERBEEK et al.²²², 2000; RAUSCHER¹⁵³, 2003).

4.5.4 Secagem

Os espécimes foram submetidos à secagem em hexametildisilaxane* (HMDS), que permite a secagem sem comprometer

* Fluka Chemika, Switzerland. Lote 39846/1 34699 Distribuidor Hiperquímica Suprimentos para Laboratório Ltda, São Paulo, SP. Gentilmente cedido pelo Prof. Dr. Carlos Rocha Gomes Torres.

sua estrutura. Para tanto, foram imersos e acondicionados por 15min, em capela devido à alta toxicidade deste componente (VAN MEERBEEK et al.²²², 2000; MINTO¹⁰⁶, 2001).

4.5.5 Metalização

Os espécimes foram fixados em suporte de alumínio denominado *stub* com auxílio de fita adesiva de carbono (3M) de modo que o perfil de adesão permanecesse paralelo à base do *stub*.

Como os espécimes analisados neste estudo são materiais biológicos, foi necessário cobrir a superfície das amostras com uma fina camada de ouro que serviu como anteparo aos elétrons, tornando a superfície condutora e permitindo a captação de imagens. Este procedimento é conhecido como metalização ou *sputtering*, realizado em um aparelho metalizador* composto por um cilindro de vidro que possui uma base para os *stubs* e na outra extremidade é fixada uma placa de ouro, produz vácuo em uma atmosfera de argônio, fecha-se o circuito, forma-se uma diferença de potencial entre a placa de ouro (cátodo) e a superfície das amostras (ânodo), suficiente para ionizar o gás dentro da câmara e originar uma “nuvem” violácea espalhando uma fina camada de ouro por toda a câmara inclusive as amostras, de espessura em torno de 100-200Å em um período de 2-3min de *sputtering*.

As amostras foram analisadas ao MEV LEO 435VP** A obtenção de imagens em microscópio de varredura é possível através de um bombardeamento com um feixe de elétrons sobre a superfície da

* MED 010, Balzers

**Zeiss-Leica, Electron Microscopy Ltd, Cambridge, England. NAP/MEPA – ESALQ/USP

amostra, sob vácuo, gerando elétrons secundários emitidos por sua superfície e capturados por um coletor. Um sinal luminoso é produzido, amplificado e convertido em sinal eletrônico, permitindo a reprodução fiel ponto-a-ponto da superfície da amostra, como se reproduzíssemos uma figura feita em papel quadriculado (KITAJIMA & LEITE⁹¹, 1999).

Com a criteriosa análise das amostras, foram coletadas imagens de cada espécime em aumentos variáveis de 1.000X, 5.000X e 10.000X o que permitiu a coleta de dados numéricos avaliados por dois observadores calibrados anteriormente, de forma padronizada, para evitar a característica subjetiva das análises. O menor aumento possibilitou a observação da densidade e extensão dos *tags* resinosos e uniformidade do padrão de condicionamento enquanto o maior aumento permitiu a observação morfológica da zona de hibridização, dos *tags* e *micro-tags* resinosos em relação à espessura, lisura, formato e extensão (FERRARI et al.⁶¹, 1999).

As imagens foram coletadas através de um computador acoplado ao MEV, e um software* específico que permitiu a obtenção de dados imprescindíveis a este estudo.

Esta análise morfológica nos permitiu avaliar a desmineralização resultante da aplicação do ácido fosfórico, do CS *Primer*, espessura e a qualidade da hibridização com diferenças morfológicas de *tags* e *microtags*, em dentina humana e bovina, em substrato de mesma origem, com padronização que possibilitou estabelecermos importantes dados comparativos.

* LEOUIF – LEO User Interface

4.6 Análise Estatística

Para análise estatística referente às medidas de tensão superficial (D/cm), foi realizado o teste de Análise de Variância (ANOVA) a dois fatores (Sistema Adesivo X Procedimento) e Teste de Teste de comparações múltiplas de *Tukey* a um nível de significância de 5%. Por Procedimento entende-se as condições Normal ou Grander modificado.

Para a análise estatística referente às medidas de ângulo de contato (graus), estas foram tabuladas e avaliadas a partir do modelo estatístico de análise da variância (ANOVA) a três fatores (Sistema Adesivo X Procedimento X Substrato), seguido do Teste de comparações múltiplas de *Tukey*, a um nível de significância de 5%.

Para análise dos resultados referentes às medidas da espessura da hibridização (μm), foram coletados quatro dados numéricos de cada amostra.

A espessura da camada híbrida foi obtida de regiões entre *tags* de resina, para não superestimar esta medida, de acordo com Nakajima et al.¹¹⁹ (2000).

Os dados foram tabulados e avaliados a partir do modelo estatístico de análise da variância (ANOVA) a três fatores (Sistema Adesivo X Procedimento X Substrato), seguido do Teste de comparações múltiplas de *Tukey*, a um nível de significância de 5%.

5.RESULTADOS

Os resultados do estudo foram separados três partes, de acordo com a metodologia empregada, a fim de facilitar a compreensão do leitor.

Na primeira parte serão apresentados os dados referentes ao estudo da tensão superficial; na segunda parte, os dados referentes ao estudo do ângulo de contato e; na terceira parte, os dados referentes ao estudo da qualidade da hibridização.

5.1 Resultados de tensão superficial

As médias das 20 medidas de tensão superficial observadas para cada um dos oito grupos estipulados (água, sistema adesivo Single Bond – SB, *primer* do sistema Clearfil SE Bond – PCS, e *bond* do sistema Clearfil SE Bond - BCS) normais ou Grandier modificados, encontram-se relacionadas na Tabela 1.

Tabela 1- Média das medidas de tensão superficial (D/cm) dos grupos avaliados.

Água		BCS		PCS		SB	
Normal	Grander	Normal	Grander	Normal	Grander	Normal	Grander
83.2136	71.9594	30.8709	29.3846	34.9722	34.3249	27.7607	23.5625
80.5756	72.0109	30.7366	29.2434	35.2530	33.6449	27.8693	23.7015
80.3972	72.0688	31.0889	28.7647	35.2117	33.8709	27.3889	23.5712
82.8893	72.0511	31.6743	29.2002	35.1452	33.8947	27.6625	23.4730
80.0930	71.9382	31.5962	28.8878	35.1800	33.6711	28.0821	23.9220
80.0924	71.9063	31.5905	28.7936	34.5956	33.9886	27.6497	23.8374
82.5254	71.8217	30.8055	29.0359	35.0617	34.0799	27.6452	23.6500
82.3174	72.2842	30.9002	29.5412	35.2062	33.9427	27.3194	23.4433
79.5315	72.4114	30.7856	29.1585	35.2480	34.5166	27.4240	23.2376
79.4021	71.6499	30.8454	29.2066	34.7887	34.4418	27.4455	23.7568
81.7198	72.0516	31.1167	29.6010	35.3100	33.9615	27.9406	23.6430
81.6113	72.6585	31.0610	29.2188	35.0900	33.8236	28.2462	23.3450
81.4497	72.2968	30.2647	29.2804	35.0620	34.3533	28.2932	23.4320
81.5065	71.3616	31.6907	29.7389	34.5563	34.1215	28.1228	23.9830
81.3238	73.0613	30.9030	29.5412	35.4250	33.9464	27.6169	23.8586
78.6169	71.2063	30.2415	29.1585	35.6198	33.9724	27.8449	23.6630
78.6613	71.3718	31.2958	29.2066	34.7259	34.1186	27.5813	23.6039
78.4524	72.5764	31.0753	29.6010	35.3726	33.9121	27.6598	23.4352
80.9628	72.3671	31.6592	29.2188	35.1731	34.4044	27.9472	23.9928
83.3611	73.0676	31.8443	29.2804	35.5931	34.6088	27.9848	23.1447

TABELA 2. Média (\pm desvio padrão) dos dados de tensão superficial (valores em D/cm) obtidos em gotas, submetidas a dois tipos de procedimentos, em quatro diferentes líquidos.

Líquidos	Procedimentos		linha (média \pm dp)
	Normal	Grander	
Água	80,94 \pm 1,52	72,11 \pm 0,50	76,52 \pm 4,61
Bond CS	31,10 \pm 0,46	29,25 \pm 0,26	30,18 \pm 1,00
Primer CS	35,13 \pm 0,29	34,08 \pm 0,27	34,60 \pm 0,60
SB	27,77 \pm 0,28	23,61 \pm 0,23	25,69 \pm 2,12
coluna (média \pm dp)	43,74 \pm 21,79	39,76 \pm 19,16	

* n = 20

TABELA 3- ANOVA (2 fatores) para os dados (após transformação logarítmica) de tensão superficial.

Efeito	gl	SQ	QM	F	p
Adesivo	3	5,32129	1,77376	72083,52	0,0001*
Procedimento	1	0,06429	0,06429	2612,66	0,0001*
Interação	3	0,01931	0,00644	261,63	0,0001*
Resíduo	152	0,00374	0,00002		
Total	159	5,40863			

*p<0,05

TABELA 4- Teste de Tukey 5% para comparação dos dados de tensão superficial para Adesivo/Procedimento

Adesivo	Procedimento	Média	Grupos homogêneos
Agua	N	80.935	A
Agua	G	72.106	B
PCS	N	35.130	C
PCS	G	34.08	D
BCS	N	31.102	E
BCS	G	29.253	F
SB	N	27.774	G
SB	G	23.613	H

TABELA 5- Teste de Tukey 5% para comparação dos dados de tensão superficial para Adesivo.

Adesivo	Média	Grupos homogêneos
Agua	1.8830	A
Primer CS	1.5391	B
Bond CS	1.4795	C
SB	1.4084	D

As quatro médias são estatisticamente diferentes

TABELA 6- Teste de Tukey 5% para comparação dos dados de tensão superficial para Procedimento.

Procedimento	Média	Grupos homogêneos
N	1.5957	A
G	1.5574	B

As duas médias são estatisticamente diferentes

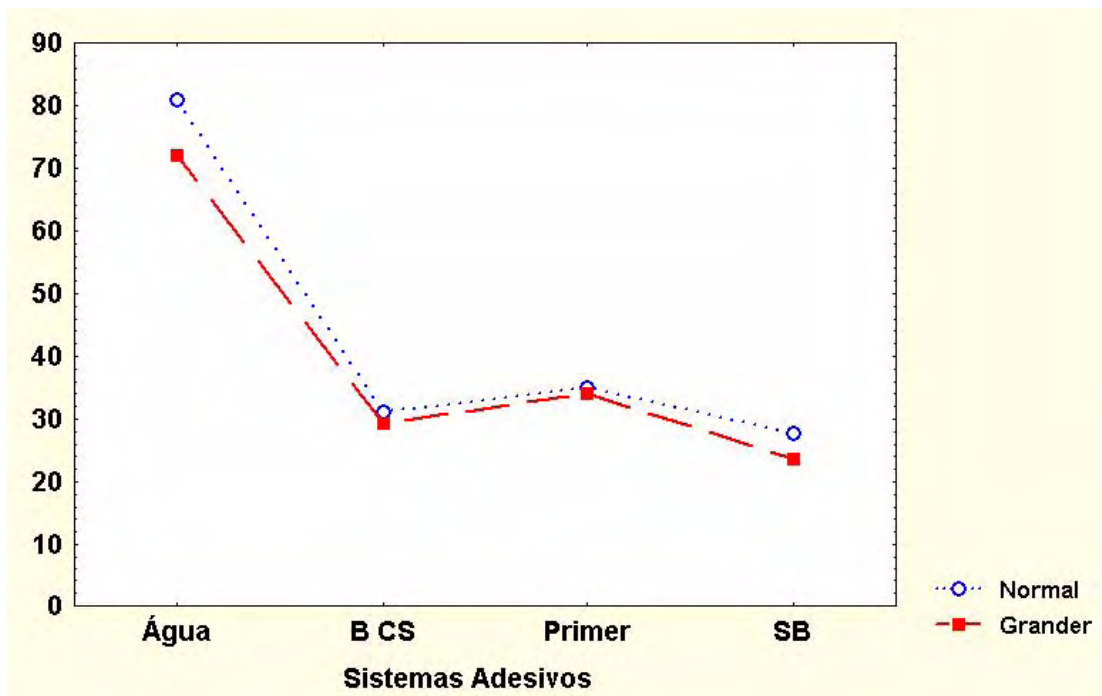


Figura 14- Gráfico de médias dos dados de tensão superficial obtidos dos diferentes líquidos (água e sistemas adesivos), frente aos procedimentos N (Normal) ou G (Grander).

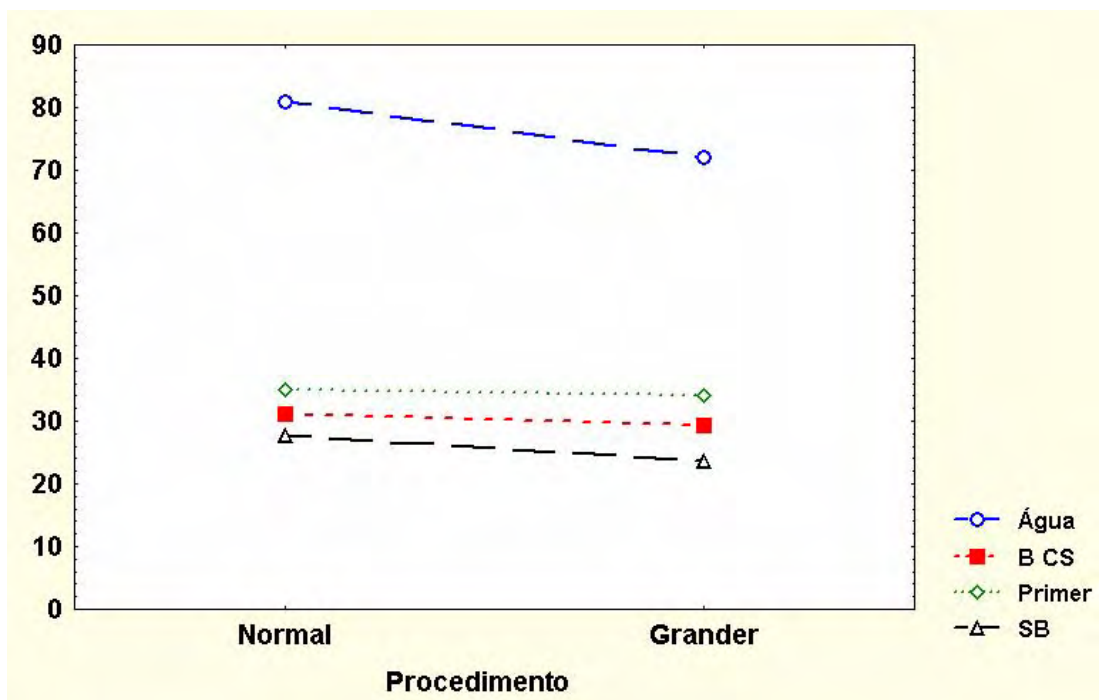


Figura 15- Gráfico de médias dos dados de tensão superficial obtidos para os procedimentos N (Normal) ou G (Grander).

5.2 Resultados de ângulo de contato

As médias das medidas do ângulo de contato dos diferentes líquidos, frente também diferentes substratos e procedimentos, encontram-se na Tabela 7. Cada média foi feita a partir de 100 medidas de ângulo de contato, o que assegura a fidelidade dos dados obtidos.

Tabela 7- Média das medidas do ângulo de contato (graus) frente aos diferentes substratos, adesivos e procedimentos avaliados.

Placa	Humano	Bovino	Adesivo	Procedim
57.03	44.49	37.99	Água	Normal
54.60	64.30	44.48	Água	Normal
56.77	48.87	40.78	Água	Normal
43.76	43.31	46.61	Água	Grander
50.76	40.65	37.70	Água	Grander
48.25	45.56	37.93	Água	Grander
13.97	10.71	43.23	BCS	Normal
28.58	22.17	43.41	BCS	Normal
14.74	31.76	45.79	BCS	Normal
17.90	20.78	43.45	BCS	Grander
20.40	15.23	30.17	BCS	Grander
16.30	16.08	40.00	BCS	Grander
15.38	11.18	15.21	PCS	Normal
13.77	15.67	7.94	PCS	Normal
16.72	20.22	9.14	PCS	Normal
20.86	13.41	12.12	PCS	Grander
22.90	7.16	10.96	PCS	Grander
23.34	11.83	11.50	PCS	Grander
22.94	27.64	28.92	SB	Normal
25.20	37.17	38.26	SB	Normal
30.20	27.67	28.71	SB	Normal
19.05	20.35	34.23	SB	Grander
17.25	18.41	28.25	SB	Grander
16.86	16.97	32.26	SB	Grander

TABELA 8-Água. Média (\pm desvio padrão) dos dados de ângulo de contato (valores em graus) obtidos para dois diferentes tipos de procedimentos sob três diferentes substratos.

SUBSTRATOS	PROCEDIMENTOS		LINHA (MÉDIA \pm DP)
	NORMAL	GRANDER	
PLACA	56,13 \pm 1,33*	47,59 \pm 3,55	51,86 \pm 5,25
HUMANO	52,55 \pm 10,40	43,17 \pm 2,45	47,86 \pm 8,49
BOVINO	41,08 \pm 3,25	40,75 \pm 5,08	40,92 \pm 3,82
COLUNA	49,92 \pm 8,75	43,84 \pm 4,48	
(MÉDIA \pm DP)			

*n=3

TABELA 9-Bond CSB. Média (\pm desvio padrão) dos dados de ângulo de contato (valores em graus) obtidos para dois diferentes tipos de procedimentos sob três diferentes substratos.

SUBSTRATOS	PROCEDIMENTOS		LINHA (MÉDIA \pm DP)
	NORMAL	GRANDER	
PLACA	19,10 \pm 8,22*	18,20 \pm 2,06	18,65 \pm 5,38
HUMANO	21,55 \pm 10,54	17,36 \pm 2,99	19,46 \pm 7,29
BOVINO	44,14 \pm 1,43	37,87 \pm 6,89	41,01 \pm 5,62
COLUNA	28,26 \pm 13,71	24,48 \pm 10,78	
(MÉDIA \pm DP)			

*n=3

TABELA 10-Primer CSB. Média (\pm desvio padrão) dos dados de ângulo de contato (valores em graus) obtidos para dois diferentes tipos de procedimentos sob três diferentes substratos.

SUBSTRATOS	PROCEDIMENTOS		LINHA (MÉDIA \pm DP)
	NORMAL	GRANDER	
PLACA	15,29 \pm 1,48*	22,37 \pm 1,32	18,83 \pm 4,07
HUMANO	15,69 \pm 4,52	10,80 \pm 3,25	13,25 \pm 4,24
BOVINO	10,76 \pm 3,89	11,53 \pm 0,58	11,15 \pm 2,52
COLUNA	13,91 \pm 3,88	14,90 \pm 5,88	
(MÉDIA \pm DP)			

*n=3

TABELA 11-SB Média (\pm desvio padrão) dos dados de ângulo de contato (valores em graus) obtidos para dois diferentes tipos de procedimentos sob três diferentes substratos.

SUBSTRATOS	PROCEDIMENTOS		LINHA (MÉDIA \pm DP)
	NORMAL	GRANDER	
PLACA	26,11 \pm 3,71*	17,72 \pm 1,16	21,92 \pm 5,21
HUMANO	30,83 \pm 5,49	18,58 \pm 1,69	24,70 \pm 7,63
BOVINO	31,96 \pm 5,45	31,59 \pm 3,04	31,77 \pm 3,95
COLUNA	29,63 \pm 5,06	22,63 \pm 6,97	
(MÉDIA \pm DP)			

*n=3

TABELA 12 -ANOVA para os dados de ângulo de contato obtidos.

Efeito	gl	SQ	QM	F	p
Procedimento	1	284,25	284,25	12,54	0,0010*
Sistema Adesivo	3	9838,84	3279,61	144,64	0,0001*
Substrato	2	301,81	150,90	6,66	0,0030*
Procedimento vs Adesivo	3	172,28	57,43	2,53	0,0680
Procedimento vs Substrato	2	127,28	63,59	2,80	0,0700
Adesivo vs Substrato	6	2495,68	415,95	18,34	0,0001*
Proced. vs Adesivo vs. Substrato	6	187,18	31,20	1,38	0,2440
Resíduo	48	1088,36	22,67		
Total	71	14495,59			

*p<0,05

A interação tripla não foi estatisticamente significativa. O relacionamento entre os Sistemas Adesivos e os Procedimentos para cada um dos substratos é apresentado de forma gráfica com o gráfico de médias, vide figura mostrada a seguir.

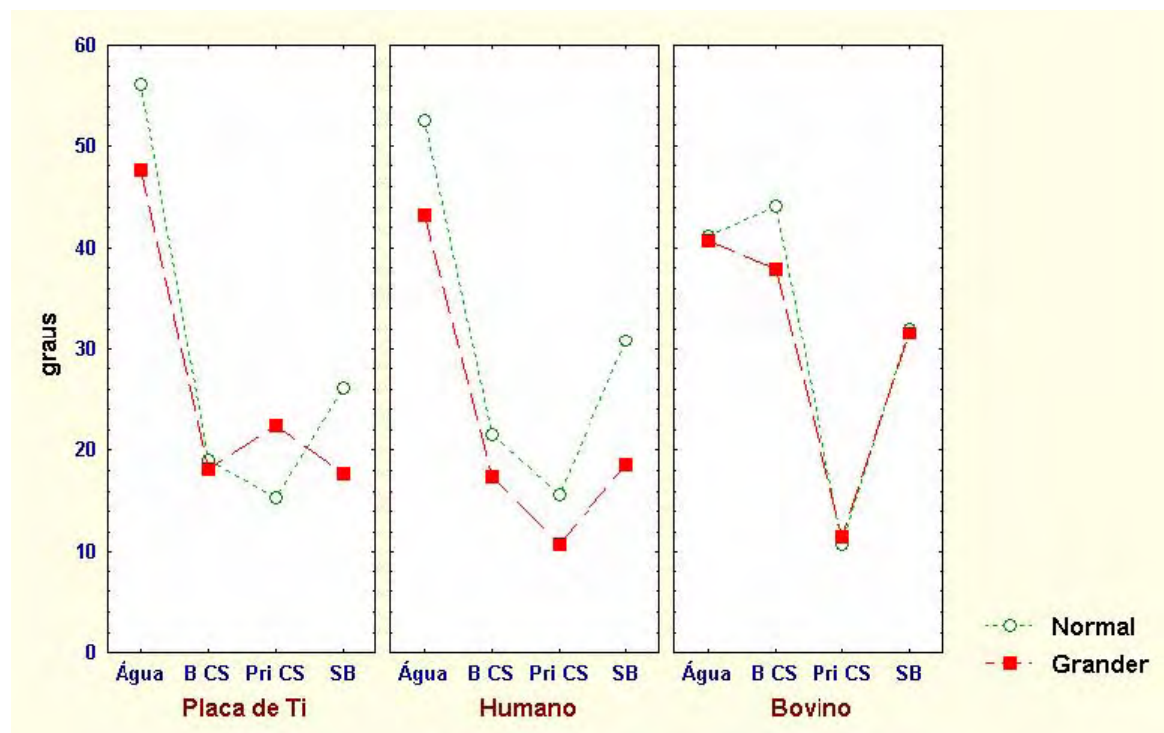


FIGURA-16 . Gráfico das médias referente às condições experimentais estabelecidas pelas variáveis: Sistema Adesivo, Procedimento e Substrato.

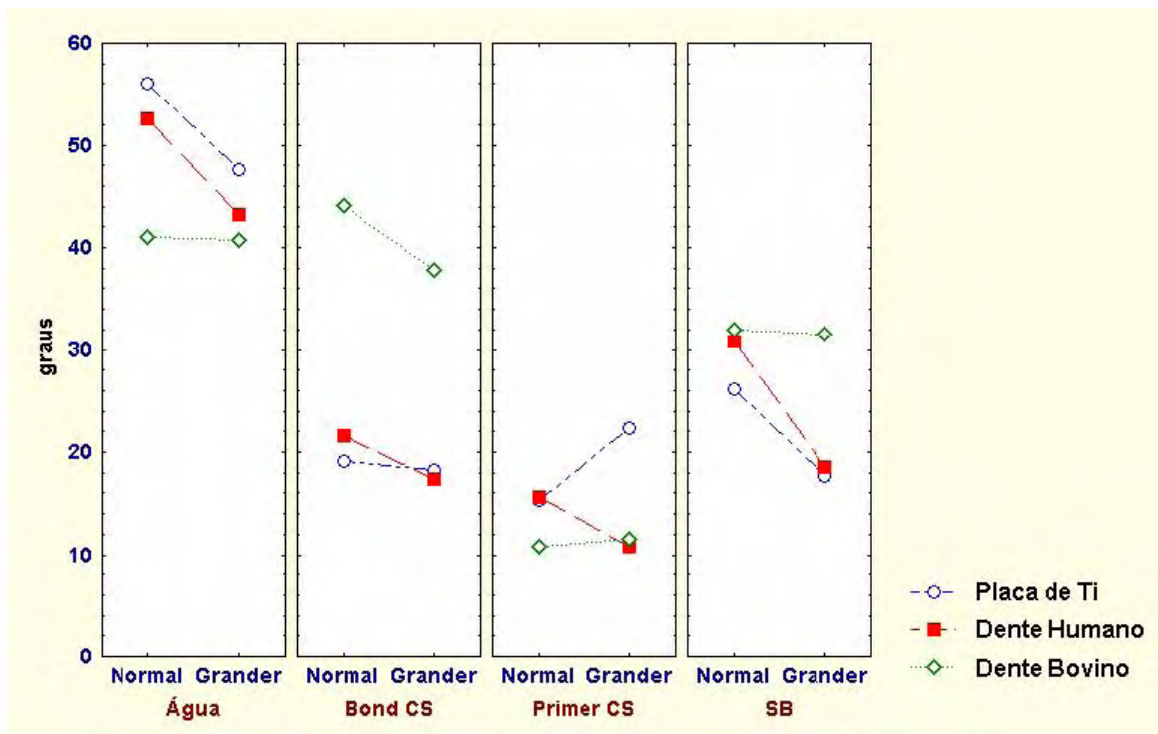


FIGURA 17- . Gráfico das médias referente às condições experimentais estabelecidas pelas variáveis: Sistema Adesivo, Procedimento e Substrato.

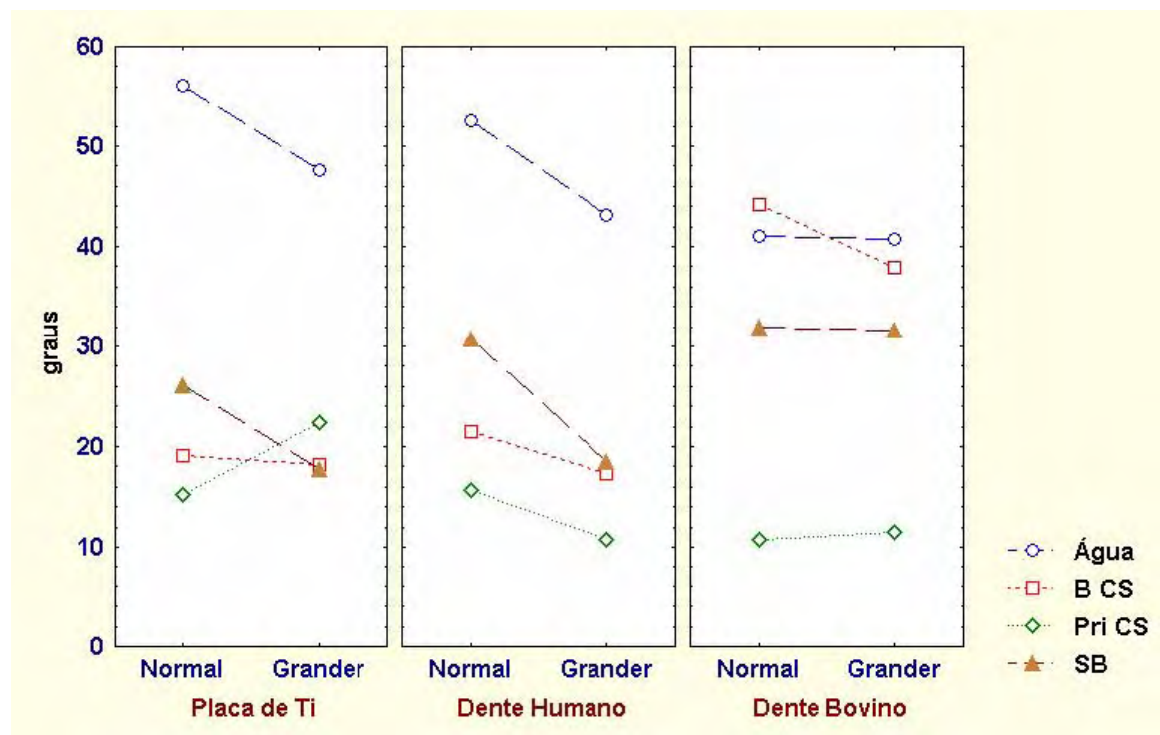


FIGURA 18- . Gráfico das médias referente às condições experimentais estabelecidas pelas variáveis: Sistema Adesivo, Procedimento e Substrato.

O efeito interação Sistema Adesivo com o Substrato resultou ser estatisticamente significativo, enquanto os demais efeitos interações não resultaram estatisticamente significantes.

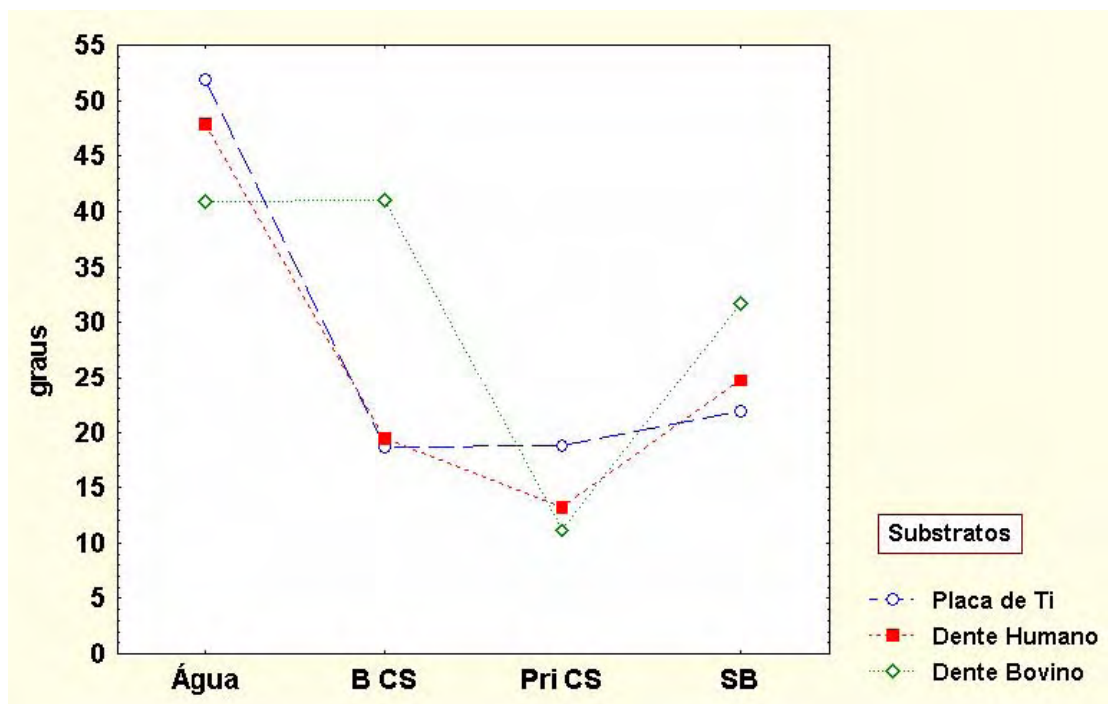


FIGURA 19-. Gráfico das médias referente às condições experimentais estabelecidas pelas variáveis: Sistema Adesivo e Substrato.

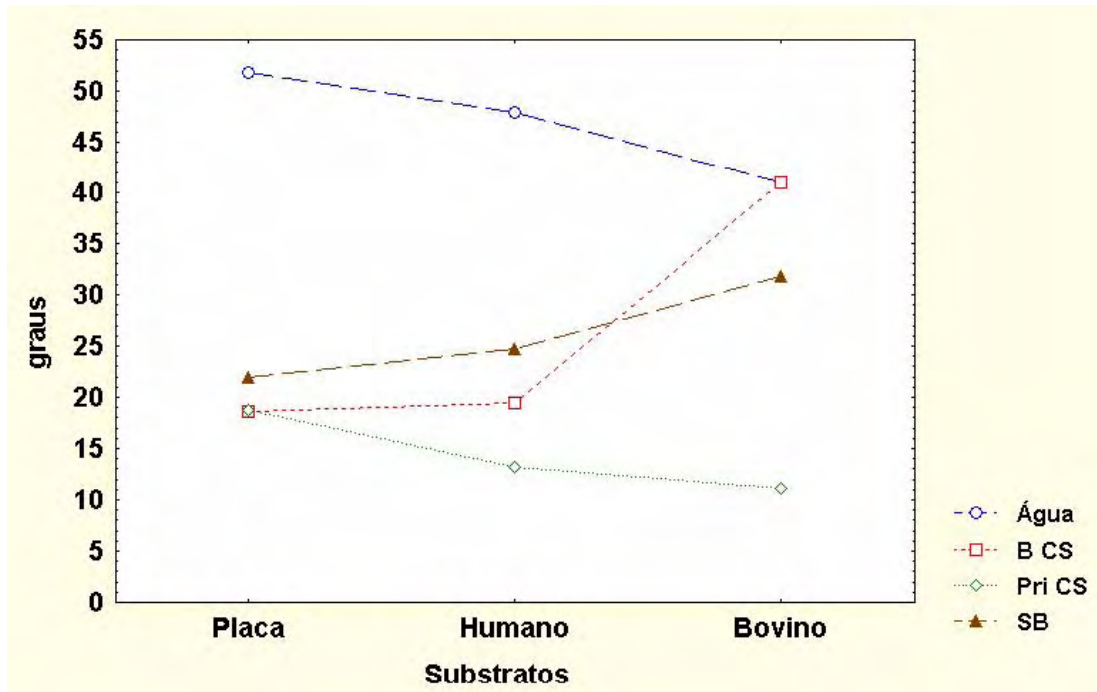


FIGURA 20-. Gráfico das médias referente às condições experimentais estabelecidas pelas variáveis: Sistema Adesivo e Substrato.

Quando se comparam, por meio do teste de comparação múltipla Tukey (5%), os valores médios referentes às condições experimentais estabelecidas pelas variáveis: Sistema adesivo e Substrato são estabelecidos sete conjuntos de mesmo desempenho, Tabela abaixo, indicados pelas letras A, B, C,D, E, F e G.

TABELA 13-Teste de Tukey 5% para comparação dos dados de ângulo de contato para Adesivo/Substrato

ADESIVO	SUBSTRATO	MÉDIA	GRUPOS HOMOGÊNIOS
ÁGUA	PLACA	51.862	A
AGUA	HUMANO	47.863	AB
AGUA	BOVINO	40.915	BC
SB	BOVINO	31.772	CD
SB	HUMANO	24.702	DE
SB	PLACA	21.917	EF
BCS	BOVINO	41.008	BC
BCS	HUMANO	19.455	EFG
BCS	PLACA	18.648	EFG
PCS	PLACA	18.828	EFG
PCS	HUMANO	13.245	FG
PCS	BOVINO	11.145	G

Tabela 14- TESTE DE TUKEY 5% sobre os dados de ângulo de contato nas condições experimentais estabelecidas para as variáveis: procedimento x adesivo

PROCEDIMENTO	ADESIVO	MÉDIA	GRUPOS HOMO
N	AGUA	49.923	A
G	AGUA	43.837	A
N	SB	29.634	B
G	SB	22.626	B
N	BCS	28.262	B
G	BCS	24.479	B
G	PCS	14.898	C
N	PCS	13.914	C

Tabela 15 TESTE DE TUKEY 5% sobre os dados de ângulo de contato nas condições experimentais estabelecidas para as variáveis: procedimento x substrato.

PROCEDIMENTO	SUBSTRATO	MÉDIA	GRUPOS HOMO
N	BOVINO	31.988	A
G	BOVINO	30.432	A
N	HUMANO	30.154	A
G	HUMANO	22.478	B
N	PLACA	29.158	A
G	PLACA	26.469	AB

5.3 Resultados de espessura de hibridização

Existem três fatores de variação independentes (Procedimento, Sistema Adesivo e Substrato). Os dois tipos de procedimento (Normal e Grander), os dois sistemas adesivos (Single Bond-SB e Clearfil SE Bond- CSB) e os dois tipos de substrato (Humano e Bovino), foram dispostos em oito colunas, determinando as diferentes condições experimentais avaliadas.

Com o total das amostras estudadas foram formados oito grupos distintos: **HSB** (humano / *Adper Single Bond*); **BSB** (bovino / *Adper Single Bond*); **HCS** (humano / *Clearfil SE Bond*); **BCS** (bovino / *Clearfil SE Bond*); **HSBgm** (humano / *Adper Single Bond Grander* modificado); **BSBgm** (bovino / *Adper Single Bond Grander* modificado); **HCSgm** (humano / *Clearfil SE Bond Grander* modificado); **BCSgm** (bovino / *Clearfil SE Bond Grander* modificado). Cada grupo foi constituído de cinco corpos-de-prova nos quais foram realizadas quatro medições em diferentes pontos dos mesmos. Isto foi possível com o auxílio de uma ferramenta apresentada pelo software que estava acoplado ao MEV, que possibilitou a medição direta em micrometros entre dois pontos na eletromicrografia, que delimitavam a espessura de hibridização. As medidas aferidas por dois examinadores previamente calibrados, podem ser observadas na Tabela 16.

Deve-se observar o grau de precisão das respostas fornecidas por este estudo. quanto para os valores da espessura de hibridização, sendo adotado o nível de confiança de 95% para as afirmações realizadas.

Tabela 16 – Medidas em micrometros (μm) obtidas nos diferentes corpos-de-prova

Grupo	grupo	grupo	Grupo	grupo	grupo	grupo	grupo
9	10	11	12	13	14	15	16
HSB	BSB	HCS	BCS	HSBgm	BSBgm	HCSgm	BCSgm
3,19	4,48	1,47	1,53	2,82	4,60	1,47	1,81
3,19	3,93	1,66	1,53	3,01	4,20	1,63	1,78
3,38	4,42	1,35	1,99	2,61	3,74	2,82	1,81
3,13	3,80	1,59	2,27	2,24	3,87	1,90	1,72
2,77	3,13	1,54	1,47	3,62	3,80	3,31	2,24
3,57	2,33	1,78	2,06	4,42	3,26	3,19	1,75
3,38	4,61	1,84	2,02	3,25	3,19	1,88	1,69
2,98	3,25	1,44	1,90	4,37	3,13	1,81	1,63
3,07	4,48	1,63	3,01	4,11	5,04	2,21	3,13
3,38	3,93	1,81	1,72	3,50	3,44	2,95	2,58
3,68	4,42	1,17	1,60	2,83	3,38	2,46	2,70
3,32	3,80	1,69	1,84	4,17	3,13	2,85	2,39
2,95	2,27	1,84	2,49	2,46	5,37	2,70	3,44
3,16	5,28	1,60	1,81	2,52	5,03	2,18	2,98
3,01	2,33	1,35	1,96	2,64	3,84	1,90	3,19
2,02	3,07	1,47	2,64	2,27	3,75	1,78	3,04
1,69	3,93	1,38	1,93	5,09	4,42	1,69	2,52
3,01	4,54	1,72	2,00	3,93	5,22	1,96	2,52
2,82	3,93	1,26	1,84	3,65	4,17	1,90	2,18
4,12	4,36	1,07	1,94	1,90	3,87	1,41	1,96

Os resultados foram submetidos a um teste de normalidade e homogeneidade para verificar se a amostra estudada possuía uma distribuição normal ou não normal.

Após a constatação de uma distribuição normal e homogênea, empregou-se um teste paramétrico para avaliar se as diferentes amostras eram provenientes de populações diferentes ou representavam apenas variações casuais, com intuito de verificar a hipótese de nulidade (H0) ou a alternativa de diferença (H1) na espessura de hibridização formada nos corpos-de-prova avaliados experimentalmente neste estudo.

Como os dados adquiridos apresentaram-se contínuos, permitindo a realização de testes paramétricos, para a análise dos fatores em conjunto (três fatores), os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de significância ($p < 0,05$), que permite estabelecer se as médias dos grupos em estudo são, ou não, estatisticamente iguais.

Tabela 17- Dente Humano. Média (\pm desvio padrão) dos dados de espessura da camada híbrida (valores em μm), obtidos para os dentes humanos, sob ação de dois sistemas adesivos e dois tipos de procedimento.

ADESIVO	PROCEDIMENTO		LINHA (MÉDIA \pm DP)
	NORMAL	GRANDER	
SB	3,06 \pm 0,38*	3,27 \pm 0,65	3,17 \pm 0,52
CSB	1,53 \pm 0,11	2,20 \pm 0,38	1,87 \pm 0,44
COLUNA	2,30 \pm 0,85	2,73 \pm 0,75	2,51 \pm 0,81
(MÉDIA \pm DP)			

*n=5

Tabela 18- Dente Bovino. Média (\pm desvio padrão) dos dados de espessura da camada híbrida (valores em μm), obtidos para os dentes humanos, sob ação de dois sistemas adesivos e dois tipos de procedimento.

ADESIVO	PROCEDIMENTO		LINHA (MÉDIA \pm DP)
	NORMAL	GRANDER	
SB	3,27 \pm 1,11*	4,02 \pm 0,48	3,65 \pm 0,89
CSB	1,98 \pm 0,16	2,35 \pm 0,58	2,16 \pm 0,89
COLUNA (MÉDIA \pm DP)	2,62 \pm 1,01	3,18 \pm 1,01	2,90 \pm 1,02

*n=5

Tabela 19- Análise de Variância (ANOVA) de medidas repetidas para os dados obtidos de espessura da camada híbrida (μm).

Efeito	gl	SQ	QM	F	p
Dente	1	1,5179	1,5179	4,08	0,0603
Procedimento	1	2,4880	2,4880	6,69	0,0198*
Dente x Procedimento	1	0,0396	0,0396	0,11	0,7482
Amostras					
Resíduo I	16	0,3716	0,3716	72,04	0,0001*
Adesivos	1	19,3920	19,3920	0,31	0,5876
Adesivos x Dente	1	0,0824	0,0824	0,02	0,8926
Adesivos x Procedimento	1	0,0051	0,0051	1,62	0,2214
Adesivos x Dente x Procedimento	1	0,4358	0,4358	4,08	
Resíduo II	16	0,2692	0,2692		
Total	39				

*p<0,05

A interação tripla não foi estatisticamente significativa. O relacionamento entre os Sistemas Adesivos e os Procedimentos para cada um dos tipos de dentes é apresentado de forma gráfica com o gráfico de médias, vide figura mostrada a seguir.

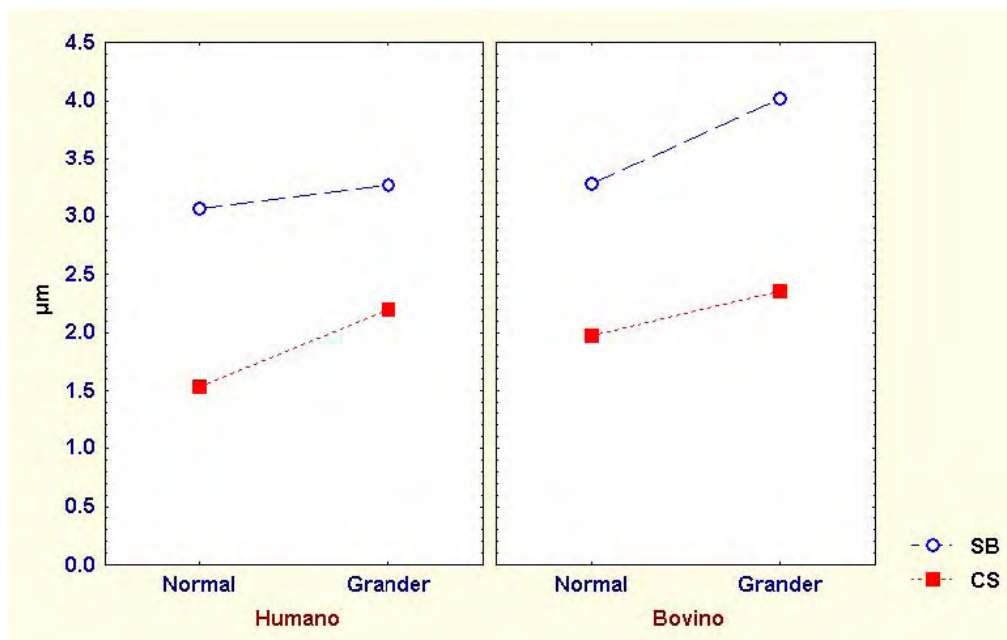


FIGURA 21- Gráfico das médias referente às condições experimentais estabelecidas pelas variáveis: Sistema Adesivo, Procedimento e Tipo de dente.

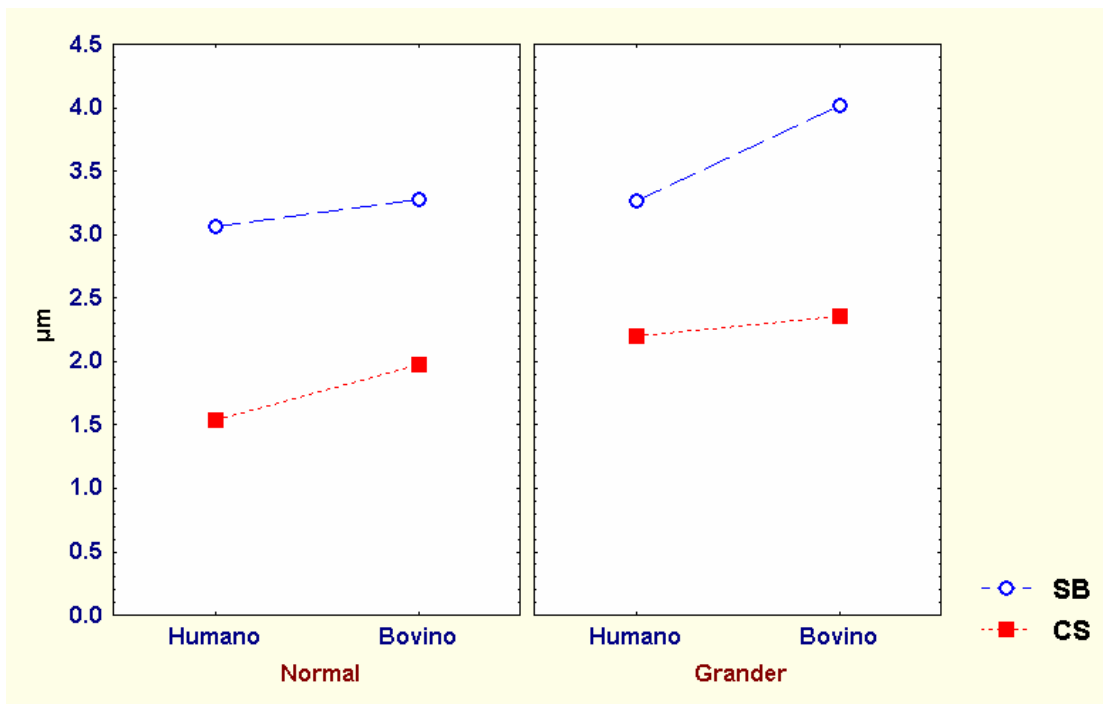


FIGURA 22- Gráfico das médias referente às condições experimentais estabelecidas pelas variáveis: Sistema Adesivo, Procedimento e Tipo de dente.

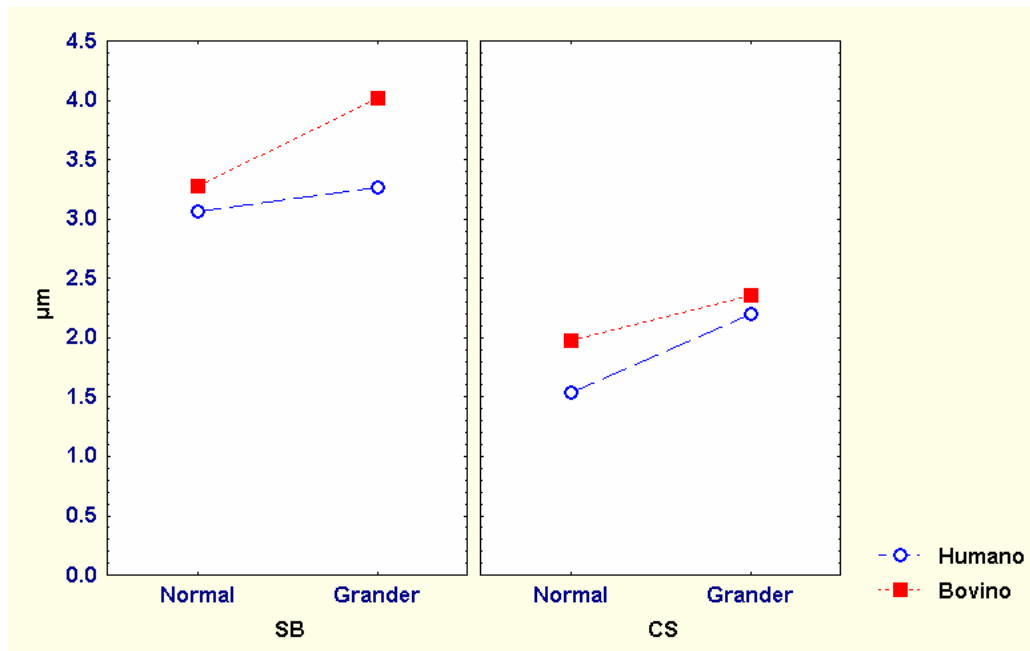


FIGURA 23- Gráfico das médias referente às condições experimentais estabelecidas pelas variáveis: Sistema Adesivo, Procedimento e Tipo de dente.

Por meio do teste ANOVA, Tabela 19, foi verificado que efeitos estatisticamente significantes foram obtidos, apenas, para dois efeitos principais: Procedimento e Sistema Adesivo. Assim, quanto ao procedimento, pôde-se estabelecer que o Grander ($2,96 \pm 0,90 \mu\text{m}$) induziu maior espessura que o Normal ($2,46 \pm 0,92 \mu\text{m}$), independentemente do tipo de dente e de adesivo considerado. E, quanto ao adesivo, o SB ($3,40 \pm 0,75 \mu\text{m}$) induziu maior espessura que o CS ($2,01 \pm 0,46 \mu\text{m}$), independentemente do tipo de dente e de procedimento adotado.

O tipo de dente não influenciou de forma estatisticamente significativa os valores de espessura da camada híbrida obtidos.

O teste de comparação de médias de Tukey (5%) foi efetuado para as quatro condições experimentais estabelecidas pelas duas variáveis estatisticamente significantes: sistema adesivo e procedimento (Tabela 20).

Tabela 20- Teste de Tukey (5%) para as condições experimentais referentes aos valores da camada híbrida (μm) estabelecidas pelas variáveis estatisticamente significantes.

Adesivo	Procedimento	Média \pm desv.padrão	Grupos Homogêneos
SB	Grander	3,64 \pm 0,67	A
SB	Normal	3,17 \pm 0,79	A
CS	Grander	2,27 \pm 0,47	B
CS	Normal	1,75 \pm 0,26	B

Pode-se observar que, independentemente do tipo de procedimento considerado, o adesivo SB induziu a maiores valores de espessura de hibridização que o adesivo CS (Figura 24) mostrada a seguir.

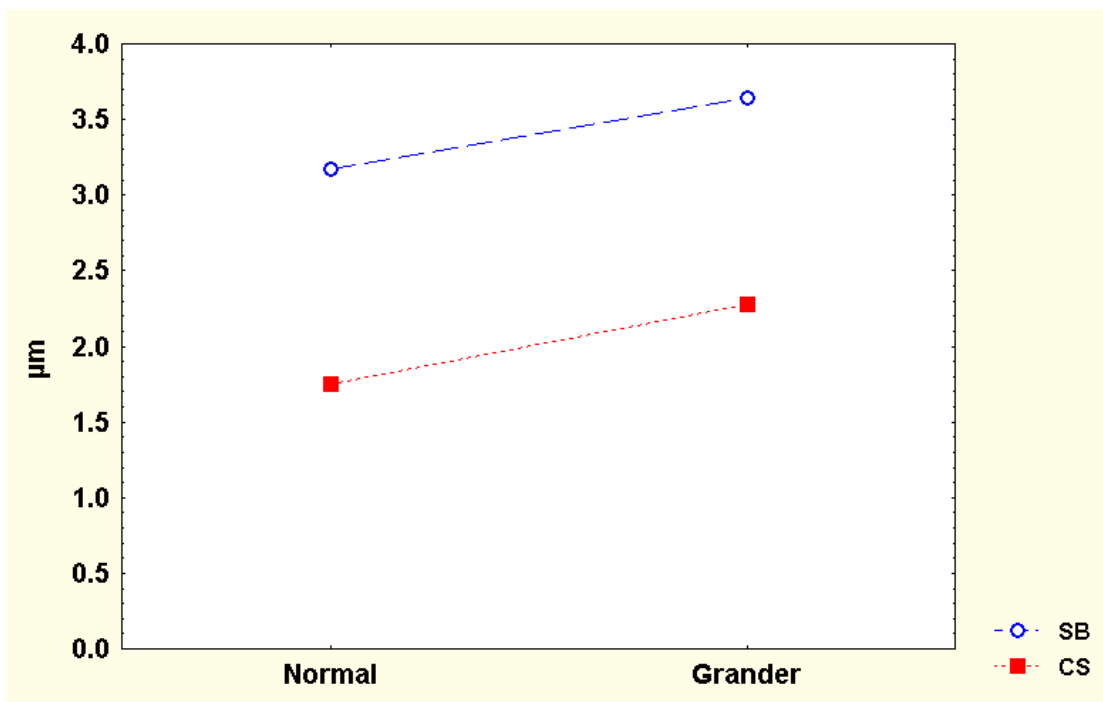


Figura 24-Gráfico de médias referente às quatro condições experimentais estabelecidas pelas variáveis estatisticamente significantes: sistema adesivo e procedimento.

5.4 Descrição morfológica da hibridização das dentinas humana e bovina.

Observa-se a seguir a descrição morfológica da camada de hibridização formada pelos oito grupos distintos.

Serão mostradas oito eletromicrografias genéricas iniciais, para observação de características de relevância do método, para os dois tipos de sistemas adesivos (Single Bond e Clearfil SE Bond), Normais ou Grander modificados, aplicados sobre os dois tipos de substratos (Humano e Bovino), além de duas eletromicrografias dos perfis de adesão de cada grupo, salientando-se as particularidades dos mesmos observadas durante as avaliações.

5.4.1 Caracteres gerais

Na Figura 25 observamos os perfis de adesão de espécimes submetidos ao sistema convencional *Adper Single Bond Normal*. À direita observa-se a área isolada pelo verniz, que foi considerada como a superfície controle, não hibridizada. Esta padronização tornou-se de extrema valia na uniformidade das amostras, incluindo o controle no mesmo espécime. Considera-se que cada hemi-coroa de um espécime destinou-se ao tratamento com um dos dois sistemas adesivos envolvidos no estudo. Pode-se também observar que com a remoção da dentina pelo desafio ácido-base, percebe-se a largura da camada híbrida formada à partir da junção dentina tratada da não-tratada (chave).

5.4.1.1 Do sistema SB Normal

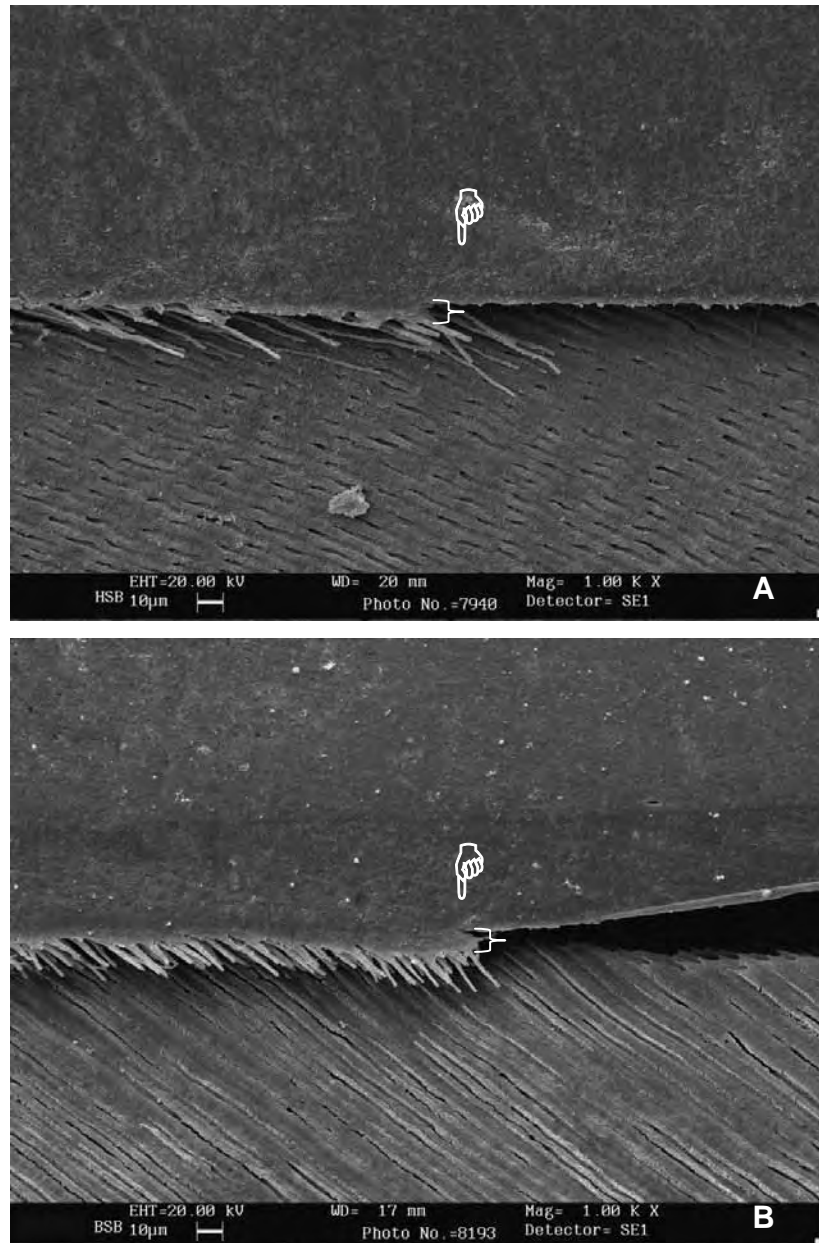


FIGURA 25 – Aspecto geral dos perfis de adesão submetidos ao sistema adesivo *Adper Single Bond Normal* e à secção: a) substrato humano; b) substrato bovino. Observa-se que as áreas de adesão estão mantidas à esquerda das amostras. O indicador limita a transição entre a área de adesão e a dentina isolada com verniz (Aumento original de 1.000X).

Da mesma forma, na Figura 26, observamos os perfis de adesão de espécimes submetidos ao sistema adesivo *Clearfil SE Bond Normal*, seguido da secção. Neste caso as áreas de adesão estão à direita das amostras. Observa-se que nas amostras destinadas ao sistema adesivo SB, os tags resinosos direcionam-se da esquerda para a direita e, ao sistema Clearfil SE Bond, da direita para a esquerda. Também se observa na junção com a área não-tratada, a distinção da zona de hibridização, agora em menor espessura para o sistema Clearfil

De forma geral, não é possível concluir sobre a existência de *tags* resinosos menores e em maior quantidade para o grupo bovino, embora esta observação seja evidente na Figura 25. Isto porque, outras comparações entre outros espécimes destes grupos mostraram uma inversão deste padrão no número e extensão dos *tags*, como observado na próxima imagem. Logicamente, pode-se confirmar a maior espessura dos *tags* em dentina bovina, já que seus túbulos são reconhecidamente de maior diâmetro aos comparados com a dentina humana.

5.4.1.2. Do sistema CS Normal

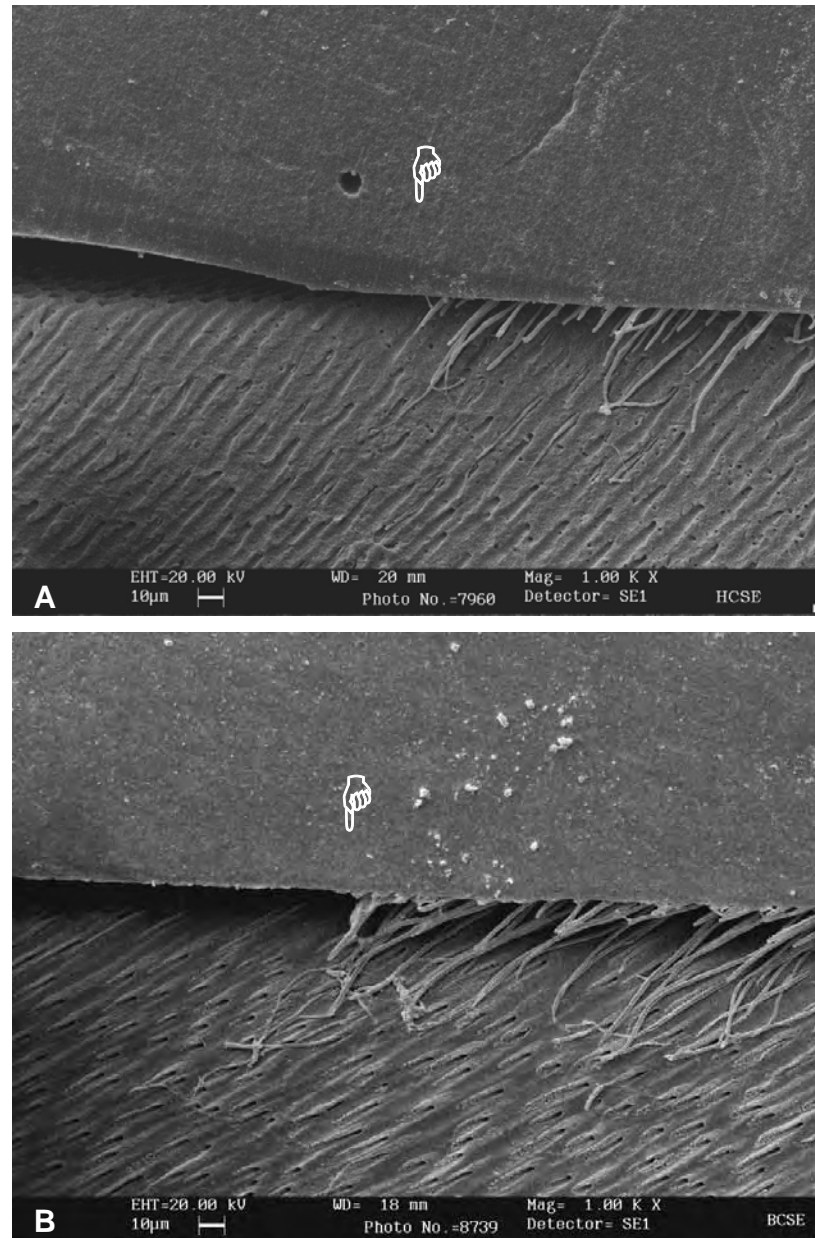


FIGURA 26— Perfis de adesão submetidos ao sistema adesivo *Clearfil SE Bond: Normal*: a) substrato humano; b) substrato bovino (Aumento original de 1.000X).

Na Figura 26 é possível observar o perfil de amostras submetidas ao sistema adesivo autocondicionante **CS**. Verifica-se menor espessura dos *tags*, resultado da infiltração de monômeros nos túbulos da dentina humana (Figura 26 - a), enquanto que no substrato bovino os *tags* apresentam-se com maior espessura, nas proximidades da base da camada híbrida (Figura 26 - b).

5.4.1.3 Do sistema SB Grander modificado

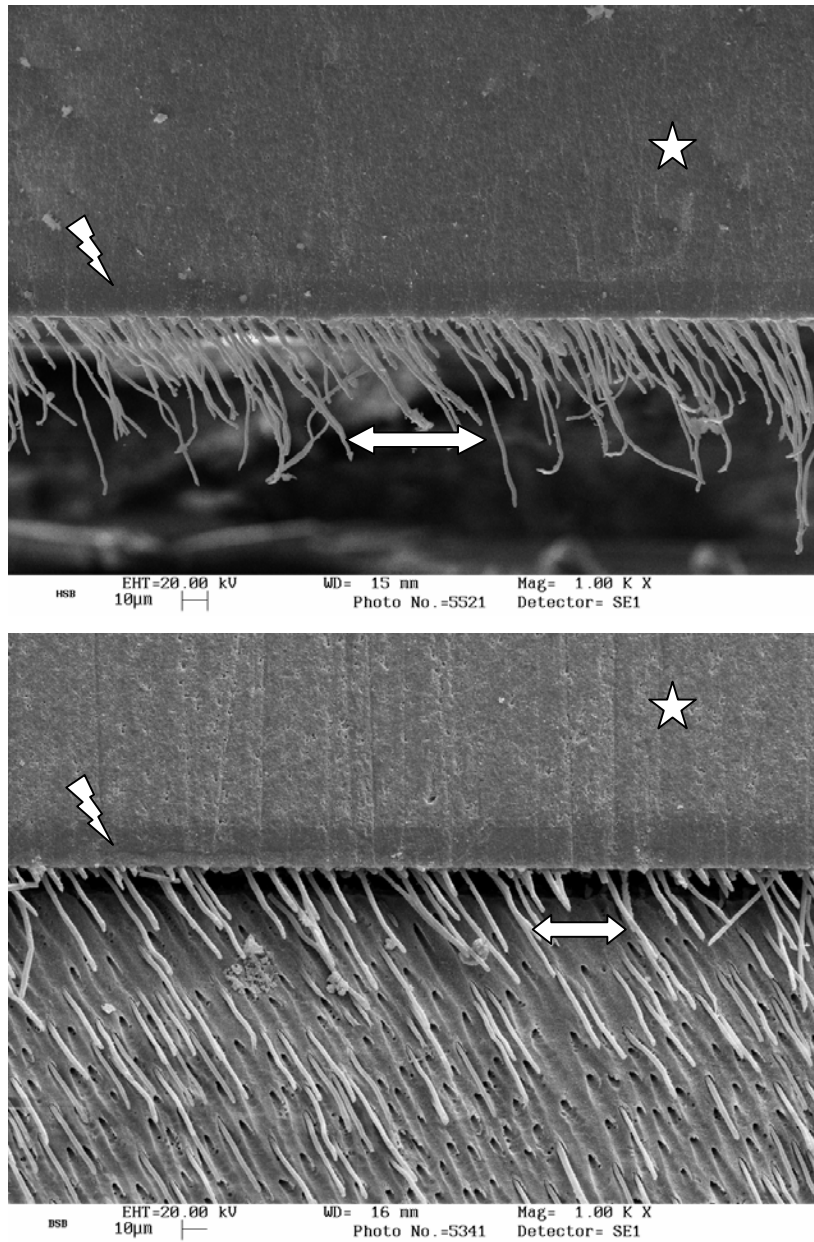


FIGURA 27—Perfis de adesão submetidos ao sistema adesivo *Single Bond*: Grander modificado: a) substrato humano; b) substrato bovino (Aumento original de 1.000X).

Na Figura 27 observam-se numerosos tags (setas), tanto para o substrato humano quanto para o substrato bovino, a partir da camada híbrida, evidenciada pela zona elétron-densa (área clara na base dos tags), porém sem detalhes devido ao aumento da eletromicrografia (1000x). Observa-se também uma zona mais escura referente à camada de adesivo (raio) e, logo acima a camada de resina composta (estrela). Ao comparar-se estas imagens com as imagens fornecidas pelo SB Normal, percebe-se um aumento no comprimento dos tags, podendo este fato estar relacionado ao maior escoamento do material após a modificação Grandier.

5.4.1.4 Do sistema CS Grander modificado

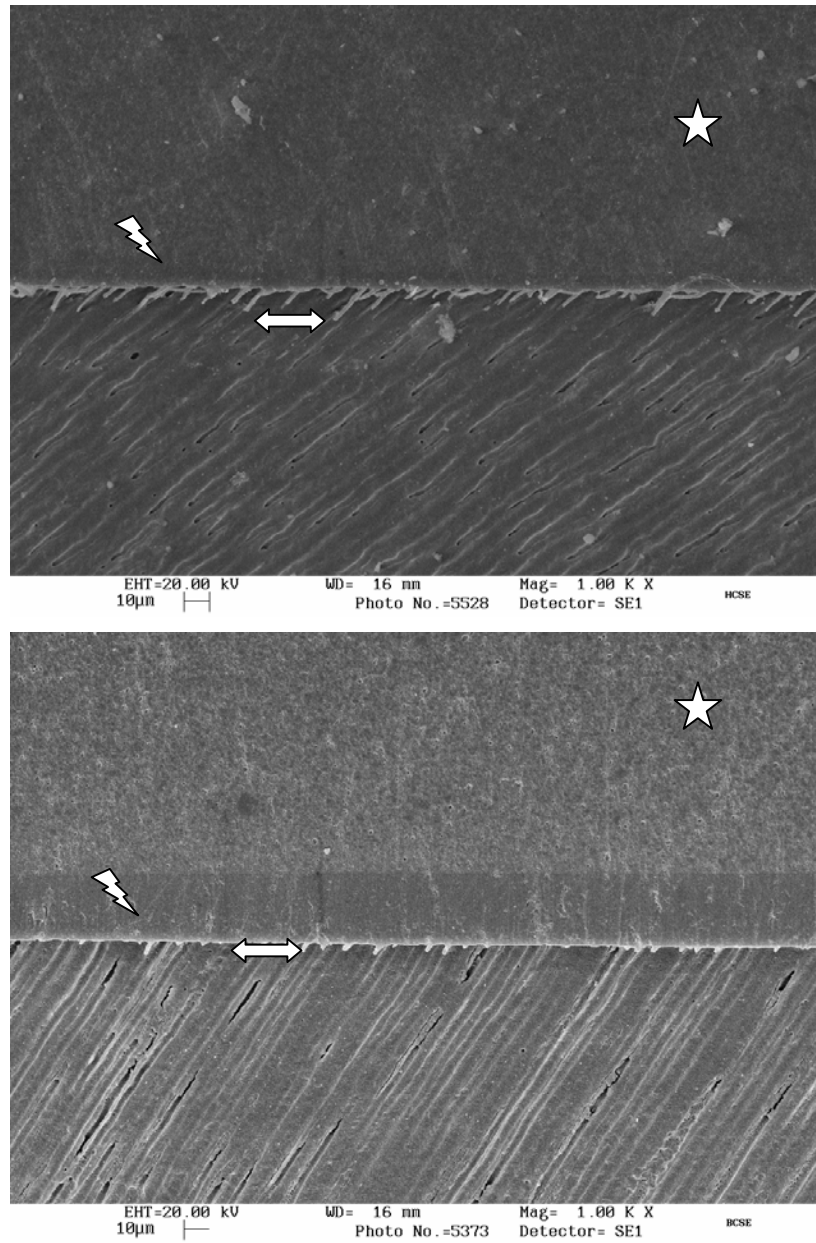


FIGURA 28—Perfis de adesão com *Clearfil SE Bond Grander modificado* da dentina seccionada: a) substrato humano; b) substrato bovino (Aumento original de 1.000X). Camada de adesivo (raio); resina composta (estrela); tags (seta)

Observa-se semelhança entre as condições Normal e Grander para o substrato humano para o sistema Clearfil SE Bond, porém em dentina bovina, apesar da banda elétron-densa evidenciando a formação da camada híbrida, os tags se apresentam pouco numerosos e curtos (seta).

5.4.2 Morfologia do Grupo 9 – Interface de adesão entre dentina humana e sistema adesivo *Adper Single Bond Normal*.

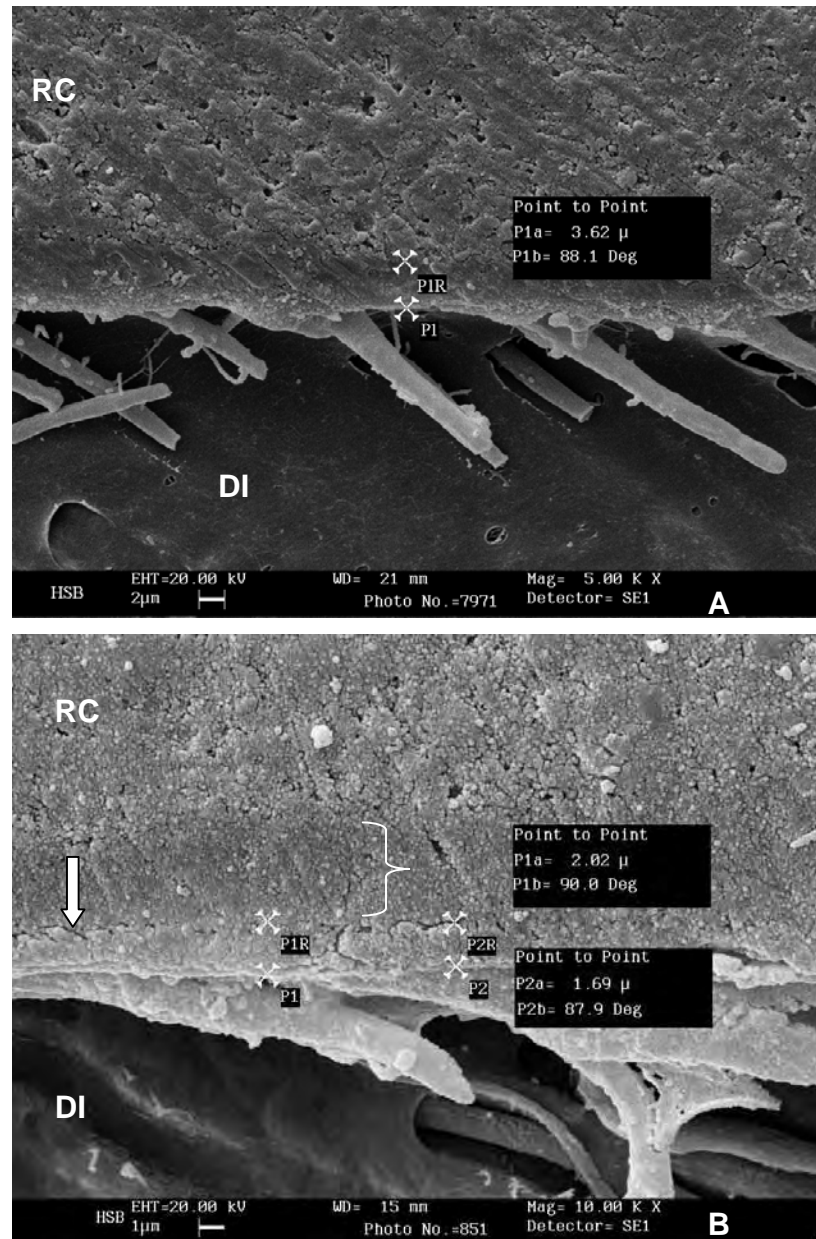


FIGURA 29—Perfis de adesão com *SB Normal* da dentina humana seccionada: a) espessura de hibridização de 3,62μm; b) espessura de hibridização de 2,02μm e 1,69μm; RC—resina composta; DI—dentina intacta; camada de adesivo (chave); zona de gap entre o adesivo e a C.H. (seta); Aumento original de 5.000 e 10.000X.

Nos espécimes de dentina humana, submetidos ao sistema adesivo *Adper Single Bond Normal* (Grupo 9 **HSB**), observa-se a zona de hibridização como uma camada de cor mais clara, elétron-densa. Assim como observado na Figura 25, em menores aumentos (1.000X) foi possível observar-se a presença de *tags* resinosos longos, que se afinam à medida que se afastam da base da zona de hibridização, com a ocorrência de ramificações laterais, denominadas *micro-tags*, que por vezes encontram-se com outro *tag*. Portanto, estes prolongamentos resinosos apresentam superfície irregular, com formato cônico, devido a maior desmineralização na entrada do túbulo dentinário. Encontram-se medidas variáveis de comprimento e espessura dos *tags* e *microtags*.

5.4.3 Morfologia do Grupo 10 – Interface de adesão entre dentina bovina e sistema adesivo *Adper Single Bond Normal*.

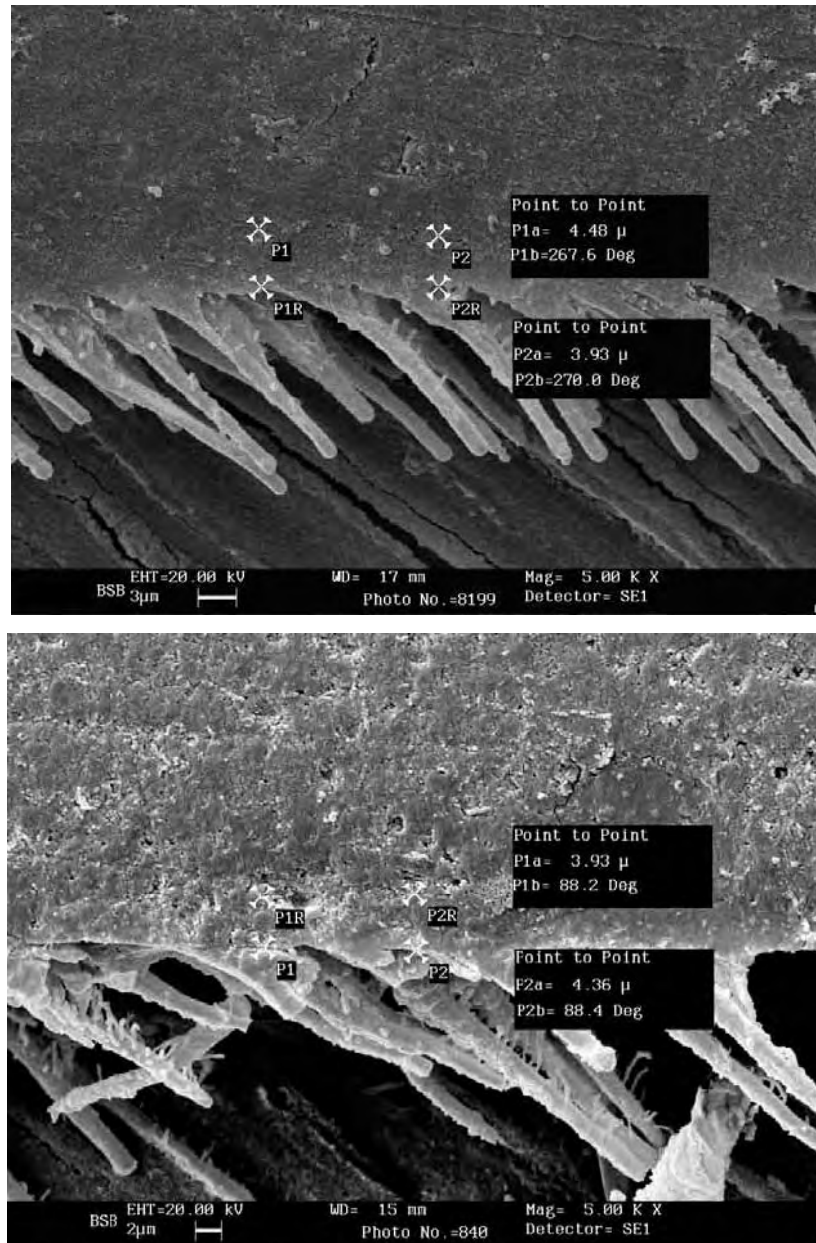


FIGURA 30—Perfis de adesão com *SB Normal* da dentina bovina seccionada: a) espessura de hibridização de 4,48 μ m e 3,93 μ m; observa-se o formato afunilado dos *tags* resinosos,; b) a dentina foi hibridizada em 3,93 μ m e 4,36 μ m; observa-se presença de numerosos *microtags* (Aumento original de 5.000X).

Na Figura 30 observa-se a zona de hibridização do substrato bovino submetido ao sistema adesivo *Adper Single Bond Normal* (Grupo 10 **BSB**), com a presença de *microtags* nos *tags* que, portanto apresentam-se com superfície irregular embora com comprimento e distribuição homogêneos. Em eletromicrografias de menor aumento foi possível observar a zona de hibridização delimitada em seu topo pela camada de adesivo caracterizada por uma faixa mais escura, com menor densidade, e em sua base por *tags* resinosos. A ocorrência de prolongamentos e *microtags* foi grande, com superfície irregular. Os valores encontrados para comprimento dos *tags* e *microtags* de resina também foram variáveis.

5.4.4 Morfologia do Grupo 11 – Interface de adesão entre dentina humana e sistema adesivo *Clearfil SE Bond Normal*.

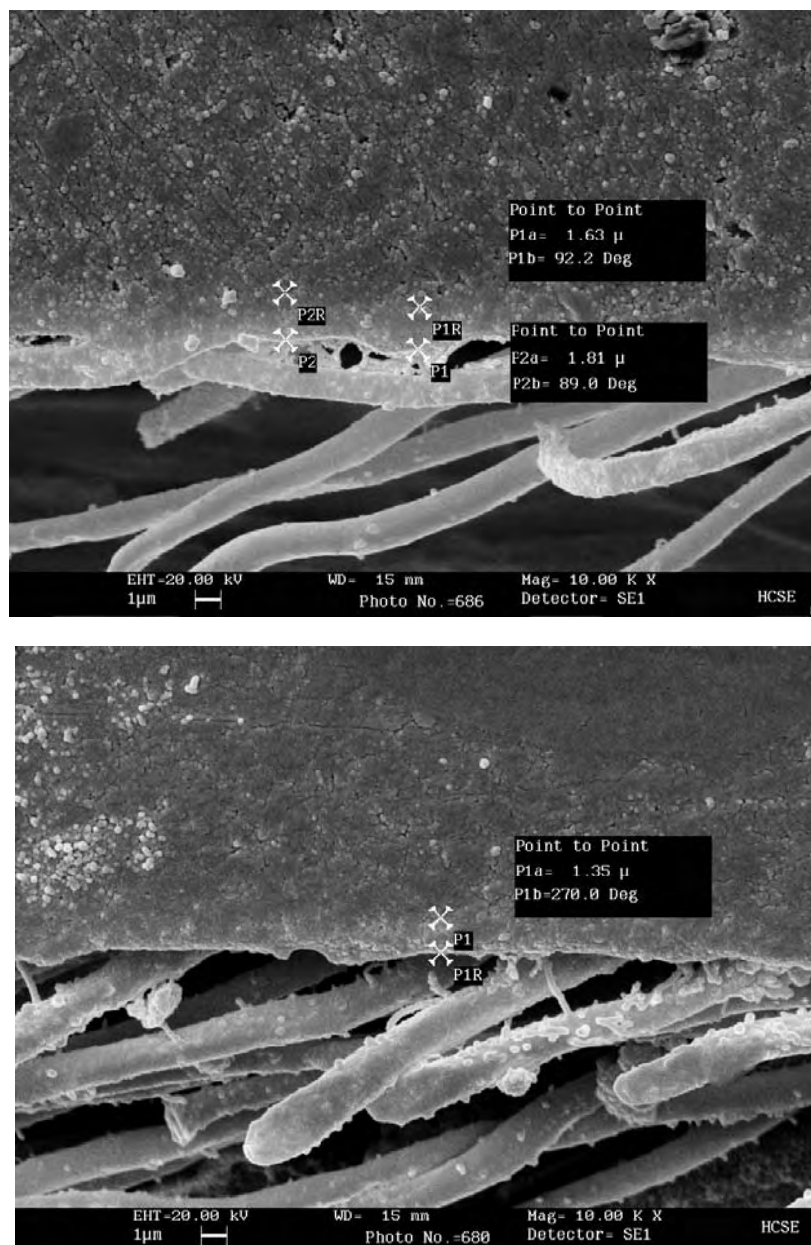


FIGURA 31—Perfis de adesão com *Clearfil SE Bond Normal* da dentina humana seccionada: a) a espessura de hibridização foi de 1,63 μ m e 1,81 μ m; b) a hibridização observada foi de 1,35 μ m (Aumento original de 10.000X).

Com a análise dos perfis de adesão gerados pelo *Clearfil SE Bond Normal* (Grupo 11 **HCS**), é possível observar características gerais da zona de hibridização no substrato humano. A ocorrência de prolongamentos foi menor que no correspondente bovino, com superfície mais lisa, devido à pequena formação de *microtags*, que também possuem menor comprimento. Os valores encontrados para comprimento dos *tags* de resina também exibiram grande de comprimento e espessura.

5.4.5 Morfologia do Grupo 12 – Interface de adesão entre dentina bovina e sistema adesivo *Clearfil SE Bond Normal*.

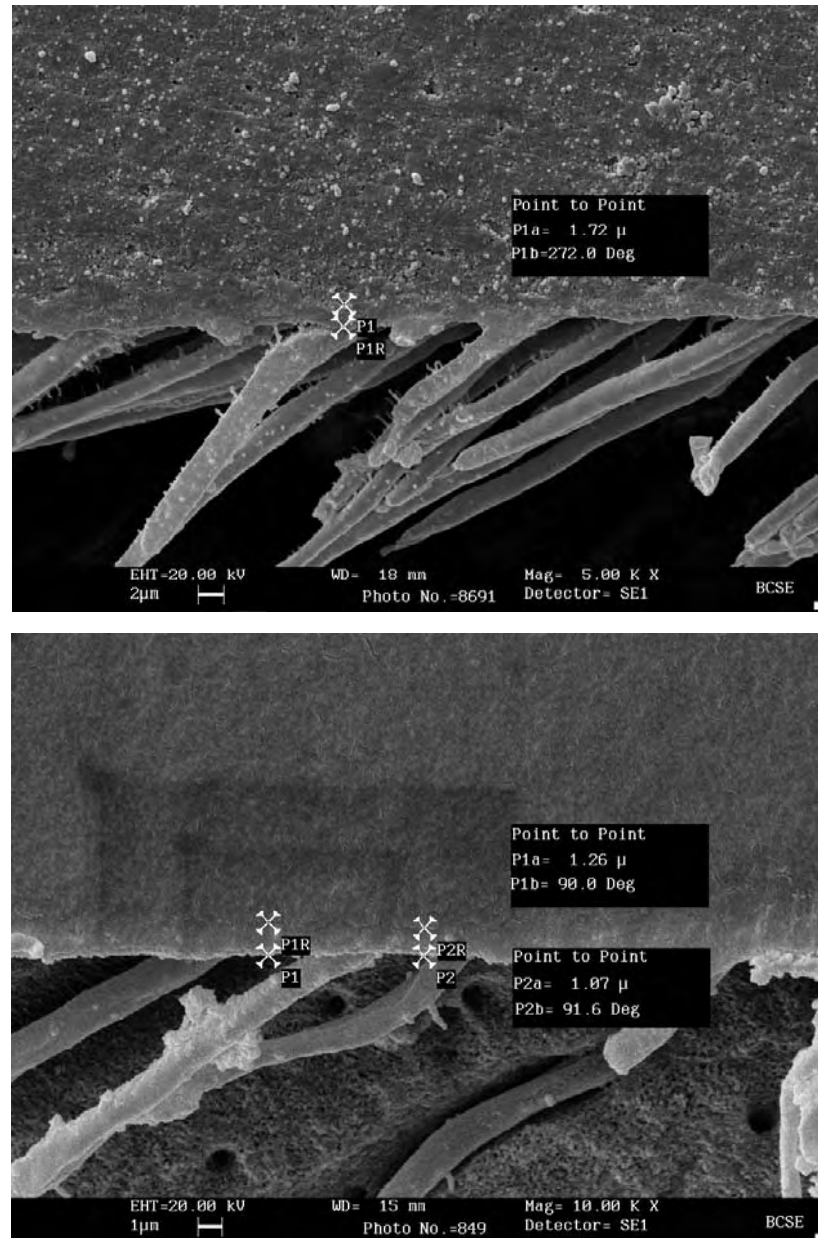


FIGURA 32–Perfis de adesão com *Clearfil SE Bond* da dentina bovina seccionada: a) dentina apresentou espessura de hibridização de 1,72μm; b) espessura de hibridização de 1,26μm e 1,07μm (Aumento original de 10.000X).

Com a análise do *Clearfil SE Bond* (Grupo 12 **BCS Normal**), no substrato bovino, observa-se a menor ocorrência de prolongamentos e *microtags*, com superfície mais lisa e menor comprimento. Os valores encontrados para comprimento e para espessura dos *tags* de resina foram variáveis.

A análise da adesão nos perfis submetidos ao *Adper Single Bond Normal* evidenciou uma zona de hibridização mais espessa, com formação de um número maior de *tags* e extensões laterais, para ambos substratos.

O perfil de adesão dos espécimes submetidos ao sistema adesivo *Clearfil SE Bond*, determinaram espessuras de hibridização menores, em ambos os substratos. A formação de *tags* e *microtags* foi menor, com aspecto mais liso com escasso número de prolongamentos laterais.

5.4.6 Morfologia do Grupo 13 – Interface de adesão entre dentina humana e sistema adesivo *SB Grander modificado*.

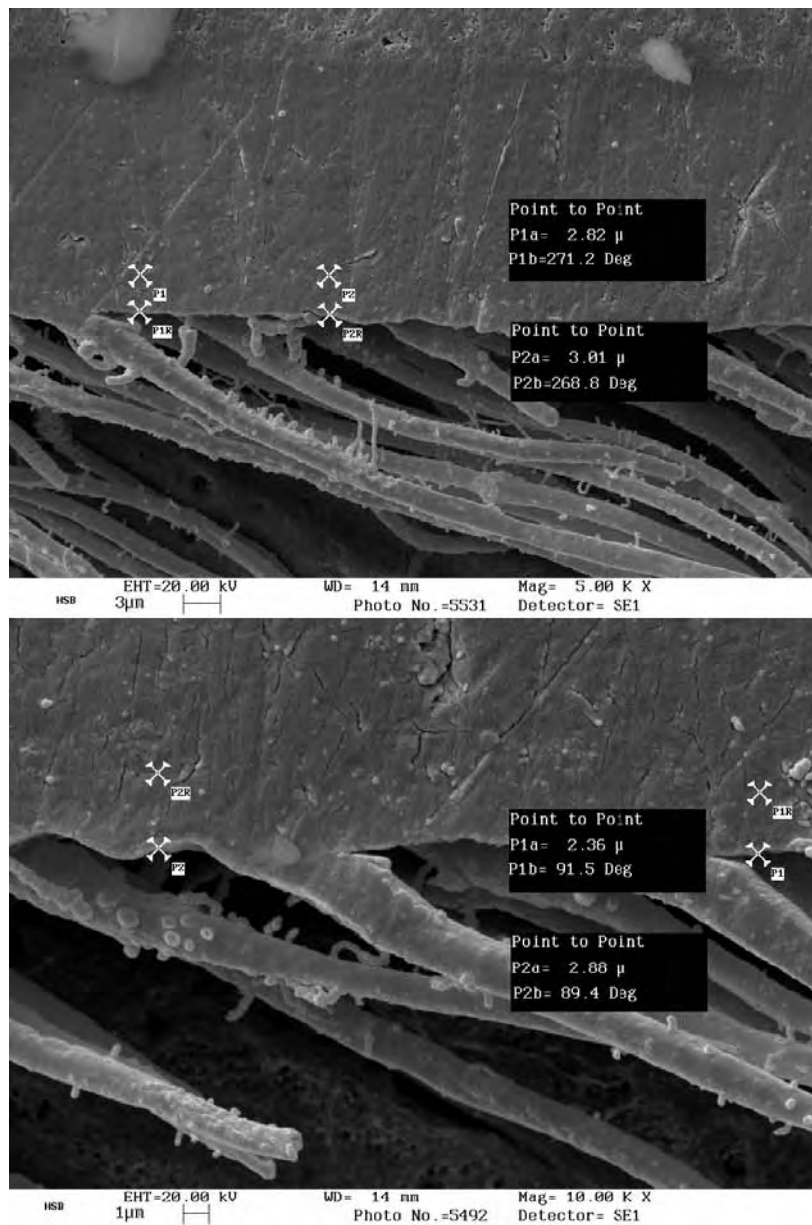


FIGURA 33–Perfil de adesão com *Adper Single Bond Grander modificado* da dentina humana seccionada: a dentina foi hibridizada em 2,36 μ m e 2,88 μ m; observa-se presença de *microtags* (Aumentos originais de 5.000 e 10.000X).

Observa-se para as amostras do Adper Single Bond Grander modificado em substrato humano (grupo 13 **HSBgm**), uma maior dificuldade em se estabelecer o limite entre a camada de adesivo e a camada híbrida. Parece haver um aspecto mais homogêneo, sugerindo uma maior interdifusão do adesivo por entre as fibras colágenas desmineralizadas. São também observados *tags* longos com ramificações laterais, porém da mesma forma com ampla variação no comprimento e espessura.

5.4.7 Morfologia do Grupo 14 – Interface de adesão entre dentina bovina e sistema adesivo *SB Grander modificado*.

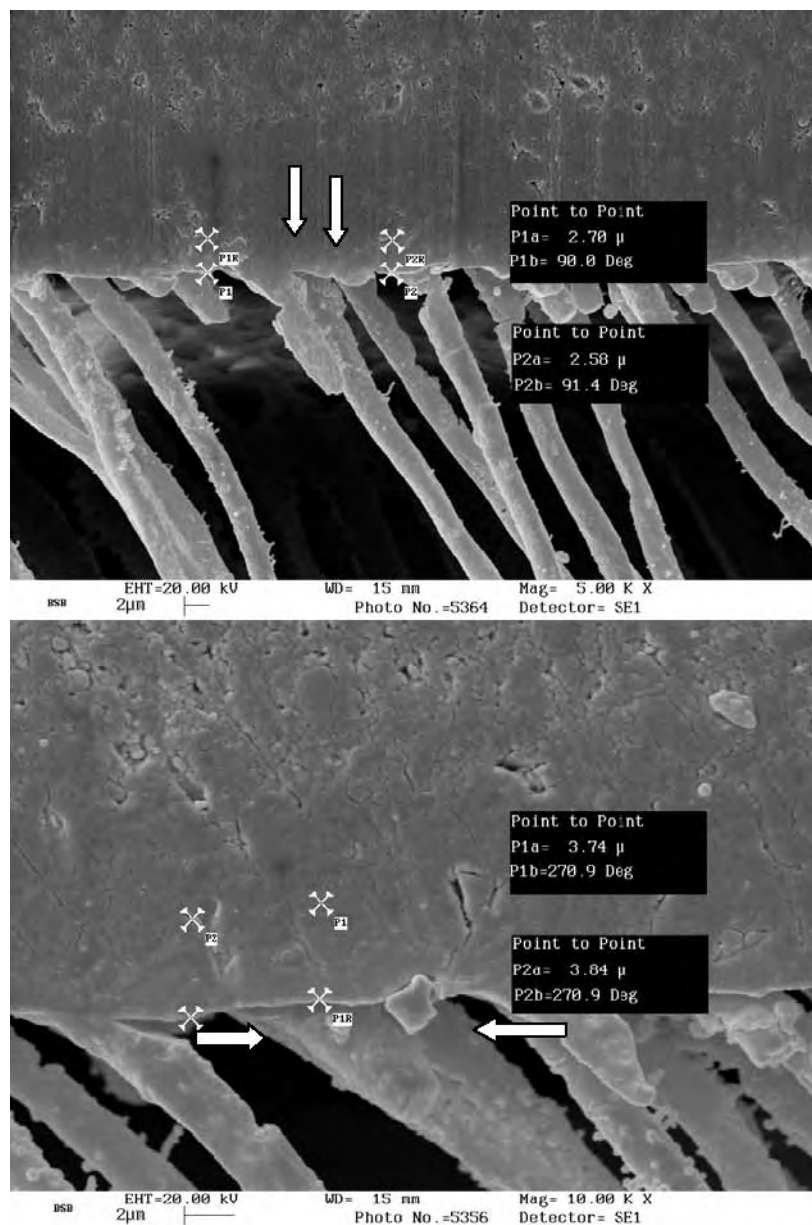


FIGURA 34—Perfis de adesão com *SB Grander modificado* da dentina bovina seccionada: a) espessura de hibridização de 2,58 μ m e 2,70 μ m; observa-se o formato afunilado dos *tags* resinosos (setas); b) hibridização da dentina de espessura 3,74 μ m e 3,84 μ m (Aumentos originais de 5.000 e 10.000X)

Observa-se na Figura 34 referente ao tratamento dentinário bovino com o sistema adesivo SB Grander modificado, que a zona de hibridização também se mostra mais homogênea e de difícil distinção da camada de adesivo quando observa-se com aumento maior (10.000X). Porém, com aumento intermediário (5000X), a distinção da zona elétron-densa da camada de adesivo (setas), se manifesta com maior nitidez. Longos *tags* de adesivo são observados com *micro-tags* associados.

5.4.8 Morfologia do Grupo 15 – Interface de adesão entre dentina humana e sistema adesivo *Clearfil SE Bond Grander modificado*.

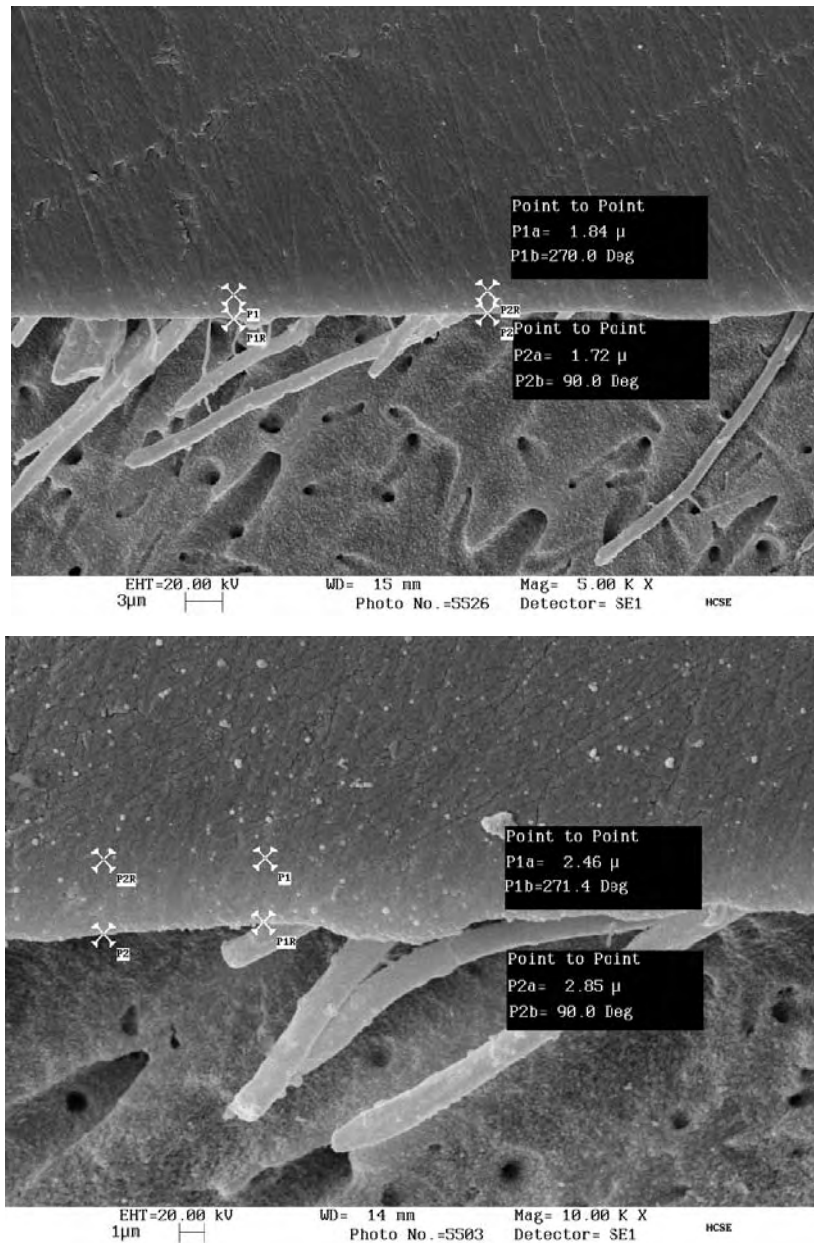


FIGURA 35–Perfil de adesão com *Clearfil SE Bond Grander modificado* da dentina humana seccionada: a) a hibridização observada foi de 1,84μm e 1,72μm; b) a hibridização observada foi de 2,46μm e 2,85μm (Aumento original de 5.000X).

Observa-se também para o Clearfil SE Bond Grander modificado em dentina humana (Grupo **HCSgm**), uma zona elétron-densa referente à camada híbrida, discretamente distinta da camada de adesivo. Os *tags* apresentam-se mais largos, porém bastante reduzidos numericamente em relação ao sistema adesivo convencional.

5.4.9 Morfologia do Grupo 16 – Interface de adesão entre dentina bovina e sistema adesivo *Clearfil SE Bond Grander modificado*.

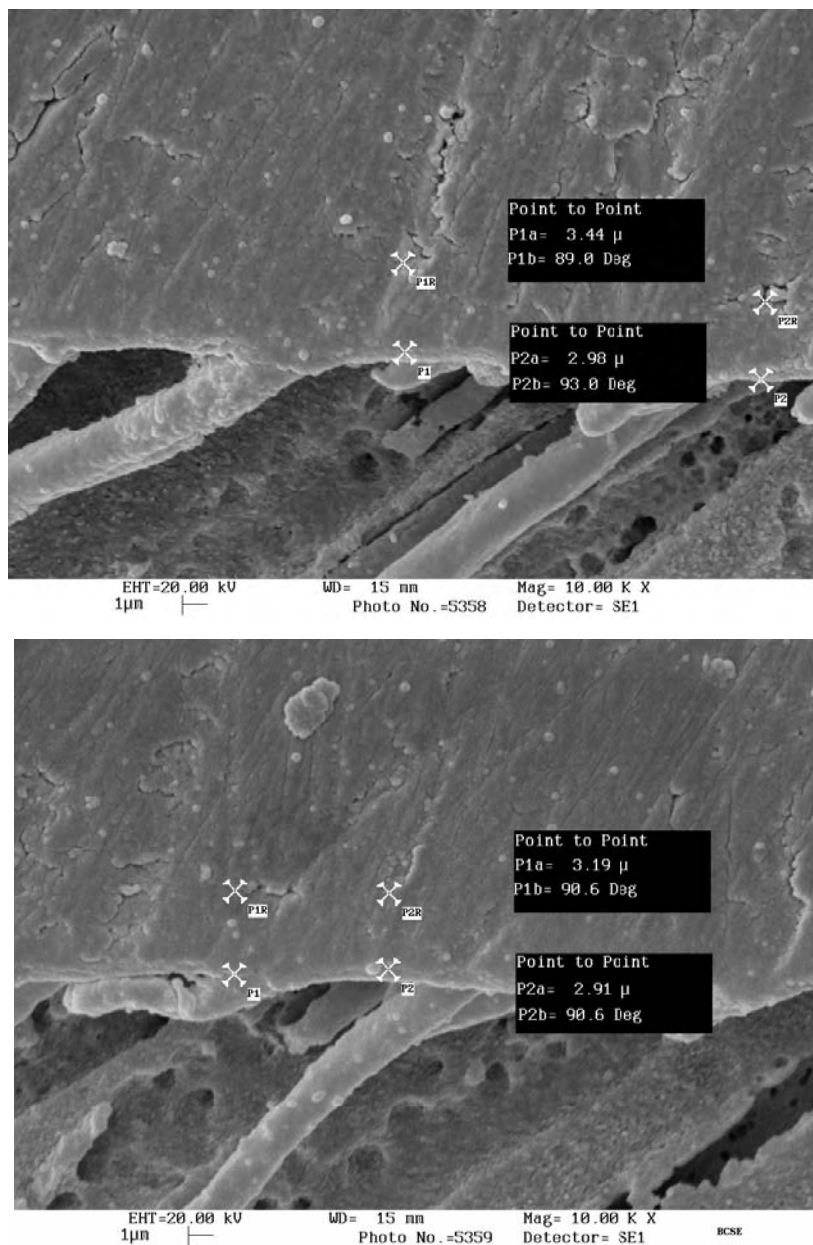


FIGURA 36—Perfis de adesão com *Clearfil SE Bond* da dentina bovina seccionada: a) dentina hibridizada em 3,44μm e 2,98μm; b) espessura da hibridização foi de 3,19μm e 2,91μm; observar (Aumento original de 10.000X).

Observa-se para o Clearfil SE Bond Grander modificado em dentina bovina (Grupo **BCSgm**), uma grande homogeneidade da zona de hibridização, com extrema dificuldade de distinção da camada adjacente de adesivo. Os tags apresentam-se mais largos com poucas ramificações laterais. Por vezes apresentam aspecto mais globular na embocadura do túbulo.

Convém ressaltar que para todas as eletromicrografias primeiramente é feito o ajuste do foco e do local desejado em menor aumento. Tal manobra garante a visualização da camada elétron-densa com maior distinção do que é observado com aumentos maiores. Além disso a distinção da zona controle e tratada, garante a observação da presença da hibridização, como verificado nas fotos em menor aumento.

6 DISCUSSÃO

Após a revisão das muitas pesquisas até então publicadas, observa-se a evolução significativa pela qual passaram os sistemas adesivos, aliada ao conhecimento do substrato dental (BUONOCORE²⁴ 1955; BOWEN¹⁶, 1962; EICK et al.⁵⁰, 1970; GARBEROGLIO & BRANNSTROM⁶⁷, 1976; FUSAYAMA et al.⁶⁴, 1979; NAKABAYASHI et al.¹¹⁶, 1982; GWINNETT⁷⁴, 1984; TAO & PASHLEY^{186,187}, 1988 e 1989; RETIEF et al.¹⁶¹, 1990; NAKABAYASHI et al.¹¹⁷, 1991; FOWLER et al.⁶³, 1992; KANCA III⁸⁷, 1992; PERINKA et al.¹⁴⁵, 1992; VAN MEERBEEK et al.²¹⁵, 1992; TAKEMORI et al.¹⁸⁴, 1993; BURROW et al.²⁷, 1994; PERDIGÃO & SWIFT JÚNIOR.¹³⁵, 1994; SANO et al.¹⁶⁷, 1994; WATANABE et al.²³¹, 1994; GONÇALVES et al.⁷², 1999; CARVALHO et al.³³, 1999; NAKAJIMA et al.¹²⁰, 2000; TAY et al.¹⁹⁷, 2000; ANIDO⁵, 2001; DUTRA-CORRÊA et al.⁴⁷, 2002; RAUSCHER¹⁵³, 2003; CARVALHO et al.³⁶, 2005).

No entanto, apesar dos elevados valores de resistência adesiva, hora obtidos com os mais atuais sistemas de união, a estabilidade da interação sistema adesivo/substrato sofre, ainda, com a longevidade nas condições *in vivo*, ou mesmo *in vitro*, sob armazenamento (TOLEDANO et al.²⁰⁶, 2003; TAY et al.¹⁹⁹, 2004; CARVALHO et al.³⁶, 2005; VAN MEERBEEK et al.²²⁴, 2005).

Encontramo-nos hoje em uma fase de latência, no que se refere à resolução da estabilidade da adesão a longo prazo. Não uma latência de busca, mas uma latência de resultados, pois a microinfiltração continua a existir, limitando a longevidade das restaurações (TORRES et al.²¹¹, 2004; TAY et al.¹⁹⁹, 2004; CARVALHO et al.³⁶, 2005; VAN MEERBEEK et al.²²⁴, 2005).

A proposta desse estudo é bastante curiosa e inédita na Odontologia. A modificação dos sistemas adesivos por um processo físico de rearranjo molecular, operacionalizado pelo próprio profissional-pesquisador, ou mesmo pelo fabricante, abre um novo caminho para pesquisas, no sentido da busca pela estabilidade da adesão.

Como a modificação pela tecnologia Grander jamais foi utilizada para esta finalidade, antes da realização de um estudo para a verificação de sua influência na longevidade da adesão de restaurações em resina composta, precisava-se verificar: se realmente ocorreriam modificações nos sistemas adesivos, se haveria a formação da camada híbrida, se a adesão se manteria inicialmente frente ao desafio ácido-básico para a execução do protocolo da MEV e enfim, quais seriam as características dessa adesão inicial, comparada à adesão pelo processo convencional.

Assim, frente à comprovação do estabelecimento da adesão inicial, num futuro próximo, a estabilidade da adesão frente à modificação pela tecnologia Grander deverá ser avaliada.

Para facilitar o entendimento dos principais aspectos a serem abordados, a discussão foi elaborada de acordo com as várias etapas estudadas.

6.1 Tensão Superficial

Com a primeira etapa desse estudo, procurou-se verificar se realmente houveram modificações nos líquidos utilizados, frente ao contato com o aparelho Grander.

Segundo Faissner⁵⁸ (2000), dentre todas as propriedades da água avaliadas em seu estudo comparativo entre a água normal e a água Grander modificada (balanço iônico, densidade, condutividade elétrica, pH, tensão superficial, teste com álcoois, equilíbrio de fases

líquido/vapor e diagrama de ebulição), a tensão superficial foi a que apresentou mudança mais significativa, em torno de 10%.

Na superfície de líquidos e sólidos os átomos e as moléculas apresentam maior energia do que os situados no seu interior. No caso dos líquidos, esta energia é chamada de tensão superficial. Isto se dá porque as moléculas na superfície encontram-se mais afastadas umas das outras, devido à perda de moléculas por evaporação, levando a uma nítida e maior energia de atração intermolecular. Tal situação resulta em uma força de contração superficial ou tensão superficial, que gera uma película superficial resistente à extensão ou penetração (O'BRIEN & RYGE¹²⁴, 1981).

Em concordância com Faissner⁵⁸ (2000), a tensão superficial da água exibiu, nesse estudo, redução significativa ($p < 0,0001$) em torno de 10%, quando submetida ao processo de modificação Grander, conforme Tabelas 1, 2 e 3 (de 80,94 D/cm para 72,11D/cm).

A redução da tensão superficial nos outros líquidos (SB, *Primer* CS e *Bond* CS) também ocorreu de forma significativa ($p < 0,0001$) porém numa porcentagem menor, conforme Tabelas 1, 2 e 3, provavelmente por ser menor o percentual de água presente nos mesmos, ou ainda, pela maior complexidade molecular desses líquidos.

A tensão superficial reduzida reflete-se, segundo (ATTAL et al.⁹, 1994; TOLEDANO et al.²⁰⁵, 2001), em uma maior capacidade do líquido de molhar o substrato e, conseqüentemente, melhorar a difusibilidade e adesividade.

O sistema adesivo SB apresenta água e etanol como solventes em sua composição (Quadro 2). Teoricamente deveria apresentar modificações frente ao procedimento Grander. De acordo com os resultados obtidos de tensão superficial, foi o líquido que realmente mais se modificou depois da água propriamente dita (Tabela 4 – de 27,77 D/cm \pm 0,28 para 23,61 \pm 0,23 D/cm). Por se tratar de um sistema 2 em 1, ou seja, *primer* e adesivo em frasco único, o SB apresenta maior

viscosidade comparado , por exemplo ao *primer* do *CS bond*. Assim, foi possível perceber visualmente, que o sistema SB mostrou-se mais fluido após a modificação.

O *Primer* do *CS bond* também apresenta água e etanol como solventes em sua composição (Quadro 2). Porém, o líquido por si já é muito fluido e uma distinção visual antes e após a modificação pelo procedimento Grander não foi possível, embora a redução tenha sido estatisticamente significativa (conforme Tabela 4 – de 35,13 D/cm \pm 0,29 para 34,08 D/cm \pm 0,27).

O *Bond* do CS não apresenta água em sua composição, segundo o fabricante (Quadro 2), mas apresenta etanol. Apesar da pequena, mas significativa redução da tensão superficial (conforme Tabela 4 – de 31,10 D/cm \pm 0,46 para 29,25 D/cm \pm 0,26), nenhuma alteração visual da viscosidade do líquido, em si, foi observada após a modificação pelo procedimento Grander.

Uma observação prática relevante é a de que os sistemas adesivos utilizados já apresentam uma tensão superficial reduzida em relação à água (Tabelas 2 e 4 – água 80,94 D/cm e sistemas adesivos de 27,77 a 35,13 D/cm). Isso por si, traz uma extrema dificuldade na medição da tensão superficial.

A água, pela maior tensão superficial, forma uma gota estável e de fácil controle por meio do parafuso micrométrico da microseringa. A gota dos sistemas adesivos, por sua baixa tensão superficial, ao invés de se formar continuamente, sobe a agulha presa à microseringa num primeiro instante. Então, com suaves giros no sentido horário na rosca do parafuso micrométrico, o volume de líquido aumenta e a gota, por seu peso, escorre lentamente pela agulha até se pendurar em sua ponta. No sentido anti-horário também pôde-se controlar o volume excessivo e impedir a queda da gota. Nesse instante, tudo deveria estar pronto para a tomada da medida, pois desta posição de medição ao momento do gotejamento, tem-se 20 segundos para o registro das 20

medidas de tensão superficial: uma por segundo. Vale aqui ressaltar que as gotas dos sistemas modificados foram sempre mais difíceis de se controlar, pois pareciam escorrer pela agulha mais facilmente.

O software que acompanha o goniômetro possui uma ferramenta de enquadramento da gota, que auxilia no controle de seu volume, de maneira tal que o acionamento para as medições só ocorria, quando a gota se encontrava devidamente enquadrada.

Outro fator importante observado é o de que os sistemas adesivos utilizados representam sistemas de ponta, de fabricantes respeitados no mercado de produtos odontológicos, já possuindo valores muito baixos de tensão superficial, o que muito provavelmente contribua para os excelentes resultados nas pesquisas em geral e, na clínica (PERDIGÃO et al., 1999^{136,143}; PHRUKKANON et al.¹⁴⁷, 1999; NAKAJIMA et al.¹¹⁹, 2000; YAMAMOTO et al.²³⁵, 2000; ITOU et al.⁸⁴, 2001; LI et al.⁹⁶, 2001; TOLEDANO et al.²⁰⁵, 2001; AKAGAWA et al.³, 2002; BRESCHI et al.²², 2003; RAUSCHER¹⁵³, 2003; SAKOOLNAMARKA et al.¹⁶⁶, 2003; TAY et al.²⁰⁰, 2004). Talvez, a utilização de sistemas de mais baixa qualidade, com maior tensão superficial e conseqüentemente maior viscosidade e menor fluidez, pudesse exibir melhora mais significativa com relação a essas propriedades após o contato com o aparelho Grandeur. Sugere-se, logicamente, que esse fator seja avaliado em pesquisas futuras.

A literatura odontológica é escassa no tocante à tensão superficial de sistemas adesivos, o que particularmente gerou especial curiosidade.

Muito se encontra na área da física e química, porém são dados de materiais diferentes dos utilizados na prática odontológica, o que inviabilizou comparações.

Acredita-se, a partir dessa linha de pesquisa, que os fabricantes devessem incluir em suas bulas de produtos, dados referentes às propriedades físicas, tais como densidade e tensão superficial, de

maneira a proporcionar comparações mais precisas entre os trabalhos de investigação.

Os resultados referentes a primeira parte das observações propostas nesse estudo, mostraram que todos os líquidos exibiram modificação significativa frente ao procedimento Grander, o que motivou a seqüência dos experimentos.

6.2 Ângulo de Contato

Durante a deposição de uma gota em uma superfície, esta se espalha em todas as direções (supondo uma superfície horizontal). Se uma tangente no ponto de contato superfície-gota-ar for traçada, será obtido um ângulo de contato θ (FIGURA 7). O ângulo de contato indica a natureza dessa interface, mostrando o quanto o líquido molha a superfície. A propriedade termodinâmica que determina esse ângulo é chamada de tensão superficial (BORGES¹³, 2002; RANGEL et al.¹⁵², 2004).

De acordo com Won-suck Oh et al.²³⁴(2002), os valores do ângulo de contato variam conforme a topografia da superfície, tensão superficial do líquido, energia de superfície do substrato sólido e o nível de interação entre o líquido e o sólido. Logo, as características de umedecimento relativo do sistema líquido-sólido podem ser descritas pelo estudo do ângulo de contato, sendo caracterizado que quanto menor o ângulo de contato, maior a molhabilidade da superfície.

Nessa fase do experimento foram utilizados vários líquidos para obtenção do ângulo de contato, bem como vários substratos. De acordo com Won-suck Oh et al.²³⁴ (2002), essa variação é muito importante, pois os líquidos mostram comportamento de molhabilidade diferente frente aos diferentes substratos. Daí a importância em se realizar os testes com os próprios adesivos.

O número de dentes por grupo (n=3) apesar de aparentemente pequeno, reflete na verdade a expressão de uma média de 100 medidas para cada espécime. Esse recurso, possibilitado por uma ferramenta do goniômetro, gera um nível de confiança muito grande dos resultados em cada condição. Seria como se fizéssemos cem medições dos ângulos de contato de cem gotas dispensadas em outros aparelhos que não oferecem esse recurso.

Outra variável da metodologia observada nos diversos estudos é o tempo de espera pós-gotejamento para a medição do ângulo de contato. Toledano et al.²⁰⁵ (2001), utilizaram 30s de espera, enquanto Borges¹³ (2002) utilizou seis minutos para a estabilização da gota. Zuanon et al.²⁴⁰ (2001), utilizaram 15s de espera, após o qual a gota era fotopolimerizada e a medição realizada. Nesse estudo optou-se por 20s de espera, tempo considerado suficiente para a estabilização da gota, ajuste do foco, da iluminação, dos demais dispositivos necessários do equipamento e para a manutenção das propriedades dos líquidos, que poderiam ser alteradas pelo tempo excessivo de espera, tais como: evaporação dos solventes e fotopolimerização pela luz. Assim, o método desse estudo se aproxima do utilizado por Toledano et al.²⁰⁵ (2001).

A fotopolimerização do líquido foi um recurso descartado, discordando de Zuanon et al.²⁴⁰ (2001), pois se acredita que esta induza a uma contração do sistema adesivo, alterando o seu volume, e conseqüentemente, o ângulo de contato. Esta contração muito provavelmente não seria controlada e cada sistema poderia responder de forma diferente. Zuanon et al.²⁴⁰ (2001) não dispunham de um goniômetro para suas avaliações, realizando-as manualmente a partir de fotografias em lupa estereoscópica, daí a necessidade da fotopolimerização dos sistemas adesivos.

Uma superfície de um sólido não é plana ao nível molecular e o grau de desvio do corte da superfície, indubitavelmente,

afetará a medição do ângulo de contato (PHOENIX E SHEN,¹⁴⁶ 1995, TOLEDANO et al.²⁰⁵, 2001; WON-SUCK OH et al.²³⁴, 2002).

Por isso a preocupação com a padronização dos espécimes para os testes foi rigorosa. Desde o embutimento, desgastes e polimentos, os espécimes foram mantidos paralelos à bancada de trabalho (GONÇALVES,⁷¹ 1997 e GONÇALVES et al.⁷², 1999; RAUSCHER¹⁵³, 2003; ANIDO⁶, 2005).

Sabe-se também que a aspereza da superfície sólida influencia os resultados de medição de ângulo de contato (ATTAL et al.⁹, 1994; PHOENIX E SHEN¹⁴⁶, 1995; BORGES¹³, 2002; WON-SUCK OH et al.²³⁴, 2002) e que, com o método do ângulo de contato é muito difícil diferenciar a contribuição da aspereza da superfície, na medição da tensão superficial para a soma dos atributos das reais mudanças no estado energético. Assim, o polimento final dos espécimes com a lixa de granulação 4000, foi realizado para reduzir a influência da aspereza (ATTAL et al.⁹, 1994).

Segundo Won-suck Oh et al.²³⁴ (2002), o ângulo de contato diminui com a aspereza da superfície, mesmo não havendo contaminação ou qualquer interação sólido-líquido. A razão para isso é que a superfície rugosa tem maior área real de superfície tridimensional do que a superfície aparente (bidimensional).

Pôde-se perceber pela estatística de Análise de Variância ANOVA a 5%, que houve diferença significativa para cada variável independente, ou seja: o Procedimento (N ou G), os sistemas adesivos ou líquidos (água, SB, PCS e BCS) e os substratos (P, H e B) interferiram significativamente no ângulo de contato.

O primeiro substrato utilizado foi uma placa de titânio, extremamente polida e limpa, de forma a proporcionar uma comparação fiel entre os líquidos testados. A placa de titânio não interage com os líquidos da mesma forma que os substratos dentais também utilizados. Assim, o ângulo de contato medido representa as características de

difusibilidade dos líquidos por suas respectivas tensões superficiais e/ou demais propriedades.

Observa-se na Tabela 8 que a placa de titânio gera a maior média de ângulo de contato quando se utiliza a água, por exemplo, provavelmente, fruto da maior interação destas com os substratos H e B. Para o *Primer* do CS bond também observa-se esta proporção. No entanto, para o *Bond* do CS e para o SB outras variáveis se misturam e dificultam esta observação, como a passagem prévia do *primer* para o primeiro e o ataque ácido para o segundo.

Os resultados obtidos nas placas revelaram redução das medidas de ângulo de contato para a água, SB e *Bond* do CSB quando Grander modificados (Tabelas 8, 9, 10 e 11). Esse fato pode ser explicado pela efetiva redução da tensão superficial propiciada pelo procedimento Grander para esses líquidos. No entanto, apesar da ocorrência significativa da redução da tensão superficial também para o *Primer* do CS *bond*, não houve redução do ângulo de contato frente a placa de titânio. Isto pode ter ocorrido devido ao fato do *primer* tornar-se ainda mais fluido após a modificação pelo procedimento Grander gerando um acréscimo visualmente imperceptível do volume da gota, com conseqüente aumento do ângulo de contato, somente perceptível após análise estatística dos dados. Frente ao substrato dental percebemos o decréscimo do ângulo como para os outros líquidos.

Frente ao substrato dental humano foi observada redução das medidas de ângulo de contato para todos os líquidos quando Grander modificados (Tabelas 8, 9 10 e 11). Novamente comprovando a influência do procedimento Grander na redução da tensão superficial e, desta, na redução do ângulo de contato. No entanto, muito provavelmente já se tem aqui a influência da interação com o substrato, pois a redução do ângulo de contato se mostra mais intensa quando comparada à placa de titânio. Além disso, apesar da padronização rigorosa dos corpos-de-prova, os dentes exibem variabilidade quanto ao grau de mineralização e direção de

túbulos dentinários, o que poderia contribuir para explicar diferenças mais acentuadas dentro da própria amostragem (maior desvio-padrão).

O substrato bovino mostrou resultados distintos do humano, onde não houve redução das medidas de ângulo de contato dos líquidos Grandier modificados, com exceção do *Bond* do CS (Tabela 8,9 10 e 11). Isso mostra que o substrato bovino é realmente mais permeável que o substrato humano, impedindo a visualização das mudanças ocorridas nos líquidos frente à modificação pelo Grandier. A redução das medidas do ângulo de contato para o *bond* pôde ser percebida, mesmo no dente bovino, porque o seu gotejamento foi sempre realizado sobre a superfície já impregnada pelo *primer*, o que mascara as características do substrato. Esse procedimento foi adotado pois, em uma situação clínica, sempre a aplicação do *bond* é precedida da aplicação do *primer*, em se tratando de sistemas adesivos com frascos separados. Jamais utilizaremos clinicamente um *bond* sem *primer* de acordo com as instruções dos fabricantes dos produtos que empregam frascos separados.

Já para o SB que é precedido por condicionamento, não se pôde perceber a redução expressiva do ângulo de contato entre os procedimentos N e G ($31,96^\circ$ e $31,59^\circ$ respectivamente). O condicionamento torna a superfície do dente bovino ainda mais irregular e muito difusível, sendo o ângulo de contato mais dependente dessa aspereza do que da propriedade modificada do sistema adesivo.

Esse fator torna-se relevante para os estudos que confrontam substratos distintos. Desse modo, observa-se que dentes bovinos só devem ser usados em estudos para avaliação do ângulo de contato, quando se utilizam sistemas adesivos de frascos separados, onde o *primer*, previamente aplicado, minimiza os inconvenientes de permeabilidade excessiva desse substrato.

A energia de superfície serve para avaliar o ângulo de contato, medido através do emprego de um líquido de referência, sobre a

superfície do substrato. Para Toledano et al.²⁰⁵ (2001), após o condicionamento ácido, a *smear layer* é removida e a dentina peritubular e intertubular são dissolvidas, reduzindo a energia de superfície devido à exposição das fibras colágenas e perda de componentes minerais. No entanto, a molhabilidade aumenta devido ao aumento da rugosidade superficial. A dentina peritubular é desmineralizada e o lúmen dos túbulos é alargado. Essas modificações resultam em uma dentina mais porosa e permeável, com ângulo de contato reduzido. Os autores utilizaram o SMP, o Clearfil SE Bond e o Etch & Prime. Quando o SMP foi utilizado, houve condicionamento ácido prévio e o *primer* exibiu grande molhabilidade, pois o ângulo de contato foi bastante reduzido (6°). No estudo atual foi utilizado o SB, cujo *primer* está associado ao *bond* no mesmo frasco. Logo, sua viscosidade torna-se maior que a do SMP, logo, o ângulo de contato formado foi muito mais elevado (30°). O *Primer* do CS gerou valores de ângulo de contato muito semelhantes em ambos estudos (14° no estudo de Toledano et al.²⁰⁵ (2001), e 15,6° nesse estudo).

Porém, de acordo com Attal et al.⁹ (1994), os condicionadores ácidos ou básicos não afetam a energia de superfície da dentina, não tendo influência na umectabilidade, pois geram características hidrofóbicas (não remoção total da *smear layer* – para os básicos como hipoclorito de sódio; deposição de sílica ou alteração da pressão de capilaridade pela desmineralização muito profunda, para os ácidos). Somente quando há monômeros hidrofílicos no condicionador, a energia de superfície poderá aumentar, porém a substância com essas características já representará um *primer* condicionador. Conseqüentemente, um aumento da energia de superfície da dentina, pode resultar em aumento da umectabilidade e da resistência adesiva.

Os resultados desse estudo confirmam essas observações quando dentes humanos são avaliados. Ao utilizar o sistema adesivo SB que requer condicionamento ácido prévio, as medidas dos ângulos de contato foram: de $30,83^\circ \pm 5,49^\circ$ para o sistema Normal e de $18,58^\circ \pm$

1,69° para o Grander modificado (Tabela 11); ao passo que para o *primer* do CS (*primer* ácido), as medidas reduziram para 15,69° ± 4,52° para o sistema Normal e 10,80° ± 3,25° para o Grander modificado (conforme Tabela 10). Essa observação torna-se muito valiosa quando se comparam os resultados de resistência adesiva e microinfiltração dos sistemas adesivos autocondicionantes, em dentina, com os sistemas de condicionamento total. Ou seja, a capacidade dos autocondicionantes de aumentar a energia de superfície pode colaborar para a elevação dos resultados de resistência adesiva e redução do grau de microinfiltração. Toledano et al. (2001) observou valores de resistência adesiva superiores para o autocondicionante em esmalte e dentina (19 e 17 MPa respectivamente) contra (14 e 16 MPa) gerados pelo convencional SMP. Observe, também que no estudo atual, a utilização da tecnologia Grander aproximou o resultado obtido com o SB (18,58°), do obtido com o *primer* normal do CSB (15,69°). Tabelas 10 e 11, sendo promissor na melhora dos resultados de adesão.

No entanto, muitas outras características dos sistemas, do substrato e do processo adesivo influem na umectabilidade e na qualidade adesiva final. De acordo com Attal et al.⁹ (1994), a extensão com que o líquido umedece a superfície da dentina, depende das interações químicas entre ela e o líquido, de considerações físicas como a ação de capilaridade e da aspereza da superfície.

Percebe-se pelas observações descritas por Attal et al.⁹(1994) que o condicionador ácido convencional não é essencial para o aumento da energia de superfície e umectabilidade da dentina, mas sim o *primer* ácido. Já para o esmalte, o condicionador age aumentando a energia de superfície, logo, não necessita do *primer*.

Para Watanabe et al.²³¹ (1994) e Tay et al.^{191,192} (1996), a molhabilidade quando se utilizam sistemas autocondicionantes pode se apresentar reduzida, pois como a superfície não é lavada, o cálcio e o fosfato solubilizados dos cristais de hidroxiapatita, não são removidos.

Esse depósito pode, portanto, reduzir a molhabilidade do substrato. Assim, se essa hipótese fosse concretizada, encontraríamos uma boa razão para justificar o uso da tecnologia Grander na melhora da molhabilidade para os sistemas autocondicionantes.

Contudo, nossos resultados discordam de Watanabe et al.²³¹ (1994) e Tay et al.^{191,192} (1996), evidenciando maior molhabilidade para o autocondicionante *primer* CS *bond* normal do que para o SB normal (ângulo de contato reduzido, conforme Tabelas 10 e 11) mesmo sem o auxílio do procedimento Grander.

Muitas ainda são as dúvidas, pois a umectabilidade é multi-fatorial, e o grau e a porcentagem de importância de cada fator é difícil de ser estabelecido. Novas pesquisas são necessárias no sentido de individualizar a importância desses fatores, como: tensão superficial (comparação com líquidos polares e apolares de densidade conhecida); grau de aspereza do substrato e a influência no ângulo de contato; trabalho de adesão; estudos de pH e pK (pois, nem sempre, a acidez do sistema representa sua capacidade de descalcificação e, conseqüentemente, grau de aspereza da superfície de adesão, segundo YOSHIDA et al.²³⁶, 2001).

6.3 Características da hibridização

Durante a revisão da literatura foi possível observar que a base para uma adesão forte e estável é a formação de uma zona de hibridização homogênea, em que os monômeros tenham infiltrado completamente e preenchido a matriz colágena desmineralizada (NAKABAYASHI et al.¹¹⁷, 1991; PASHLEY et al.¹²⁹, 1992; CARVALHO et al.³², 1996; Nakabayashi & Pashley¹¹², 1998; GONÇALVES et al.⁷², 1999; EGGLE MILIA et al.¹⁰⁵, 2003; RAUSCHER¹⁵³, 2003; ANIDO⁶, 2005).

Observa-se também que muitos são os fatores que influenciam esse mecanismo adesivo em quaisquer de suas etapas (NAKABAYASHI et al.¹¹⁷, 1991; NAKABAYASHI E TAKARADA¹¹⁴, 1992; PASHLEY et al.^{130,132}, 1993; VAN MEERBEEK et al.²¹⁵, 1992; PERDIGÃO et al.^{139,142}, 1994, 1996; GONÇALVES et al.⁷², 1999; RAUSCHER¹⁵³, 2003; ANIDO⁶, 2005).

Considerando-se a necessidade de se estabelecer as características da adesão criada por dois diferentes sistemas adesivos, normais ou Grander modificados, em dois diferentes substratos, por meio de observações morfológicas, o conhecimento e discussão de cada um dos fatores torna-se necessário.

Muito embora esses fatores possuam inter-relação, foi realizada uma abordagem segmentada para propiciar ao leitor um melhor entendimento dos resultados obtidos nesse estudo.

6.3.1 Substrato

Os testes laboratoriais relacionados à adesão ao remanescente dental são muito importantes para a análise da performance inicial destes materiais. Experimentos realizados *in vivo* são necessários para estabelecer a eficácia, a confiabilidade e a longevidade da união dentina-resina. Entretanto, como demandam tempo e custo elevados, os experimentos laboratoriais são indicadores preferíveis para a avaliação inicial desses materiais (VAN MEERBEEK et al.²¹⁹, 1994; SYMPOSIUM¹⁸⁰, 1995; SWIFT JUNIOR et al.¹⁷⁸, 1995; FERRARI et al.⁶⁰, 1996; SANO et al.¹⁶⁹, 1999; GONÇALVES et al.⁷², 1999, RAUSCHER¹⁵³, 2003; ANIDO⁶, 2005).

Os sistemas adesivos são avaliados, usualmente, em terceiros molares de pacientes jovens, com indicação para extração, onde a área de teste geralmente é confeccionada na superfície oclusal, próximo à JAD. Tagami et al.¹⁸³ (1993) e El-din et al.⁵⁵ (2004) observaram que esta

é a simulação de uma situação clínica que raramente ocorre, uma vez que a rotina da Odontologia adesiva é ser aplicada em substrato modificado pela ação da idade, por cárie, em variados graus de esclerose fisiológica e patológica ou em lesões cervicais que apresentam dentina hipermineralizada.

Com inúmeros trabalhos encontrados na literatura empregando experimentos *in vitro*, e com a dificuldade de reproduzir muitos destes experimentos, ou de transpor os seus resultados para predizer o comportamento destes materiais quando aplicados clinicamente, verificou-se a importância da padronização das variáveis envolvidas, permitindo a diminuição da margem de erros quando relacionamos estes resultados (RETIEF¹⁵⁷, 1991; FOWLER et al.⁶³, 1992; MARSHALL JUNIOR⁹⁹, 1993; TAGAMI et al.¹⁸³, 1993).

Muitas variáveis influem não somente nos resultados dos testes de adesão à estrutura dental e em sua hibridização, tais como: tipo de substrato, profundidade do remanescente, tempo e armazenagem após a extração e método de realização do teste (MOWERY JUNIOR et al.¹¹⁰, 1987; TAGAMI et al.¹⁸¹, 1990; BEECH et al.¹¹, 1991; CARRACHO et al.²⁹, 1991; MCCABE & RUSBY¹⁰⁰, 1992; TAKEMORI et al.¹⁸⁴, 1993; SWIFT JUNIOR et al.¹⁶⁶, 1995; PASHLEY & CARVALHO¹²⁰, 1997; NAKABAYASHI & PASHLEY¹¹², 1998; SANO et al.¹⁶⁹, 1999; CARRILHO et al.³⁰, 2004).

Segundo Marshall Junior⁹⁹ (1993) e El-din et al.⁵⁵ (2004), alterações causadas pela idade do dente podem modificar os resultados de testes de adesão, entretanto, para Tagami et al.¹⁸³ (1993) e Burrow et al.²⁷ (1994), a idade não promoveu alterações em testes de resistência de união.

Quanto ao método de estocagem dos dentes, optou-se pelo congelamento em água por ser o melhor método para o armazenamento de dentes destinados à análise da adesão, segundo

Tonami et al.²⁰⁷ (1996) e Titley et al.²⁰³ (1998), pois, desta forma o colágeno dentinário é mantido mais próximo das condições *in vivo*.

Os dentes bovinos são comumente utilizados por pesquisadores em substituição aos dentes humanos para a análise de materiais odontológicos devido ao grande número de espécimes disponíveis para a execução destes trabalhos, dificuldades na obtenção de dentes humanos hígidos, assim como para sua padronização. Os dentes bovinos são de fácil obtenção, permitem adequada padronização da idade das amostras coletadas, além de disponibilizar uma área de teste maior devido as suas características anatômicas (NAKABAYASHI et al.¹¹⁶, 1982; SAUNDERS¹⁷⁰, 1988; TAGAMI et al.¹⁸¹, 1990; RUSE & SMITH¹⁶⁵, 1991; FOWLER et al.⁶³, 1992; NAKABAYASHI et al.¹¹⁵, 1992; WATANABE & NAKABAYASHI²³⁰, 1993; PERINKA e tal.¹⁴⁵, 1992; KLETER et al.⁹², 1994; TITLEY et al.²⁰¹⁻²⁰², 1994; REEVES et al.¹⁵⁴, 1995; GONÇALVES et al.⁷³, 1996; KATO & NAKABAYASHI⁸⁹, 1996; BOSCHIAN et al.¹⁴, 1997; CHAN et al.³⁷, 1997; TITLEY et al.²⁰³, 1998; KWON & IMAI⁹⁴, 1999; MYASAKA & NAKABAYASHI¹⁰⁸, 1999; PERDIGÃO et al.¹⁴³, 1999; CUNHA et al.⁴⁰, 2000; HUHTALA et al.⁸⁰, 2000; PARAIZO et al.¹²⁶, 2000; SCHILKE et al.^{171,172}, 1999 e 2000; YAMAMOTO et al.²³⁵, 2000; ANIDO⁵, 2001; BOUILLAGUET et al.¹⁵, 2001; MEDINA et al.¹⁰², 2001; DUTRA-CORRÊA et al.^{47,48,46}, 2002, 2003 e 2004; TORII²⁰⁸ et al., 2002; RAUSCHER¹⁵³, 2003; REIS et al.¹⁵⁵, 2004; TORRES et al.²¹¹, 2004).

Outro fator que tem merecido destaque é a questão ética, com normas rigorosas que restringem ainda mais a realização de estudos diretamente em dentes humanos.

Vários trabalhos foram encontrados na literatura comparando resultados de adesão entre o substrato bovino e humano, porém, poucos são os que oferecem respostas às variações ou às semelhanças observadas. Ante aos testes de resistência adesiva, alguns pesquisadores verificaram pequenas diferenças entre os resultados

obtidos, validando o emprego do dente bovino em testes de adesão, guardadas as relações entre eles e principalmente realizando uma padronização adequada e minuciosa (NAKAMICHI et al.¹²², 1983; SAUNDERS¹⁷⁰, 1988; SANO et al.¹⁶⁷, 1994; SCHILKE et al.^{171,172}, 1999 e 2000; ANIDO⁵, 2001; DUTRA-CORRÊA et al.^{47,46,45}, 2002, 2004 e 2005; LOPES et al.⁹⁷, 2003; REIS et al.¹⁵⁶, 2004).

Em relação aos testes de microinfiltração, Reeves et al.¹⁵⁴ (1995) não encontraram diferenças significantes entre substrato humano e bovino, em contraposição, Retief et al.¹⁶¹ (1990) e Paraizo et al.¹²⁶ (2000), demonstraram que o substrato bovino não deve ser indicado com esta finalidade, pois exibiu maior taxa de microinfiltração que o humano, ou utilizado com mais critério, segundo Dutra-Corrêa⁴⁵ (2005), que observou grau de penetrabilidade de corante de forma diferente em esmalte, mas semelhante em dentina humana e bovina.

De acordo com Perdigão et al.¹⁴⁴ (2000), o uso de incisivos bovinos em estudos de adesão enfrenta a limitação de manter uma proximidade da superfície de adesão com a parede pulpar, quando a superfície de dentina é desgastada para produzir a área de testes. O mesmo não ocorre com o emprego de dentina coronária de molares humanos que, por sua maior espessura e maior distância da polpa, permite obtenção de área suficiente para o teste.

Estudos realizados para estabelecer as semelhanças entre estes substratos, do ponto de vista micromorfológico, são mais escassos (TAGAMI et al.¹⁸², 1989; SCHILKE et al.^{171,172}, 1999 e 2000; DUTRA-CORRÊA et al.^{47,48,46}, 2002, 2003 e 2004).

Saunders¹⁷⁰ (1988) e Schilke et al.^{171,172} (1999 e 2000) observaram que não houve diferença significativa em relação ao número de túbulos dentinários (túbulos/mm²) na dentina coronária humana e bovina. Em outros trabalhos relatou-se um grande número de túbulos dentinários em substrato bovino, embora não houvesse dados que

expressasse de forma quantitativa esta afirmação (NAKAMICHI et al.¹²², 1983; RETIEF et al.¹⁶¹, 1990).

Com relação ao diâmetro e número de túbulos dentinários/mm² nas camadas correspondentes da dentina coronária de dentes decíduos e de molares permanentes humanos comparados à dentina coronária de incisivos bovinos, relatou-se semelhança estatística entre estes substratos. Assim como ocorre na dentina humana, a densidade dos túbulos coronários bovinos é maior do que dos radiculares (MJÖR & NORDAHL¹⁰⁹, 1996; SCHILKE et al.¹⁷², 2000).

Ao contrário do que se observa na dentina humana, o diâmetro dos túbulos na dentina bovina coronária e radicular é maior nas proximidades da JAD e menor próximo da polpa conferindo menor permeabilidade a esta região, que também apresenta maior área de dentina intertubular. Em contraposição, o menor número de túbulos com maior diâmetro próximo ao esmalte, torna esta região menos mineralizada, mais permeável com diferença de quantidade de conteúdo aquoso no fluido dentinário. Estes dados são importantes à medida que estão diretamente ligados à eficiência da hibridização (SCHILKE et al.¹⁷², 2000; DUTRA-CORRÊA et al.⁴⁸, 2003).

Empregando a condutância hidráulica da dentina coronária bovina, Tagami et al.^{182,181} (1989 e 1990) verificaram que sua permeabilidade é de seis a oito vezes menor do que a dentina oclusal de terceiros molares humanos, e semelhante à dentina radicular humana. Schmalz et al.¹⁷³ (2001) verificaram que os dois substratos comportaram-se de forma similar aos experimentos de condutância hidráulica e fluxo difusional frente a diferentes condições de pré-tratamento. Estes autores indicaram a utilização de dentina bovina da região próxima à JAC como uma alternativa aceitável para substituição da dentina coronária humana, pela menor variabilidade dos dados apresentados, com relação às características de permeabilidade transdentinária.

Dutra-Corrêa⁴⁵ (2005), realizou diversos testes *in vitro* no sentido de comparar a dentina e esmalte humano e bovino. Apesar de diversas diferenças individuais nos valores específicos, o padrão de comportamento da dentina e do esmalte bovino frente aos testes físicos, térmicos e mecânicos, foi semelhante.

Assim, comparar o resultado do emprego de sistemas adesivos em dentina humana e bovina, tornou-se importante como mais uma forma de prever a viabilidade da substituição da dentina humana em estudos iniciais de adesão. Além disso, com poucos estudos morfológicos comparativos na literatura, verificou-se a necessidade de se realiza-lo, a fim de colaborar com a validação do emprego dos dentes bovinos em testes de adesão.

A partir de nossos resultados foi possível concluir que houve semelhança estatística para o comportamento dos substratos humano e bovino, frente aos diferentes sistemas adesivos e frente aos diferentes procedimentos (Normal ou Grandeur). Ou seja, o tipo de dente (H ou B) não influenciou os valores de espessura da camada híbrida observada, podendo ser o dente bovino indicado para testes em primeira instância do comportamento dos sistemas adesivos em dentina.

6.3.2 Número de amostras

Nesse estudo empregou-se incisivos hígidos humanos e bovinos, com a finalidade de comparar dentes de mesmo grupo e favorecer a padronização.

Baseando-se na literatura observou-se que um reduzido número de espécimes tem sido empregado, devido à dificuldade na obtenção de dentes humanos hígidos. Isto é corroborado pelo fato de que um estudo morfológico deve ser criterioso tornando-se dispendioso em tempo de trabalho e custo, principalmente quando o método de avaliação

é a MEV. Foram utilizados grupos compostos de cinco amostras, assim como outros autores de reconhecida reputação científica, tais como: Van Meerbeek et al.²¹⁶ (1992), Perdigão & Swift Junior¹³⁵ (1994), Perdigão et al.¹⁴⁰ (1995), Kato & Nakabayashi⁸⁹ (1996), Ogata et al.¹²⁵ (2001), Torii et al.²⁰⁸ (2002) e Sakoolnamarka et al.¹⁶⁶ (2003).

Outros autores executaram avaliações com quatro amostras em seus estudos (TITLEY et al.^{201,202}, 1994; NAKAJIMA et al.¹²⁰, 2000; MEDINA et al.¹⁰², 2001; CHERSONI et al.³⁹, 2004). Enquanto outros como Nakajima et al.¹¹⁸ (1995), Perdigão et al.¹⁴² (1996), Ferrari et al.⁶¹ (1999) e Toba et al.²⁰⁴ (2003) que realizaram a análise morfológica de três amostras. E, por fim, a utilização de duas amostras foi realizada por Nakabayashi & Takarada¹¹⁴ (1992), Perdigão et al.¹³⁹ (1994), Yoshiyama et al.²³⁷ (1995), Perdigão et al.⁴¹³ (1996), Nakabayashi & Saimi¹¹³ (1996), Prukkanon et al.¹⁴⁷ (1999) e Frankenberg et al.⁶⁵ (2001).

Poucos trabalhos foram observados com um número maior de amostras em estudos micromorfológicos, tais como os estudos de Tay et al.¹⁹⁶ (1996) e de Prati et al.¹⁵¹ (1999) que empregaram seis amostras oriundas de molares humanos, justificável por serem dentes mais fáceis de se obter quando comparados aos incisivos humanos íntegros, utilizados no presente estudo.

6.3.3 Padronização da dentina

Muitos trabalhos foram realizados com a finalidade de estudar a hibridização da dentina por diferentes sistemas adesivos, mas a maior dificuldade em estabelecer comparações entre estes trabalhos é a diversidade de metodologia e de obtenção dos espécimes para a realização destes experimentos (VAN MEERBEEK et al.²²², 2000; MACARI et al.⁹⁸, 2002).

A análise da camada híbrida é influenciada por diversos fatores incluindo presença de cárie, hipermineralização e esclerose dentinária. Portanto, o substrato dentinário é de difícil padronização (MCGUCKIN et al.¹⁰¹, 1991; NAKABAYASHI et al.¹¹⁵, 1992; VAN MEERBEEK et al.^{215,219}, 1992 e 1994; DUKE⁴⁴, 1993; MARSHALL JUNIOR⁹⁹, 1993; PERDIGÃO et al.¹³⁹, 1994; NAKAJIMA et al.^{118,119}, 1995 e 2000; GONÇALVES et al.⁷³, 1996; PRATI et al.¹⁵¹, 1999; RIBEIRO et al.¹⁶², 1999; KWONG et al.⁹⁵, 2000; ANIDO⁵, 2001; REIS et al.¹⁵⁵, 2001; GIACHETTI et al.⁶⁹, 2002; MACARI et al.⁹⁸, 2002; RAUSCHER¹⁵³, 2003; SAKOOLNAMARKA et al.¹⁶⁶, 2003; TAY et al.¹⁹⁰, 2003).

Neste estudo procuramos controlar todos os passos laboratoriais para obter uma superfície dentinária padronizada em relação à espessura da dentina remanescente e profundidade, densidade e inclinação dos túbulos, pois podem ocorrer diferenças importantes nos resultados de adesão com a falta de atenção a esses fatores (SCHUEPBACH et al.¹⁷⁴, 1994; WATANABE et al.²³¹, 1994; OGATA et al.¹²⁵, 2001).

Desta forma, realizamos o primeiro embutimento de modo que o longo eixo dos dentes ficasse perpendicular ao plano da bancada, para facilitar o seccionamento das amostras de análise da hibridização (Figura 8-a).

Após a obtenção das hemi-seções das coroas (Figuras 9-a e b), foi realizado o segundo embutimento, observando que seu longo eixo e a parede vestibular da cavidade pulpar estivessem paralelos à superfície da bancada (Figuras 10-a e b).

Nos procedimentos de desgaste das amostras observamos a inclinação da parede pulpar vestibular, realizando esta manobra cuidadosamente, até a obtenção da espessura ideal de dentina remanescente, correspondente à metade da espessura total de dentina, para que houvesse uma possível semelhança entre os dentes humanos e bovinos com relação ao tamanho e densidade dos túbulos dentinários,

como observado na Figura 11-a (TAGAMI et al.¹⁸², 1989; SANO et al.¹⁶⁷, 1994; DUTRA-CORRÊA et al.⁴⁶, 2004). O polimento das interfaces de adesão foi realizado cuidadosamente para evitar a mudança do perfil conseguido com o primeiro corte para obtenção das hemi-coroas, evitando-se que a pressão exagerada em uma determinada região acarretasse a alteração do plano da interface (ARRAIS & GIANNINI⁸, 2002; RAUSCHER¹⁵³, 2003).

Yoshiyama et al.²³⁷ (1995) e Carvalho et al.³⁵ (1999) discorreram sobre a análise de perfis de adesão após a realização de polimento da interface, onde resíduos deste polimento poderiam mascarar possíveis fendas ou porosidades existentes na zona de hibridização. Para evitar este tipo de falha, realizou-se o condicionamento ácido dos perfis de adesão para remover esta *smear layer*, revelando eventuais porosidades e fendas. Além disso, o condicionamento com ácido clorídrico revelou a subsuperfície de adesão removendo dentina não-impregnada por monômeros adesivos e qualificou a hibridização frente a este desafio químico (WANG & NAKABAYASHI²²⁸, 1991). Outra forma de impedir a ação dos resíduos de polimento, é a opção de realizar a fratura dos perfis de adesão, que apresenta a desvantagem de dificultar a padronização deste corte, comprometendo a análise comparativa entre as amostras (CARVALHO et al.³⁵, 1999).

6.3.4 Microscopia eletrônica de varredura

A microscopia de varredura foi o instrumento de eleição para a realização deste estudo por proporcionar a maior resolução, melhor capacidade de foco, facilitar a interpretação de superfícies não planas, embora apresente como desvantagem seu alto custo de aquisição e manutenção operacional (ESTRELA⁵⁷, 2001). A possibilidade da realização desta análise de alta performance, com grande profundidade

de ação e alta resolução em elevados aumentos, faz da microscopia uma ferramenta fundamental para o estudo das superfícies e desenvolvimento de materiais, além de sua relativa facilidade de manuseio (GABRIEL⁶⁶, 1985; VAN MEERBEEK et al.²²², 2000).

Muitos estudos são realizados para a análise e desenvolvimento de materiais odontológicos adesivos às estruturas dentais. Como este é um procedimento complexo, sujeito a muitas variáveis, tornou-se necessário o emprego de uma tecnologia que permitisse o estudo e a apresentação do máximo de detalhes para caracterizar a área de união ou hibridização. Desta forma, foi possível empregar metodologia comparativa com trabalhos existentes na literatura internacional (PERDIGÃO & SWIFTJUNIOR¹³⁵, 1994; PERDIGÃO et al.^{139,140}, 1994 e 1995; FERRARI et al.⁶⁰, 1996; GWINNETT al.⁷⁶, 1996; KATO & NAKABAYASHI⁸⁹, 1996; PERDIGÃO et al.¹⁴², 1996; TAY et al.^{191,196}, 1996; FERRARI & DAVIDSON⁵⁹, 1996; YOSHIYAMA et al.²³⁸, 1996; BOSCHIAN et al.¹², 1997; KWON & IMAI⁸⁸, 1999; MIYASAKA & NAKABAYASHI¹⁰⁸, 1999; PERDIGÃO et al.¹⁴³, 1999; NAKAJIMA et al.^{119,120}, 2000; VAN MEERBEEK et al.²²², 2000; MACARI et al.⁹⁸, 2002; SAKOOLNAMARKA et al.¹⁶⁶, 2003).

A microscopia eletrônica baseia-se na interação de um feixe de elétrons produzido por um filamento de tungstênio ou de hexaboreto de lantânio que é reduzido por meio de lentes eletromagnéticas ao diâmetro de um nanômetro. Através de dispositivos eletrônicos este feixe é controlado de modo a varrer a superfície da amostra analisada. Os átomos da amostra são excitados ao serem impactados pelo feixe de elétrons e emitem fótons que são coletados por um detector de partículas, gerando um sinal que é amplificado e usado para modular o brilho de um tubo de raios catódicos, que é varrido simultaneamente com o feixe de elétrons. Assim, é possível obtermos imagens tridimensionais, facilitando a análise de superfícies, qualidade de instrumentais odontológicos, quanto ao acabamento e polimento, análise

morfológica, quantitativa e qualitativa de estruturas biológicas e não-biológicas (GABRIEL⁶⁶, 1985; JUNQUEIRA & CARNEIRO⁸⁶, 1999; KITAJIMA & LEITE^{90,91}, 1999; VAN MEERBEEK et al.²²², 2000; ESTRELA⁵⁷, 2001).

Esta análise permite a detecção de elétrons emitidos da superfície de uma amostra (elétrons de menor energia ou secundários) e de superfícies mais profundas, com a detecção dos elétrons de maior energia (elétrons retro-espalhados). Empregamos neste estudo a análise através de elétrons secundários, ou seja, de menor energia que são emitidos pelas camadas atômicas superficiais do espécime e permitiram a análise da topografia do substrato dental com boa definição (KITAJIMA & LEITE^{90,91}, 1999). A análise através dos elétrons-retroespalhados é empregada em estudos de nanoinfiltração, analisando a diferença do peso atômico da prata sobre as interfaces de adesão (SANO et al.¹⁶⁸, 1995).

Para possibilitar este estudo, os espécimes foram submetidos ao preparo que incluiu fixação, para permitir a manutenção da estrutura biológica intacta, desidratação, secagem, colagem em suporte metálico (*stub*) e metalização com ouro para tornar a superfície condutora de elétrons (PERDIGÃO et al.¹⁴⁰, 1995; CARVALHO et al.³¹, 1996; KITAJIMA & LEITE^{90,91}, 1999; VAN MEERBEEK et al.²²², 2000).

O preparo das amostras é indubitavelmente a parte mais importante para a microscopia, sendo esta etapa do experimento bastante complexa e meticulosa, além de depender da natureza do material. Os espécimes empregados neste estudo, por serem provenientes de material biológico e por haver a necessidade de observar com detalhes sua morfologia após o condicionamento e hibridização dentinária, necessitaram de um preparo adequado para cada situação em estudo.

Para a análise da hibridização realizamos o desafio químico ácido-base da interface de união no preparo destas amostras, como método para quantificar e qualificar esta hibridização frente à

aplicação de ácido clorídrico, seguido da aplicação de hipoclorito de sódio, além de revelar características morfológicas dos *tags* e da própria camada híbrida, assim como realizado nos estudos de Nakabayashi et al.¹¹⁶ (1982), Wang & Nakabayashi²²⁸ (1991), Nakabayashi & Takarada¹¹⁴ (1992), Nakabayashi¹¹¹ (1992), Perdigão et al.^{139,144} (1994 e 2000), Perdigão¹³⁴ (1995), Tay et al.¹⁹⁵ (1995), Yoshiyama et al.²³⁷ (1995), Kato & Nakabayashi⁸⁹ (1996), Ribeiro et al.¹⁶² (1999), Sakoolnamarka et al.¹⁶⁶ (2003) e Giachetti et al.⁷⁰ (2004).

As amostras que apresentam a formação de camada híbrida após este desafio químico revelam a formação de uma estrutura estável e de alta qualidade (NAKABAYASHI & TAKARADA¹¹⁴, 1992; SWIFT JUNIOR et al.¹⁷⁸, 1995; KATO & NAKABAYASHI⁸⁹, 1996; NAKABAYASHI & SAIMI¹¹³, 1996; PERDIGÃO et al.¹⁴², 1996; PHRUKKANON et al.¹⁴⁷, 1999). Segundo Perdigão et al.¹³⁹ (1994), o desafio do preparo da amostra para microscopia de varredura é uma forma considerável de expor resultados relevantes da qualidade da união entre o substrato dental, os sistemas adesivos e a resina composta.

Para o estudo em questão isso representa um dado extremamente relevante, pois atesta que a modificação pelo procedimento Grandeur não desqualificou os sistemas adesivos. Nenhuma das amostras foi perdida ou destacada frente aos desafios técnicos para o exame em MEV.

Outra possibilidade de revelar a superfície da interface adesiva seria o emprego de íon argônio para promover a remoção seletiva de átomos do substrato descrita por Inokoshi et al.⁷⁵ (1999), que promove uma superfície limpa e sem debris (VAN MEERBEEK et al.^{202,203}, 1992 e 1993). Esta técnica pode sugerir que a interdifusão dos monômeros não ocorreu de forma uniforme, pois a resistência inconstante da hibridização ao íon, gera calor durante o condicionamento, tornando difícil distinguir detalhes originais dos artefatos decorrentes da técnica, a qual não é conclusiva sobre a saturação de monômeros na rede de fibras colágenas

expostas, embora possa promover informações acuradas da profundidade de desmineralização (VAN MEERBEEK et al.²²², 2000).

As amostras foram obtidas a partir de hemi-seções das coroas, conforme visto na Figura 9, descartando a opção de fraturar o espécime, pois poderiam-se gerar *microgaps* ao longo da interface devido à carga imposta durante a fratura, gerando um resultado falso-negativo da efetividade da hibridização (PERDIGÃO & SWIFT JUNIOR¹³⁵, 1994; VAN MEERBEEK et al.²²², 2000).

Como o MEV opera em alto vácuo podem surgir fendas e artefatos se a amostra não for corretamente processada (WANG & NAKABAYASHI²²⁸, 1991; PERDIGÃO et al.¹³⁹, 1994; SANO et al.¹⁶⁸, 1995; CARVALHO et al.³¹, 1996; KITAJIMA & LEITE^{90,91}, 1999; VAN MEERBEEK et al.²²², 2000).

A fixação é o processo pelo qual se mantém inertes as moléculas que compõem a amostra preservando sua estrutura de eventuais deformações provocadas pelas etapas subseqüentes. Neste experimento optamos pelo uso do fixador *Karnovsky* modificado que é composto por glutaraldeído 2,5%, formaldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,05M, pH 7,2, CaCl₂ 0,001M (PERDIGÃO & SWIFT JUNIOR¹³⁵, 1994; KITAJIMA & LEITE⁹⁰, 1999; VAN MEERBEEK et al.²²², 2000). Este fixador combina a rapidez com que o formol penetra matando a célula rapidamente, com a capacidade do glutaraldeído em preservar a estrutura da célula, formando pontes entre as moléculas graças aos dois grupamentos aldeídicos nas extremidades, criando assim uma trama tridimensional. Esta é a fase mais crítica de todo o processo, pois é responsável pela manutenção ultra-estrutural da amostra, conferindo-lhe a aparência mais próxima ao seu estado *in vivo*.

A presença da água no interior das amostras impede a perfeita visualização das mesmas prejudicando a condução dos elétrons, além de danificar o microscópio eletrônico. Uma vez que este opera em alto vácuo, a volatilização da água em seu interior e a conseqüente

liberação de gases oxigênio e hidrogênio, provoca a colisão dos elétrons (que são dotados de massa) com partículas de ar, danificando o filamento onde os elétrons são produzidos. Neste sentido, a desidratação das amostras torna-se fundamental, sendo realizada com álcool ou acetona de maneira lenta e gradual. Assim, utilizou-se nesse estudo a desidratação em soluções ascendentes de etanol, uma vez que as deformações decorrentes da alteração da tensão superficial, representaram os maiores obstáculos a serem vencidos no preparo das amostras biológicas, pois poderiam gerar distorções, se estas amostras ficassem expostas ao ar, semelhante ao que ocorre a uma uva, quando esta é processada para tornar-se uma uva passa ou às rachaduras de um galho seco (GABRIEL⁶⁶, 1985; PERDIGÃO & SWIFT JUNIOR¹³⁵, 1994; PERDIGÃO et al.^{139,140}, 1994 e 1995); KITAJIMA & LEITE⁹⁰, 1999; VAN MEERBEEK et al.²²², 2000).

A zona de hibridização ou camada híbrida está intimamente relacionada com a dentina que é um substrato úmido. Para sua correta observação houve a necessidade da adoção de um método de secagem das amostras, com a finalidade de se obter o vácuo dentro do MEV. Existem alguns métodos para a secagem das amostras que optamos por não utilizar devido a alguns inconvenientes como: *freeze drying* (tempo, alto custo); secagem ao ponto crítico (tempo e acompanhamento constante, fissuras na JAC, contração volumétrica) e Peldri II (tempo). Em nosso estudo, optamos pelo emprego do HMDS (hexametildisilazane) na secagem, onde a amostra é mantida por 10 a 15min imersa, em seguida é colocada sobre um filtro de papel, em capela e o operador deve estar protegido com luvas e máscara devido à alta toxicidade do produto. Selecionou-se esta técnica por ser de fácil execução, demandar um tempo reduzido e ser a mais eficiente dentre as técnicas até então utilizadas, já que é comprovada sua ação redutora na contração do substrato durante a secagem, preservando, desta forma, a malha colágena e microporosidade da dentina desmineralizada

(PERDIGÃO & SWIFT JUNIOR¹³⁵, 1994; PERDIGÃO et al.^{139,140}, 1994 e 1995; YOSHIYAMA et al.²³⁷, 1995; CARVALHO et al.³¹, 1996; NAKABAYASHI & PASHLEY¹¹², 1998; KITAJIMA & LEITE⁹⁰, 1999; VAN MEERBEEK et al.²²², 2000).

Após as amostras serem montadas em suportes metálicos denominados *stubs*, com o auxílio de uma fita adesiva, procedeu-se o último passo no preparo das amostras, o qual consiste em tornar sua superfície condutora de elétrons. Para tanto, foram cobertos por uma camada de 15 a 20nm de material condutor (ouro, ouro-paládio ou platina) através da metalização ou *sputtering*. Realizou-se metalização com ouro, para tornar o substrato bom condutor, favorecendo a dissipação dos elétrons e evitando o *charging*, que distorce a imagem e impede altas resoluções.

Para possibilitar a utilização da MEV que é, provavelmente, uma das técnicas microscópicas mais empregadas nos estudos dos materiais odontológicos, tornou-se necessário conhecer a técnica de realização e limitações deste recurso para analisar corretamente os dados obtidos, de acordo com muitos estudos revisados (PERDIGÃO et al.¹⁴⁰, 1995; CARVALHO et al.^{31,32}, 1996; VAN MEERBEEK et al.^{221,222}, 1996 e 2000).

Existem outras possibilidades de análise da ultra-estrutura da zona de hibridização, a MET e a MEV-EC (microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo), e ainda, a MEC-ECI - emissão de campo em lentes objetivas (PERDIGÃO et al.^{140,141,143}, 1995, 1996 e 1999; VAN MEERBEEK et al.²²², 2000; BRESCHI et al.²¹, 2003). A tecnologia de MEV-EC utiliza-se de um canhão de emissão de elétrons de alta densidade, permitindo a redução do diâmetro do feixe, alcançando resoluções de 10Å contra 50 a 100Å proporcionado pela MEV convencional. Entretanto, é um equipamento extremamente sensível, com custo aproximadamente três vezes maior do que o MEV empregado neste estudo. A MEV-ECI, equipamento utilizado por Breschi et al.²¹ (2003),

associa a tecnologia do MEV-EC a um equipamento que permite o posicionamento da amostra logo abaixo da lente objetiva com a diminuição da velocidade de aceleração (2 a 6 Kv, contra 15 a 25 Kv para a análise da camada híbrida no MEV convencional) e redução da possibilidade de danificar a amostra.

A maior dificuldade observada no emprego das técnicas mais modernas para revelar a ultra-estrutura da união entre sistema adesivo e substrato é a disponibilidade e o acesso a estes equipamentos. Este experimento tornou-se possível graças à iniciativa de desmistificar e democratizar o emprego da MEV nas pesquisas de diferentes áreas, do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia, atualmente coordenado pelo Prof. Dr. Elliot W. Kitajima (KITAJIMA & LEITE^{90,91}, 1999).

A obtenção das eletromicrografias foi padronizada em aumentos de 1.000X, 5.000X e 10.000X. Os menores aumentos foram empregados por possibilitar uma visão panorâmica da interface entre sistema adesivo e dentina; os aumentos de 5.000 e 10.000X e, eventualmente outros maiores foram utilizados para evidenciar e enriquecer detalhes da ultra-estrutura da zona de hibridização, assim como observado na literatura (PRATI et al.¹⁵¹, 1999; NAKAJIMA et al.^{119,120,121} 2000 e 2002; SAKOOLNAMARKA et al.¹⁶⁶2003).

As amostras foram mensuradas em quatro regiões distintas com o intuito de minimizar a variação intra-espécime, com a mesma preocupação descrita por Carvalho et al.³¹1996) que realizaram três medidas em cada amostra.

6.3.5 Sistemas adesivos

A dentina mineralizada intacta não permite a difusão adequada de monômeros, portanto, deve ser preparada para permitir aos monômeros difundirem-se entre as fibras colágenas. Após a realização do preparo cavitário permanece sobre a dentina uma estrutura amorfa, denominada *smear layer*, composta de resíduos de dentina com fibras colágenas e traços minerais, saliva e óleo, decorrentes da ação de instrumentos rotatórios e, até mesmo, de bactérias que existam sobre a dentina (TRONSTAD²¹², 1973; GWINNETT⁷⁴, 1984; PASHLEY¹²⁷, 1984; PASHLEY et al.^{130,133}, 1988, 2000; VAN MEERBEEK et al.²¹⁵, 1992).

Muitos autores acreditavam que a permanência da *smear layer*, resultante do preparo cavitário, sobre a dentina, poderia prevenir a penetração de monômeros no substrato dentinário, evitando efeitos adversos à polpa dental, constituindo-se em uma barreira natural à penetração de microorganismos, reduzindo a umidade e a permeabilidade da dentina (GARBEROGLIO & BRANNSTROM⁶⁷, 1976; PASHLEY¹²⁷, 1984; PASHLEY et al.¹³⁰, 1988; RETIEF et al.¹⁵⁰, 1988; TAO & PASHLEY^{187,188}, 1989; NAKABAYASHI et al.¹¹⁷, 1991). Estudos posteriores confirmaram a ação maléfica da *smear layer* na obtenção de uma adequada efetividade adesiva, afirmando que esta diminui a energia de superfície da dentina, reduzindo a reatividade superficial; exibe baixos valores de resistência adesiva, tornando os sistemas que a ela se ligam mais vulneráveis à microinfiltração; desnatura com o tempo e pode apresentar microorganismos viáveis em seu interior, constituindo-se em fonte constante de risco de irritação pulpar. Portanto, sua remoção poderá proporcionar um substrato fisicamente forte e quimicamente oportuno aos propósitos adesivos (FUSAYAMA et al.⁶⁴, 1979; NAKABAYASHI et al.¹¹⁷, 1991; RUSE & SMITH¹⁶⁵, 1991; NAKABAYASHI & TAKARADA¹¹⁴, 1992; PASHLEY et al.¹³¹, 1993; PERDIGÃO et al.¹³⁹, 1994; VAN MEERBEEK et

al.²²⁰, 1994; WALSHAW & Mc COMB²²⁷, 1994; PERDIGÃO et al.¹⁴², 1996; GONÇALVES et al.⁷², 1999; RAUSCHER¹⁵³, 2003; ANIDO⁶, 2005).

Atualmente, o tratamento da *smear layer* resulta em modificações ou em sua completa remoção e na desmineralização da superfície de dentina subjacente. A alteração desta estrutura varia de acordo com a concentração do componente ácido, da estratégia de adesão (convencional ou autocondicionante), das características de viscosidade e molhabilidade do *primer*, do coeficiente de difusão, seu pH e pKa, tempo de aplicação do agente ácido, do tipo de solvente contido no *primer* (água, acetona, etanol) e da densidade e vedamento da *smear layer* (PASHLEY et al.¹³¹, 1992; TAY et al.^{191,192}, 1996; PASHLEY & CARVALHO¹³⁰, 1997; PERDIGÃO et al.^{143,144}, 1999 e 2000; ITOU et al.⁸⁴, 2001; VAN MEERBEEK et al.²²³, 2001; REIS et al.¹⁵⁵, 2001; BRESCHI et al.^{21,22}, 2003).

O uso de ácidos para remover a *smear layer* desmineraliza a dentina intacta subjacente, expondo a matriz colágena. Portanto, o substrato adesivo é a dentina desmineralizada rica em fibras colágenas expostas. Com a remoção da fase mineral são formadas porosidades e a oportunidade para a adesão química, através dos íons cálcio e fosfato, está afastada, restando o colágeno que possui baixa reatividade química. Portanto, a maior parte da retenção entre adesivo e dentina resulta do entrelaçamento molecular da cadeia polimérica com as fibras colágenas. Este fenômeno foi denominado hibridização, sendo responsável pelo êxito da adesão até hoje (NAKABAYASHI et al.¹¹⁶, 1982; NAKABAYASHI et al.¹¹⁴, 1992; VAN MEERBEEK et al.²¹⁹, 1994; SWIFT JUNIOR et al.¹⁷⁸, 1995; NAKABAYASHI & PASHLEY¹¹², 1998; PERDIGÃO et al.^{143,144}, 1999 e 2000; YAMAMOTO et al.²³⁵, 2000).

Outros estudos têm aventado a hipótese de haver uma reação química e talvez mecânica na base da zona desmineralizada, uma região rica em cálcio, por meio da qual seriam formados complexos responsáveis por uma união mais duradoura em longo prazo (PERDIGÃO

& SWIFT JUNIOR¹³⁵, 1994; VARGAS et al.²²⁵, 1997; ANDIA-MERLIN et al.⁴, 2001; TORRES et al.²¹¹, 2004).

Outros ainda acreditam, que a malha colágena não seja, efetivamente, a responsável pelos elevados valores de resistência adesiva e longevidade dos sistemas adesivos que se utilizam do condicionamento ácido para a remoção da *smear layer*, e propõem, que a malha seja removida com hipoclorito de sódio. Tal remoção exporia uma dentina mineralizada e com poros à semelhança de um esmalte condicionado, sendo chamada por alguns de camada híbrida reversa. Porém, as respostas ainda são inconsistentes para uma indicação de substituição do método atual.

As fibras colágenas da matriz intertubular e peritubular estão separadas por espaços de aproximadamente 15 a 20nm de largura, ocupados por água após o condicionamento, por onde os monômeros deverão difundir-se e infiltrar-se na dentina desmineralizada (PASHLEY et al.^{134,135}, 1993 e 2000; CARVALHO et al.³², 1996). Os túbulos dentinários também serão infiltrados por monômeros resinosos, formando prolongamentos de resina na dentina intratubular (NAKABAYASHI et al.¹¹⁵, 1992; EICK et al.⁵³, 1993; VAN MEERBEEK et al.^{216,217,220}, 1992, 1993, 1994²⁰⁶; PERGIGÃO et al.^{138,139,142,144}, 1993, 1994, 1996, 2000).

Estes prolongamentos, conhecidos como *tags* resinosos, podem estar interconectados pela penetração de monômeros nos canalículos dentinários que comunicam os túbulos entre si, através da dentina intertubular, como observados na Figura 33-A. Portanto, a dentina intertubular e a peritubular determinam a permeabilidade dentinária (NAKABAYASHI & PASHLEY¹¹², 1998).

A formação da camada híbrida foi observada em todos os espécimes do presente estudo, para os dois tipos de sistemas adesivos empregados, e para os dois tipos de procedimento (Normal ou Grandeur), bem como a formação dos *tags* e *microtags* como projeções laterais,

conforme literatura, tanto no substrato humano como no bovino, como pode ser observado nas Figuras 21 a 36.

Até 1982, atribuía-se o principal mecanismo de retenção e selamento das restaurações de resina à formação dos prolongamentos resinosos dentro dos túbulos dentinários (NORDENVALL¹²³, 1978; YOUNGSON & GREY²³⁹, 1992; FERRARI & DAVIDSON⁵⁹, 1996). Em 1992, McCabe & Rusby¹⁰⁰ constataram que a penetração do adesivo no interior dos túbulos abertos pelo condicionamento não constituía pré-requisito para a efetiva união.

Outros autores observaram que a qualidade da dentina impregnada mostrou ser o fator mais importante na obtenção de resistência adesiva ao contrário do que se acreditava ser responsabilidade da espessura da hibridização (NAKABAYASHI & TAKARADA¹¹⁴, 1992; BURROW et al.²⁷, 1994; SANO et al.¹⁶⁷, 1994; PHRUKKANON et al.¹⁴⁸, 2000). Em acordo com esta afirmativa, segundo Prati et al.¹⁵⁰ (1998) a resistência adesiva e a habilidade de selamento conferida pelos sistemas adesivos, parecia não estar relacionada com a espessura da camada híbrida, mas sim correlacionada à localização e à qualidade da dentina. Por esta razão a morfologia do *tag* e dos *microtags* e a qualidade da camada híbrida desempenhariam uma maior importância clínica.

No entanto, ao avaliarem a nanodureza e módulo de elasticidade da dentina, resina composta e camada híbrida, Van Meerbeek et al.²¹⁸ (1993) observaram que a camada híbrida é mais elástica que a dentina íntegra e a resina composta. Logo, quanto mais espessa a camada híbrida, maior a capacidade de aliviar as tensões de contração.

Percebemos assim a importância dos resultados obtidos com o método Grandeur que gerou maior espessura de hibridização para os dois tipos de sistema adesivo, independente do substrato utilizado, conforme Tabelas 17, 18 e 20. Essa maior espessura poderá contribuir

não somente para o alívio imediato das tensões de contração, como também das tensões geradas pelo estresse oclusal longitudinal, proporcionando aumento da longevidade da restauração.

A formação da camada híbrida ou hibridização altera completamente as propriedades físico-químicas do substrato dentinário. Sua correta formação está relacionada a muitos fatores como: a) permeabilidade dentinária; b) agentes condicionadores; c) tempo de condicionamento; d) qualidade da dentina; e) umidade; f) tipo de sistema adesivo; g) difusividade dos monômeros; h) profundidade de polimerização; i) características estruturais da rede de fibras colágenas (EICK et al.^{50,51,52,53,54}, 1970, 1991, 1992, 1993 e 1997; PASHLEY¹²⁹, 1984; PASHLEY et al.^{131,133,134,135}, 1992, 1993 e 2000; BURROW et al.²⁷, 1994; PERDIGÃO et al.¹³⁹, 1994; NAKABAYASHI & PASHLEY¹¹², 1998).

Quando a rede de colágeno, anteriormente suportada pela água, é seca com ar, a quantidade de água diminui e as fibras passam a se aproximar, resultando em um colapso passivo do colágeno, cujas fibras desmoronam formando uma estrutura semelhante a uma porção de espaguete cozido (NAKABAYASHI & PASHLEY¹¹², 1998). Outro possível mecanismo que resulta no colapso da malha colágena pode ser explicado pelo encurtamento das fibrilas colágenas que desenvolvem uma força, quando a água evapora, resultando em uma pressão sobre a malha colágena subjacente e seu desmoronamento (CARVALHO et al.³², 1996). Persistindo a secagem, as moléculas de colágeno aproximam-se, formando pontes de hidrogênio que nem sempre são rompidas (NAKABAYASHI & PASHLEY¹¹², 1998). Este fenômeno resulta em uma zona de hibridização mal formada, fora dos padrões ditados pela técnica de adesão úmida (KANCA III⁸⁷, 1992; CARVALHO et al.³⁴, 1999; NAKAJIMA et al.¹²⁰, 2000). O espaço entre as fibras é essencial para a infiltração adequada dos monômeros e, conseqüente,

formação de uma camada híbrida de alta qualidade (PASHLEY et al.¹³⁴, 1993).

Estes fatos podem ser revertidos se, a água ou um *primer* aquoso for aplicado sobre a dentina, devolvendo plasticidade às fibrilas. As moléculas de água formam pontes de hidrogênio com os peptídeos colágenos, quebrando as pontes de hidrogênio intermoleculares, permitindo a reexpansão do colágeno (NAKABAYASHI & TAKARADA¹¹⁴, 1992; NAKABAYASHI & PASHLEY¹¹², 1998). Outros autores afirmam que os *primers* solúveis em água permitem um maior reumedecimento das fibras colágenas colapsadas, reexpansão da dentina desmineralizada e redução do risco de uma hibridização incompleta (TAY et al.¹⁹³ 1998; NAKAJIMA et al.¹²¹, 2002).

Novamente vislumbra-se uma perspectiva positiva com o emprego do método Grander, que com a redução da tensão superficial dos sistemas adesivos, principalmente à base de água, promoveu maior difusibilidade do mesmo através da malha colágena, molhando-a e impregnando-a com maior eficácia, o que sugere a comparação das imagens da camada híbrida entre o procedimento Normal e Grander modificado (Figuras 29 a 36). A maior espessura da camada híbrida para os sistemas adesivos Grander modificados corroboram com as observações de maior molhabilidade.

Entretanto, se houver água em excesso, a substituição desta quantidade excessiva de água por solvente não se completa e, conseqüentemente, os monômeros resinosos não serão carregados por entre as fibras colágenas, deixando espaços vazios (TAY et al.¹⁹², 1996; CARVALHO et al.³⁴, 1999). Clinicamente, este fenômeno representa extrema importância desde que estes espaços vazios possibilitariam uma via para movimentação hidrodinâmica de fluidos, resultando em sensibilidade pós-operatória, além de desencadear uma degradação hidrolítica na interface adesiva em longo prazo (PASHLEY et al.¹²⁹, 1992;

SANO et al.¹⁶⁷, 1994; TAY et al.^{191,192}, 1996; FRANKENBERGER et al.⁶⁵, 2000; PERDIGÃO et al.¹³⁷, 2003).

Nesse estudo, o cuidado na manutenção da integridade do colágeno pôde ser constatado nas Figuras 25 a 36, com a formação de uma nítida camada híbrida para ambos substratos, sistemas adesivos e procedimentos Normal ou Grandeur.

O problema dos sistemas adesivos convencionais é a sensibilidade à técnica e protocolo de utilização, devido ao número elevado de passos e caráter subjetivo na obtenção da umidade dentinária, aumentando a possibilidade de ocorrer uma interação ineficiente com o substrato dental, conforme observado na Figura 29-B e por outros autores (NAKABAYASHI & PASHLEY¹¹², 1998; SANO et al.¹⁶⁹, 1999; HUHTALA et al.⁸⁰, 2000; REIS et al.¹⁵⁵, 2001; CARVALHO et al.³⁵, 2003; VAN MEERBEEK et al.²²⁴, 2005).

O condicionador ácido é aplicado no esmalte e dentina, que possuem características diversas, além de variar de acordo com a localização e profundidade. Este condicionador deve ser lavado com água e seco com ar, em diferentes intensidades em esmalte e dentina, que deve ser mantida relativamente úmida. Quanto à adesão úmida, é muito difícil quantificar a umidade em dentina uma vez que já existe a umidade intrínseca que varia de acordo com a região e o remanescente. Quanto mais profunda a cavidade, maior a permeabilidade e a umidade, variando de 1% em cavidades rasas até 22% em cavidades profundas (NAKABAYASHI & PASHLEY¹¹², 1998; PRATI et al.¹⁵¹, 1999). Resíduos de condicionador podem sobre-condicionar a dentina além de obstruir os espaços entre as fibras colágenas impedindo a correta infiltração e polimerização dos monômeros (PASHLEY et al.¹²⁹, 1992; PERDIGÃO et al.^{138,139}, 1993 e 1996; NAKABAYASHI & PASHLEY¹¹², 1998).

O emprego de *primers* solúveis em água contendo HEMA é uma estratégia para a obtenção de uma camada híbrida em dentina úmida. Após a aplicação da mistura, a superfície é seca ao ar para

evaporar a água, a concentração de HEMA aumenta e a concentração de água diminui. Quando a concentração de água cai a zero, 100% de HEMA recobre a superfície da dentina desmineralizada. Isso pode ser explicado pela pressão de vapor maior que a água apresenta em relação ao HEMA, sendo que na pressão atmosférica pode ser considerado como não volátil, ficando na superfície à medida que o solvente evapora (CARVALHO et al.^{34,35}, 1999 e 2003; PASHLEY et al.¹³⁵, 2000).

Nakabayahi & Takarada¹¹⁴ (1992), Pashley et al.¹³⁵ (2000) e Tay et al.¹⁹³ (1998) observaram que a aplicação do HEMA aumenta a difusão de monômeros e a união aos componentes dentinários, facilitando a formação da hibridização. Entretanto, segundo Perdigão et al.¹⁴³ (1999) e Van Meerbeek et al.²²⁴ (2005) existe a necessidade de maiores estudos acerca do comportamento em longo prazo do HEMA, pois a permanência de monômeros residuais que não reagiram dentro da camada híbrida poderia exercer um efeito plastificador, alterando as propriedades mecânicas das resinas polimerizadas. Além disso, por seu baixo peso molecular, o HEMA difunde-se fácil e rapidamente podendo ser responsável pela exacerbação da resposta inflamatória pulpar (GONÇALVES⁷¹ 1997).

O uso de sistemas adesivos compostos de monômeros dissolvidos em acetona, etanol e água são importantes para a formação da hibridização, porque uma vez que os solventes evaporam-se, ocorre uma substituição dos espaços ocupados pela água por monômeros resinosos. Os sistemas compostos por HEMA associado à água beneficiam-se da adesão úmida, assim, a matriz dentinária desmineralizada permanece expandida e não colapsada (NAKABAYASHI & PASHLEY¹¹², 1998). Segundo Perdigão et al.¹⁴³ (1999), embora a quantidade de água disponível na formulação do *Adper Single Bond* possa não ser suficiente para compensar o colapso das fibras colágenas após a secagem, Yamamoto et al.²³⁵ (2000) observaram a formação de

uma hibridização estável com infiltração suficiente de monômeros na superfície desmineralizada com este adesivo.

Desta forma, optamos pela utilização, para realização deste estudo, do sistema adesivo convencional *Adper Single Bond* que possui como solvente água e etanol em sua composição, devido ao fato de empregarmos a técnica de adesão úmida e o sistema autocondicionante *Clearfil SE Bond*, que também possui água e etanol na composição do *primer* ácido. Além disso, segundo Carvalho³⁵ (2003) os adesivos baseados em água como solventes são menos sensíveis à técnica quando comparados aos com acetona em sua fórmula, devido a menor variabilidade em resultados de resistência adesiva com estes adesivos.

Pelo fato desse estudo constituir-se em um estudo inédito quanto à utilização do sistema Grandeur para fins de modificação de sistemas adesivos, muitas questões ainda necessitarão de estudos complementares para encontrar-se as respostas. Uma delas é exatamente sobre o solvente. Haverá alguma modificação da capacidade de evaporação do etanol presente no *Adper Single Bond* e no *primer e bond* do CS ? O que poderá ocorrer frente aos sistemas adesivos que apresentam acetona como solvente ?

Acredita-se com isso que uma nova linha de pesquisa surgiu para a busca das respostas a essas e a muitas outras questões que ainda surgirão no decorrer dessa discussão.

Assim, clinicamente é importante conhecer o tipo de solvente e a composição do sistema adesivo, para que se mantenham características particulares no controle da umidade para sua efetividade, além de permitir que haja completa evaporação do solvente. Com o emprego de monômeros dissolvidos em água e etanol, uma superfície com baixa umidade é requerida, portanto, a secagem com filtro de papel é um método eficaz de executar este controle como ocorre com o *Adper Single Bond* (Nakabayashi & Pashley¹¹², 1998). Nos sistemas que

apresentam a água como solvente, a manutenção do substrato ligeiramente úmido pode representar uma barreira para a completa hibridização uma vez que os monômeros podem ser diluídos ou pode ocorrer o acúmulo de água e a formação de bolhas no interior do adesivo. Assim, a dentina deve estar ligeiramente seca, para o correto desempenho destes sistemas (TAY et al.¹⁹³, 1998).

Existe ainda o fator tempo, o qual está relacionado com uma difusão dos monômeros mais eficiente e profunda segundo uma exposição de tempo suficiente (NAKABAYASHI & SAIMI¹¹³, 1996; TAY et al.^{189,192,194}, 1996, 2001 e 2003). Deve-se também permitir que ocorra a evaporação do solvente para que sua concentração final na interface adesiva seja a menor possível, garantindo maior longevidade à interface de união.

Sempre que ácidos fortes são empregados para remover a *smear layer* e desmineralizar a superfície de dentina surge o risco de que os monômeros adesivos aplicados subsequente, possam não penetrar completamente na dentina na mesma profundidade da desmineralização. Desta forma, fibras colágenas permanecem expostas e susceptíveis à hidrólise com o passar do tempo, passíveis de permitir a infiltração de partículas nanométricas, conhecida como nanoinfiltração, ao longo da base de uma camada híbrida incompleta, caracterizando uma zona de fragilidade (PASHLEY et al.¹³¹, 1992; WATANABE et al.²³¹, 1994; KATO & NAKABAYASHI^{88,89}, 1995 e 1996; PERDIGÃO¹³⁴, 1995; SANO et al.¹⁶⁸, 1995; TAY et al.¹⁹³⁻¹⁹⁴, 1996; TORRES et al.²¹¹, 2004).

Anido⁶ (2005) observou também um maior poder de penetração para os sistemas adesivos convencionais, pelo fato do condicionamento ser mais agressivo e comprovou a ocorrência da zona de fragilidade. As amostras submetidas ao condicionamento com ácido fosfórico apresentaram uma desmineralização da ordem de 4,62µm (±1,14) para dentes humanos e de 4,92µm (±1,12) para dentes bovinos, semelhantes entre si, enquanto a espessura de hibridização com o

sistema adesivo convencional resultou em valores de $3,43\mu\text{m}$ ($\pm 1,13$) para humanos e $4,31\mu\text{m}$ ($\pm 1,28$) para bovinos, semelhantes entre si e diferentes quando comparados aos valores de desmineralização, que foram levemente superiores aos valores da hibridização. O inverso foi observado para o sistema autocondicionante que exibiu valores de desmineralização, para humanos e bovinos ($1,41\mu\text{m} \pm 0,20$ / $1,57\mu\text{m} \pm 0,16$) ligeiramente menores do que a hibridização para os dois substratos ($1,53\mu\text{m} \pm 0,11$ / $1,97\mu\text{m} \pm 0,16$).

O condicionamento da dentina produz um encolhimento da matriz dentinária da ordem de $0,3$ a $0,5\mu\text{m}$, mesmo em presença de umidade (NAKABAYASHI & PASHLEY¹¹³, 1998). Considerando-se que o preparo para MEV produz uma contração da amostra (CARVALHO et al.^{31,32}, 1996), vale salientar-se que as diferenças existentes entre a profundidade de desmineralização e a hibridização, já observada para o sistema adesivo convencional, seriam ainda maiores. Em contraposição, a maior hibridização do sistema adesivo autocondicionante em relação a desmineralização produzida pelo *primer*, provavelmente, não exista quando descontada a contração produzida pela técnica de preparo das amostras.

A partir de 1990, foram desenvolvidos sistemas adesivos que se destinavam à aplicação sobre a *smear layer* e ao esmalte preparado, com o intuito de melhorar a durabilidade da adesão à dentina, impedir seu colapso e simplificar o número de passos clínicos (WATANABE & NAKABAYASHI²³⁰, 1993). Até então, a adesão à dentina coberta por *smear layer* não tinha obtido sucesso porque as resinas não penetravam nesta estrutura (TAO & PASHLEY¹⁸⁷, 1989). A partir de então, foi desenvolvido um novo sistema adesivo composto de uma solução aquosa de Phenil-P (20%) em HEMA (30%) para adesão em esmalte e dentina preparados (WANG & NAKABAYASHI²²⁸, 1991; WATANABE et al.^{230,231}, 1993 e 1994). Este sistema autocondicionante proporcionou uma abordagem nova quanto ao tratamento da *smear layer*

e quanto à estratégia de adesão ao substrato dental (WATANABE & NAKABAYASHI²³⁰, 1993; WATANABE et al.²³¹, 1994; NAKABAYASHI & SAIMI¹¹³, 1996). Assim, duas estratégias distintas de adesão podem ser descritas de acordo com os sistemas que optou-se utilizar. A primeira para o sistema adesivo convencional *SB*, que requer o condicionamento total do substrato através da aplicação de ácido fosfórico a 35% por 15s, seguido de lavagem e aplicação do adesivo. Em sua composição química, este adesivo inclui água e álcool, HEMA, BisGMA, dimetacrilatos, sistema fotoiniciador e copolímeros dos ácidos poliacrílico e poli-itacônico. A segunda estratégia para o sistema autocondicionante *CS Bond*, o qual possui um *primer* com efeito condicionador ao ser aplicado por 20s e imediatamente fotopolimerizado, cuja composição apresenta também água e álcool (N,N dietanol-p-toluidina) como solventes além de fosfato biacidometacrilóiloxidecil 10 (MDP), HEMA, dimetacrilato hidrófilo, alcanforquinona dl.

Os sistemas adesivos autocondicionantes atuais são desenvolvidos para usar sobre a *smear layer*, incluem um elemento ácido em sua composição e demonstram que é possível, sob condições favoráveis, infiltrar resinas adesivas levemente ácidas no interior da *smear layer* e na matriz de dentina abaixo dela (GARCIA et al.⁶⁸, 2003). Eles promovem uma camada de hibridização contendo em sua porção superior uma zona com *smear layer* e na sua porção inferior uma zona contendo dentina desmineralizada infiltrada por resina. A *smear layer* é desmineralizada, desnaturada e colapsada de tal forma, que muitas vezes, não pode ser reconhecida microscopicamente. Esta infiltração de resina na *smear layer* transforma-a, de uma estrutura sensível ao ácido, em uma nova estrutura ácido-resistente.

As vantagens dos sistemas autocondicionantes são: a simplicidade da técnica de execução, a virtual capacidade de hibridizar a dentina na mesma proporção da desmineralização causada por um *primer* que associa o agente condicionador, reduzindo a concentração ácida e

tempo de aplicação (PASHLEY et al.¹³¹, 1992). Estes sistemas apresentam um protocolo simplificado, eliminando a sensibilidade à técnica devido ao maior número de passos do sistema adesivo com condicionamento ácido total. Em contraposição, devem ser capazes de ultrapassar a *smear layer* e condicionar a dentina intacta, para proporcionar resistência adesiva e durabilidade desta união (NAKABAYASHI & PASHLEY¹¹², 1998).

Segundo Yoshiyama et al.²³⁸ (1996), se o preparo cavitário resultar em uma *smear layer* de 1,5 μ m, o comonômero ácido poderia alcançar 0,5 μ m da dentina intacta subjacente sendo que o ideal seria que esta dentina fosse hibridizada em 1,0 μ m de profundidade para fornecer resistência adesiva suficiente, mesmo que a adesão à *smear layer* fracassasse (NAKABAYASHI & PASHLEY¹¹², 1998). No estudo de Anido⁶ (2005), o CS *Bond* hibridizou uma *espessura* média de 1,41 μ m no substrato humano, enquanto em substrato bovino a média foi de 1,57 μ m. Nesse estudo, o CS Normal hibridizou uma média de 1,53 μ m para o substrato humano e 1,98 μ m para o bovino, enquanto que o CS Grander modificado obteve valores de média de hibridização de 2,20 μ m para o substrato humano e 2,35 μ m para o bovino, superando significativamente os valores do grupo Normal

Ao longo de sua evolução, foram realizadas modificações na composição dos adesivos, tornando-os altamente hidrófilos. O objetivo de tornar estes materiais compatíveis com um substrato úmido, ao mesmo tempo transformou-se em um fator limitante da durabilidade de união com a dentina, por torná-los propensos à degradação hidrolítica em longo prazo (SANO et al.¹⁶⁹, 1999; HASHIMOTO et al.⁷⁸, 2001; CARVALHO et al.³⁵, 2003; TAY & PASHLEY¹⁹⁰, 2003; CARRILHO et al.³⁰, 2004). Esta degradação possivelmente é decorrente da sorção de água e dissolução da resina incompletamente polimerizada, da presença de componentes hidrofílicos (HEMA), que resulta na deterioração da interface de união em

local e mecanismos ainda não totalmente desvendados. Em especial, os adesivos autocondicionantes por suas características hidrofílicas constituem-se em uma membrana permeável à água, comprometendo sua durabilidade e capacidade de selamento superficial quando comparado aos sistemas adesivos convencionais, que, por possuírem propriedades físicas e químicas finais mais estáveis, selariam a dentina exposta de forma mais eficaz, protegendo o complexo dentino-pulpar (SPENCER & WANG¹⁷⁵, 2001; ITTHAGARUN et al.⁸³, 2002; TAY et al.¹⁹⁸, 2002; GARCIA et al.⁶⁸, 2003; CARVALHO et al.³⁵, 2003; VAN MEERBEEK et al.²²⁴, 2005).

Carvalho et al.³⁶ (2005) observaram que alguns adesivos autocondicionantes podem hibridizar incompletamente a dentina por seu baixo potencial ácido e presença de componentes hidrofílicos não polimerizados, resultando em sítios de degradação da união.

Alguns autores observaram a formação de uma zona porosa na base da camada híbrida com a utilização de sistemas convencionais como o *Adper Single Bond* (PERDIGÃO et al.¹⁴³, 1999; PHRUKKANON et al.¹⁴⁷, 1999; LI et al.⁹⁶, 2001; TOLEDANO et al.²⁰⁵, 2001), enquanto outros autores observaram a formação destas porosidades quando ocorre o sobre-condicionamento da dentina (HASHIMOTO et al.⁷⁷, 2000). Li et al.⁹⁶ (2001) observaram a penetração de corante ao longo da base da camada híbrida de forma contínua com o *SB* e com adesivo *CS Bond*, a penetração de corante ocorreu de forma difusa e intermitente na zona de hibridização, assim como observado também por Tay et al.¹⁹⁴ (2003) e Carvalho et al.³⁶ (2005). Estes achados corroboram com a idéia de que os sistemas convencionais falham com uma incompleta hibridização da dentina desmineralizada, enquanto os sistemas autocondicionantes não apresentam freqüentemente estes *gaps*, mas apresentam falhas em sua própria estrutura polimérica altamente permeável, o que é justificável, provavelmente, por suas características químicas finais instáveis em longo prazo.

Entretanto, Armstrong et al.⁷ (2000) e Carrilho et al.³⁰ (2004) observaram que esta degradação hidrolítica também ocorreu para os sistemas adesivos de condicionamento ácido total, como o *Single Bond* e o *Scotchbond Multi-Purpose*. Yamamoto et al.²³⁵ (2000) compararam a durabilidade destes dois últimos sistemas adesivos com um adesivo autocondicionante de dois passos clínicos e obtiveram um melhor desempenho para os sistemas adesivos de dois passos clínicos em detrimento aos sistemas de múltiplos passos.

Outra questão significativa que necessitará futuras pesquisas com relação ao processamento Grandier é o pH final dos sistemas adesivos modificados.

Segundo Yoshida et al.²³⁶, 2001, a acidez do sistema pode não representar sua capacidade de descalcificação, pois em seu estudo o ácido oxálico de pH 0,6 descalcificou menos a hidroxiapatita do que o ácido maléico de pH 0,9, o ácido cítrico de pH 1,5, o ácido láctico de pH 2,4 e o ácido poliacrílico de pH 1,4.

O *SB* normal apresenta um pH final de 4,25, enquanto o *CS Bond* possui um pH final de 2,32. Alguns autores têm aventado a hipótese de haver uma relação entre o pH final dos adesivos e a sua estabilidade estrutural em meio aquoso, tornando este adesivo hipertônico o que provocaria a sorção de água do substrato e/ou do meio, acarretando em um comprometimento da efetividade da polimerização das resinas compostas (HENOSTROZA et al.⁷⁹, 2003; TOLEDANO et al.²⁰⁶, 2003). Em virtude desses achados é possível que haja a necessidade da introdução de novas gerações de adesivos autocondicionantes com caráter ácido final fraco, com intuito de favorecer a longevidade da união (TAY & PASHLEY¹⁸⁹, 2001). Talvez estejamos frente a esta nova geração pela modificação dos sistemas, haja visto as observações práticas de tendência a alcalinidade dos líquidos Grandier modificados. Além disso, para a obtenção de uma melhor efetividade adesiva, tanto com adesivos convencionais quanto com

autocondicionantes, outros fatores devem ser considerados como a quebra do paradigma da técnica úmida, a possibilidade de utilização de formulações hidrófobas, a melhoria da polimerização dos adesivos e a incorporação de agentes neutralizadores da ação de enzimas que comprometam a longevidade da interface de união (CARVALHO et al.³⁵, 2003; HENOSTROZA et al.⁷⁹, 2003).

Outra problemática refere-se ao aspecto fosco que não é observado após a aplicação de ácidos fracos no esmalte. A relevância clínica de uma penetração deficiente dos sistemas autocondicionantes no esmalte irregular está relacionada com baixos valores de resistência de união e adaptação marginal pobre (AKAGAWA et al.³, 2002). Alguns estudos demonstraram que a capacidade deste *primer* em descalcificar adequadamente o esmalte pode não ser eficiente quando aplicado de acordo com as recomendações do fabricante, sendo que o condicionamento prévio com ácido fosfórico em esmalte ou a aplicação de um maior número de camadas por um espaço de tempo maior seriam medidas necessárias para sua correta desmineralização (FERRARI & DAVIDSON⁵⁹, 1996; BOUILLAGUET¹⁵ et al., 2001; ITOU et al.⁸⁴, 2001; REIS et al.¹⁵, 2001; VAN MEERBEEK et al.²²³, 2001; CHAVES et al.³⁸, 2002; TORII et al.²⁰⁸, 2002). Por outro lado, um estudo clínico comparativo entre sistema adesivo convencional e autocondicionante, apresentou efetividade no selamento marginal em esmalte e em dentina, bem como na sensibilidade pós-operatória, para os dois sistemas adesivos em seis meses de estudo (PERDIGÃO et al.¹³⁷, 2003). Além disso, muitos estudos *in vitro* salientaram que os adesivos autocondicionantes possuem um bom desempenho em esmalte e em dentina (TOLEDANO et al.²⁰⁵, 2001; ITOU et al.⁸⁴, 2001, TORII et al.²⁰⁸, 2002).

Os testes de resistência adesiva comumente realizados não são indicadores para analisar a qualidade da união entre resina e substrato dentário. Sabendo-se que a formação de uma camada híbrida de baixa qualidade resulta em menor durabilidade de união, por falta de

proteção devido às falhas na infiltração de monômeros, vale salientar a importância da análise da zona de hibridização, para avaliar o desempenho de diferentes substratos frente aos estudos de adesão (KATO & NAKABAYASHI⁸⁹, 1996; NAKABAYASHI & PASHLEY¹¹², 1998).

Nesse estudo observou-se que o SB (convencional) e o CS (autocondicionante) exibiram características peculiares de hibridização e corroboraram os dados já encontrados na literatura. No entanto, os dados para os mesmos sistemas, porém Grander modificados, revelaram possibilidade de acréscimo de vantagens, tais como o aumento da espessura e homogeneidade de hibridização.

6.3.6 Espessura de hibridização

Foi possível observar na MEV, a formação de uma zona de hibridização entre a dentina e o sistema adesivo/resina composta, caracterizada como uma faixa de cor mais clara do que o restante da amostra, por ser mais elétron-densa, conforme evidenciam as Figuras 25 a 36, para ambos sistemas adesivos, nos dois tipos de procedimentos (N e G). A resistência ao desafio ácido-base da área de hibridização sugere que a camada híbrida obtida foi eficiente e confiável e que esta resistência ao desafio químico pode simular a resistência desta estrutura à situação clínica de cárie recorrente e sensibilidade pós-operatória (PERDIGÃO & SWIFT JUNIOR¹³⁵, 1994; PERDIGÃO et al.^{139,140}, 1994 e 1996; NAKABAYASHI & SAIMI¹²⁰, 1996; WALKER et al.²²⁶, 2002). Além disso, tal resistência também pode expressar um bom grau de conversão dos monômeros resinosos em polímeros (NAKAJIMA et al.¹¹⁹, 2000). Contudo, em algumas imagens do SB Normal foi possível observar-se uma camada híbrida com porosidade, além da presença de um espaço entre esta camada e o adesivo, como mostrado pela seta na Figura 29. Já nos espécimes obtidos pela hibridização com *CS Bond*, observamos uma

camada híbrida bem homogênea e sem *gaps* (Figura 31), porém mais estreita.

Torres et al.²¹⁰ (2000), defendem a hipótese de que os defeitos na camada híbrida que aparecem com o uso do SB, podem ser causados pelo etanol residual, por influência do mesmo na polimerização. Ao comparar-se as imagens relativas ao SB Normal H e B (Figuras 29 e 30), observa-se a superioridade do número de *tags* e *microtags* para o dente bovino, diferença essa explicada por sua morfologia. No entanto, tais diferenças parecem ser amenizadas frente à modificação pelo Grandeur para o SB Gm, ao compararmos as Figuras 33 e 34. Há uma aparente proximidade de aspecto dos *tags* e *microtags*, e uma camada híbrida mais homogênea e sem *gaps* poderá ser observada, tanto para H quanto para B. Ao se comparar as Figuras 29/30 N e 33/34 Gm, percebem-se *tags* mais longos para o sistema SB Gm. Talvez o sistema Grandeur possa minimizar os efeitos do etanol residual, a exemplo prático da redução da percepção do teor alcoólico de bebidas.

Quanto ao CS, observa-se a mesma correlação de *tags* mais numerosos, espessos e com *microtags* para o substrato B, tanto para o CS N como para o CS Gm.

Como já mencionado anteriormente, há uma necessidade de verificação futura da influência da tecnologia Grandeur no álcool presente nas formulações dos sistemas adesivos.

Também em relação aos sistemas adesivos empregados, observou-se, com a análise da Tabela 20, que o sistema convencional apresentou média de valores estatisticamente superiores em espessura de hibridização (3,40 μ m), em ambos substratos, quando comparado ao sistema autocondicionante (2,01 μ m), independentemente do substrato ou do procedimento (N ou G), assim como observado por outros autores que objetivaram comparar o comportamento destas diferentes abordagens adesivas (BURROW et al.²⁷, 1994; FERRARI & DAVIDSON⁵⁹, 1996; YOSHIYAMA et al.²³⁸, 1996; PRATI et al.¹⁵⁰, 1998;

FERRARI et al.⁶¹, 1999; KWONG et al.⁹⁵, 2000; BOUILLAGUET et al.¹⁵, 2001; ABDALLA & GARCÍA-GODOY², 2002; ARRAIS & GIANNINI⁸, 2002). Em concordância com esses autores, essa diferença na espessura de hibridização entre os sistemas convencionais e os autocondicionantes se deve às características de seus condicionadores, conforme já discutidos no tópico anterior (Figuras 25 a 36).

Os resultados do presente estudo permitiram observar que não houve diferença estatística para os valores de espessura de hibridização entre os substratos, humano e bovino, independentemente do procedimento (N ou G), quando submetidos ao sistema adesivo *SB* (**H**: $3,17 \pm 0,52\mu\text{m}$; **B**: $3,65 \pm 0,89\mu\text{m}$) e ao sistema adesivo *CS Bond* (**H**: $1,87 \pm 0,44\mu\text{m}$; **B**: $2,16 \pm 0,45\mu\text{m}$), conforme Tabelas 17 e Figuras 21, 22 e 23. Os valores observados para o substrato bovino foram ligeiramente mais altos, mas não estatisticamente significantes, dentro de cada grupo de sistemas adesivos. Caracterizaram-se grupos homogêneos entre substrato bovino e humano frente à aplicação do sistema adesivo convencional e sistema adesivo autocondicionante. Com a análise da Figura 21 e Tabela 20, pode-se observar as semelhanças entre os grupos, inclusive com relação ao desvio padrão apresentado, sendo este menor para as médias dos espécimes humanos e bovinos submetidos ao sistema adesivo autocondicionante *CS*, do que para o sistema convencional *SB*. Isto caracteriza menor variabilidade e, portanto, menor sensibilidade dos sistemas autocondicionantes à técnica de adesão, em concordância com Rauscher¹⁵³ (2003) e Anido⁶ (2005).

Esta observação também foi corroborada pelos dados de diversos trabalhos onde foram verificadas semelhanças entre os substratos (.DRIESSENS⁴³, 1982; TAGAMI et al.¹⁸², 1989; SANO et al.¹⁶⁷, 1994; SCHILKE et al.¹⁷², 2000; SCHMALZ et al.¹⁷³, 2001; DUTRA-CORRÊA et al.^{47,46} 2002; 2004). As semelhanças encontradas entre a dentina H e B advogam em favor da criteriosa padronização desse estudo, uma vez que foram estatisticamente comprovadas.

Os valores de hibridização observados para o grupo Normal, foram semelhantes aos encontrados por outros autores que empregaram outros sistemas adesivos convencionais (NAKABAYASHI¹¹⁰, 1992; DAGOSTIN & FERRARI⁴¹, 1996; PERDIGÃO et al.¹⁴³, 1999; HASHIMOTO et al.⁷⁸, 2001; MEDINA et al.¹⁰², 2001). Da mesma forma, os resultados obtidos com a aplicação do sistema adesivo autocondicionante foram semelhantes aos encontrados em outros experimentos (NAKABAYASHI & SAIMI¹¹³, 1996; PRATI et al.¹⁵¹, 1998; MIAYASAKA & NAKABAYASHI¹⁰⁸, 1999). No entanto, estes dados foram obtidos de estudos que avaliaram a ação dos diferentes sistemas adesivos em dentina humana ou bovina, separadamente, não se caracterizando como um estudo comparativo entre os substratos.

O grupo Grander apresentou valores superiores de espessura de hibridização em relação ao grupo Normal ($2,96\mu\text{m} \pm 0,90$ e $2,46\mu\text{m} \pm 0,92$, respectivamente), independentemente do tipo de substrato ou de sistema adesivo (Tabela 20).

Comparando-se os resultados desse estudo com a aplicação do sistema adesivo *SB* normal (**H**: $3,06 \pm 0,38\mu\text{m}$)- Tabela 17, observa-se que Phrukkanon et al.¹⁴⁸ (2000), Ogata et al.¹²⁵ (2001), Akagawa et al.³ (2002) e Anido⁶ (2005), observaram valores de hibridização semelhantes.

Entretanto, com relação aos dados de espessura de hibridização observados por Arrais & Giannini⁸ (2002) foi possível verificar que encontrou-se valores inferiores aos apresentados por eles ($5,55 \pm 0,82\mu\text{m}$) com o sistema adesivo *SB* Nakajima et al.¹¹⁹ (2000) verificaram valores de hibridização menores ($2,3\mu\text{m} \pm 0,4$), utilizando o mesmo adesivo, cuja diferença pode estar relacionada ao emprego da dentina de molares humanos.

Nakajima et al.¹¹⁸ (1995) e Sano et al.¹⁶⁸, (1995), observaram valores de camada híbrida maiores empregando *Clearfil Liner Bond II* ($2,5\mu\text{m}$) e sistema convencional *All-Bond 2* ($4-5\mu\text{m}$). Estes

resultados poderiam ser atribuídos a dois fatores principais: o primeiro, ao substrato utilizado – dentina desmineralizada afetada por cárie e; o segundo, às diferenças na composição química do antecessor do *CS Bond*, com a substituição do *Phenyl-P* pelo MDP, o qual possui um sítio de ligação química a mais que o precedente e ao solvente do sistema convencional, a acetona, que possivelmente necessitou de uma superfície com umidade relativamente maior do que a necessária para a aplicação do *SB*.

Em outro estudo Nakajima et al.¹²⁰ (2000) exibiram imagens semelhantes às aqui apresentadas, frente à aplicação de *SB* em dentina úmida, com a formação de *tags* de resina com espessura de hibridização em torno de 2,5 μ m, em molares humanos.

Autores como Prati et al.¹⁵⁰ (1998), Phrukkanon et al.¹⁴⁷ (1999), Ferrari & Davidson⁵⁹ (1996), Arrais & Giannini⁸ (2002), Breschi et al.²² (2003), Sakoolnamarka et al.¹⁶⁶ (2003), Toba et al.²⁰⁴, (2003), Toledano et al.²⁰⁶ (2003), relataram espessura de hibridização com *SB* e com *CS* semelhantes aos resultados desse estudo, com pequenas variações numéricas, devido à imensa variabilidade na metodologia empregada nos diferentes estudos, como por exemplo: a mudança nas formulações dos produtos (*Clearfil Liner Bond II* e *Clearfil S E Bond*), substrato (dentina humana de incisivos, dentina humana de molares, região vestibular, região oclusal, normal, desmineralizado, hipermineralizado, cariado), metodologia de análise (MEV, MEV-ECI, MET). Porém, em todos eles, houve a manutenção da maior espessura de hibridização para os sistemas convencionais e menor para os autocondicionantes.

Quando se realiza o condicionamento ácido, a dentina peritubular é removida nos primeiros micrometros dos túbulos dentinários (de acordo com idade, profundidade, presença de esclerose dentinária e características do ácido), alargando o diâmetro do lúmen em cerca de 1 a 3 μ m. Este aumento no diâmetro promove um aumento na área de

superfície na parede tubular disponível para a difusão de resina. A maior desmineralização no topo do túbulo, confere a este um formato de funil que é preenchido por resina, como demonstrado pela área demarcada por um círculo nas Figuras 32, 33 e 34. A resistência de um *tag* é resultado da resistência intrínseca da resina polimerizada e de seu diâmetro (PASHLEY & CARVALHO¹²⁸, 1997; NAKABAYASHI & PASHLEY¹¹², 1998).

Entretanto, Eick et al.⁵⁴ (1997) e Ferrari & Davidson⁵⁹ (1996) propuseram que a difusão de monômeros no interior das fibrilas colágenas ao redor do lúmen do túbulo desmineralizado também confere resistência. Ao redor dos *microtags* ocorre uma microhibridização nas paredes dos canalículos dentinários, que foi descrita por Van Meerbeek et al.²²³ (2001) como uma terceira via de hibridização, além da hibridização da dentina intertubular e peritubular, cuja resistência adesiva é maior do que a resistência coesiva apresentada pelos *tags* (EICK et al.⁵⁴, 1997). As amostras analisadas neste estudo apresentaram a formação de *tags* com prolongamentos laterais para os dois tipos de sistemas adesivos e procedimentos N e G, em ambos substratos como verificado nas Figuras 29, 30, 31 e 32. A aparência rugosa e irregular dos *tags* indica uma boa adaptação da resina à parede de dentina peritubular (PERDIGÃO & SWIFT JUNIOR¹³⁵, 1994; EICK et al.⁵⁴, 1997; FERRARI & DAVIDSON⁵⁹, 1996; VAN MEERBEEK et al.²²², 2000). Este fenômeno conhecido como hibridização da parede peritubular é favorável ao selamento hermético do complexo dentino-pulpar à microinfiltração e ingresso de microorganismos quando ocorrer falha na adesão no topo ou na base da camada híbrida, vias frágeis na união micromecânica (VAN MEERBEEK et al.²²³, 2001). Essas características também estão presentes quando da observação das imagens dos espécimes que receberam os sistemas Grandeur modificados.

O sistema adesivo *SB* formou longos *tags* com comprimentos maiores do que 10µm (Figuras 29, 30, 33 e 34), assim

como relatado por Dagostin & Ferrari⁴¹ (2001) e Giachetti et al.⁷⁰ (2004). Esses longos *tags* também, sugerem a manutenção das características ideais de umidade para o estabelecimento de uma efetiva adesão, de acordo com Perdigão et al.¹³⁹, (1994). Observou-se a ocorrência de *tags* de maior comprimento, com ramificações laterais (*microtags*) presentes em grande número, para as amostras submetidas ao sistema adesivo convencional, enquanto para o sistema adesivo autocondicionante foram verificados *tags* mais curtos e estreitos e menor incidência de ramificações laterais com extensão reduzida, assim como observado por Perdigão et al.¹³⁹ (1994) e Ferrari & Davidson⁵⁹ (1996) e podem ser observados ao compararmos as Figuras 27 com a 28 e 33/34 com a 35. É possível explicar esta característica, com base em observações feitas por Carvalho et al.³⁶ (2005), em que o baixo potencial desmineralizador de alguns sistemas adesivos autocondicionantes diminuiu a capacidade de penetrar entre a *smear layer* e, principalmente devido à relativa inatividade sobre os *smear plugs* e por sua maioria caracterizar-se como sistemas adesivos de pH maior que o do ácido fosfórico.

Outra questão a se considerar é o baixo grau de conversão que os adesivos autocondicionantes apresentam no interior dos túbulos dentinários em decorrência da interferência do fluido intratubular, provavelmente resultando em uma deficiente polimerização nesta região (SPENCER & WANG¹⁷⁵, 2002). Deve-se, no entanto, ressaltar a condição *in vitro* realizada no presente estudo, em que o fator limitante na penetração e polimerização adesiva pode ser desconsiderado neste caso.

Com o desafio ácido-base empregado para revelar a subsuperfície de adesão, os monômeros não polimerizados são removidos com a descalcificação/desproteínização da dentina, o que nesta região resulta em *tags* mais curtos, lisos e delgados, com menor ocorrência de *microtags*. Talvez esta observação tenha relação direta com

as características morfológicas dos *tags* e *microtags* observadas para o *CS Bond* (Figura 28).

É importante o cuidado na comparação das eletromicrografias com relação ao seu aumento. Por isso as fotos foram padronizadas originalmente em aumentos de 1.000, 5.000 e 10.000 X, sendo convertidas fixando-se as proporções para a impressão (largura 11,3 e altura 8,2 cm). Os detalhes de *microtags* e da camada híbrida são melhor observados em maiores aumentos, e as observações mais genéricas em menores aumentos.

Rauscher¹⁵³ (2003), observou um maior grau de porosidades para o sistema convencional SB quando comparado ao autocondicionante One Up Bond F. Esse estudo concorda com a autora quando se trata de sistemas adesivos convencionais Normais, porém mostrou uma significativa melhora em termos de homogeneidade, quando esses são Grander modificados.

Os avanços na Odontologia adesiva revolucionaram os princípios da Dentística, a custa de inúmeros trabalhos realizados sobre variados substratos. A busca pela maior possibilidade aproximar estes resultados com finalidade de predizer o comportamento clínico, levou à execução de uma metodologia criteriosa, principalmente na obtenção de um substrato de características morfológicas semelhantes ao substrato humano. Com a obtenção de resultados semelhantes, quando guardadas as relações adequadas, observou-se a possibilidade do emprego do substrato bovino em substituição ao humano, em análise micromorfológica do desempenho de sistemas adesivos.

Quanto aos sistemas adesivos, ocorreram modificações em suas características químicas e estratégias de adesão ao longo do tempo, tornando-os mais simples com relação à técnica de aplicação e compatibilidade com as características do substrato dental. Mais estudos laboratoriais, longitudinais e a constante atualização são necessários

devido à alta complexidade do substrato dentinário e às inúmeras variáveis que interferem no procedimento adesivo.

Com a disponibilidade de diferentes abordagens de adesão, é fundamental conhecer os sistemas adesivos, quanto à sua composição química, para melhor empregá-los nas diversas situações clínicas. Nenhum sistema adesivo permite que se deixem para segundo plano os princípios biológicos e mecânicos, na busca de uma união eficiente e estável. A manutenção dos espaços entre as fibras colágenas é importante para permitir a difusibilidade dos monômeros resinosos, portanto, é de suma importância reduzir a contração de desmineralização da rede de colágeno disponível para hibridização.

A menor variação dos dados obtidos com o substrato bovino pode ser justificada por permitir maior facilidade de padronização das amostras com relação à idade dos animais, procedência, tipo de alimentação e oportunidade de coleta imediatamente após o abate dos animais.

Embora os resultados obtidos por este estudo não possam ser diretamente extrapolados para uma situação clínica, eles provêm informações importantes com relação à performance dos procedimentos adesivos, frente aos diferentes substratos avaliados.

A tecnologia Grander mostrou ação benéfica no tangente à espessura de hibridização, independentemente do substrato ou do adesivo, evidenciando seu potencial para o estabelecimento de uma adesão mais estável.

Novos estudos devem ser realizados para atestar a longevidade destas técnicas e materiais inicialmente avaliados *in vitro* e, principalmente para validar a continuidade dos estudos realizados em dentes bovinos.

7 CONCLUSÃO

Nas condições experimentais em que o presente trabalho foi realizado, concluiu-se que:

- a) a tecnologia Grander interferiu nas propriedades físicas dos sistemas adesivos testados, reduzindo a tensão superficial e o ângulo de contato;
- b) a tecnologia Grander interferiu na qualidade da hibridização gerada por ambos sistemas adesivos, propiciando maior espessura da camada híbrida;
- c) o sistema adesivo convencional gerou maior espessura de hibridização que o autocondicionante, independentemente do substrato e do procedimento N ou G;
- d) os substratos humano e bovino comportaram-se de maneira semelhante frente aos parâmetros da MEV observados, independentemente do sistema adesivo ou do procedimento N ou G;
- e) a dentina bovina qualifica-se como um substituto aceitável à dentina humana, para a análise das técnicas e materiais adesivos, em sua performance inicial.

8 REFERÊNCIAS*

- 1 ABDALLA, A.I.; DAVIDSON, C.L. Shear bond strength and microleakage of new dentin bonding systems. **Am J Dent**, v.6, n.6, p.295-8, Dec. 1993.
- 2 ABDALLA, A.I.; GARCÍA-GODOY, F. Morphological characterization of single bottle adhesives and vital dentin interface. **Am J Dent**, v.15, n.1, p.31-4, Feb. 2002.
- 3 AKAGAWA, H. et al. Shear bond strengths to coronal and pulp chamber floor dentin. **Am J Dent**, v.15, n.6, p.383-8, Dec. 2002.
- 4 ANDIA-MERLIN, R.Y.; GARONE-NETTO, N.; ARANA-CHAVEZ, V.E. SEM evaluation of the interaction between a three-step adhesive and dentin. **Oper Dent**, v.26, n.5, p.440-4, 2001.
- 5 ANIDO, A.A. **Dentina humana e bovina, estudo comparativo da resistência adesiva em três diferentes profundidades: teste de cisalhamento**. São José dos Campos, 2001, 160f. Dissertação (Mestrado em Odontologia, Área de Concentração em Odontologia Restauradora) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos, 2001.

* Baseado em:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Rio de Janeiro.

Informação e documentação: referências, elaboração, NBR 6023. Rio de Janeiro, 2002. 23p.

- 6 ANIDO, A.A. **Dentina humana e bovina, estudo da profundidade de desmineralização e da espessura da hibridização empregando-se sistema adesivo convencional ou autocondicionante: análise em MEV.** São José dos Campos, 2005, 318f. Tese (Doutorado em Odontologia Restauradora: Especialidade em Dentística) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos, 2005.
- 7 ARMSTRONG, S.R. et al. Hydrolytic degradation of the dentin-resin composite bonded joint. **J Dent Res**, v.79, Sp.Iss., p.453, 2000. (Abstract 2476)
- 8 ARRAIS, C.A.; GIANNINI, M. Morphology and thickness of the diffusion of resin through demineralized or unconditioned dentinal matrix. **Pesq Odontol Bras**, v.16, n.2, p.115-20, abr./jun. 2002.
- 9 ATTAL, J.P.; ASMUSSEN, E.; DEGRANGE, M. Effects of surface treatment on the free surface energy of dentin. **Dent Mater**, v.10, p 259-264, jul., 1994.
- 10 BARKMEIER, W.W.; COOLEY, R.L. Laboratory evaluation of adhesives systems. **Oper Dent**, suppl. 5, p. 50-61, 1992.
- 11 BEECH, D.R.; TYAS, M.J.; SOLOMON, A. Bond strength of restorative materials to human dentin: influence of post-extraction time. **Dent Mater**, v.7, p.15-7, Jan. 1991.
- 12 BHASKAR, S.N. Dentina. In: __. **Histologia e embriologia oral de Orban**. 10.ed. São Paulo: Artes Médicas, 1989. cap. 4 , p.111-46.

- 13 BORGES, M.A.P. **Degradação de materiais restauradores poliméricos submetidos a uma situação de alto desafio cariogênico.** Rio de Janeiro, 2002, 97f. Tese (Doutorado em Odontologia: Área de concentração Clínica Odontológica) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ, Rio de Janeiro, 2002.
- 14 BOSCHIAN, L. et al. Is hybrid layer important for dentin bonding? **J Dent Res**, v.76, Sp.Iss., p.281, 1997. (Abstract 2138)
- 15 BOUILLAGUET, S. et al. Bond strength of composite to dentin using conventional, one-step, and self-etching adhesive systems. **J Dent**, v.29, p.55-61, 2001.
- 16 BOWEN, R.L. Study adhesive substances for dental applications. **J Am Dent Assoc**, v.65, n.2, p.240-2, Aug. 1962.
- 17 BOWEN, R.L. Adhesive bonding of various materials to hard tooth tissues. III. Bonding to dentin improved by pretreatment and use of surface-active comonomer. **J Dent Res**, v.44, n.5, p.903-5, Sept./Oct. 1965.
- 18 BOWEN, R.L. Adhesive bonding of various materials to hard tooth tissues. IV. Bonding to dentin, enamel, and fluorapatite improved by use of a surface-active comonomer. **J Dent Res**, v.44, n.5, p.906-11, Sept./Oct. 1965.
- 19 BOWEN, R.L. Adhesive bonding of various materials to hard tooth tissues. V. The effect of a surface-active comonomer on adhesion to diverse substrates. **J Dent Res**, v.44, n.6, p.1369-73, Nov./Dec. 1965.

- 20 BOWEN, R.L.; COBB, E.N. A method for bonding to dentin and enamel. **J Am Dent Assoc**, v.107, p. 734-6, 1983.
- 21 BRESCHI, L. et al. Morphological study of resin-dentin bonding with TEM and In-Lens FESEM. **Am J Dent**, v.16, n.4, 267-74, Aug. 2003.
- 22 BRESCHI, L. et al. Ultra-morphology of self-etching adhesives on ground enamel: a high resolution SEM study. **Am J Dent**, v.16, Sp.Iss., p.57A-62A, Sep. 2003.
- 23 BROWN, K.; PUCKETT, A.D.; GIVAN, D. Surface free energy of bovine versus human enamel and dentin. **J Dent Res**, v.71, Sp.Iss., p. 279, 1992. (Abstracts, 1389).
- 24 BUONOCORE, M.G. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. **J Dent Res**, v.34, n.6, p.849-53, Dec. 1955.
- 25 BUONOCORE, M.G.; QUIGLEY, M. Bonding of a synthetic resin material to human dentin: preliminary histological study of the bond area. **J Am Dent Assoc**, v.57, n.6, p.807-11, Dec. 1958.
- 26 BUONOCORE, M.G.; WILEMAN, W.; BRUDEVOLD, F. A report on a resin composition capable of bonding to human dentin surfaces. **J Dent Res**, v.35, n.6, p.846-51, Dec. 1956.
- 27 BURROW, M.F. et al. The influence of age and depth of dentin on bonding. **Dent Mater**, v.10, p.241-6, July 1994.

- 28 CAL-NETO, J.O.A.P; MIRANDA, M.S; CERVANTES-DIAS,K.R.H. Comparative SEM evaluation of penetration of adhesives systems in human dentin with a non-rinse conditioner and a self-etching primer. **Braz. Dent. J.** , v.15, n.1, p. 19-25, 2004.
- 29 CARRACHO, A.J.L. et al. The effect of storage and thermocycling on the shear bond strength of three dentinal adhesives. **Quintessence Int**, v.22, n.9, p.745-52, 1991.
- 30 CARRILHO, M.R. et al. Effects of storage media on mechanical properties of adhesive systems. **Am J Dent**, v.17, n.2, p.104-8, Apr. 2004. (Abstract) Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/pubmed/>. Acesso em: 14 Fev. 2005 (Abstract)
- 31 CARVALHO, R.M. et al. Dimensional changes of demineralized human dentine during preparation for scanning electron microscopy. **Archs Oral Biol**, v.41, n.4, p.379-86, 1996.
- 32 CARVALHO, R.M. et al. *In vitro* study on the dimensional changes of human dentine after demineralization. **Archs Oral Biol**, v.41, n.4, p.369-77, 1996.
- 33 CARVALHO, R.M. et al. Dentin strength as a function of tubule orientation and density. **J Dent Res**, v.78, Sp Iss., p.284, 1999. (Abstract 1428).
- 34 CARVALHO, R.M. et al. Resin diffusion through demineralized dentin matrix. **Rev Odontol Univ São Paulo**, v.13, n.4, p.417-24, out./dez. 1999.

- 35 CARVALHO, R.M. et al. Durabilidad de la unión resina-diente: Una dimensión olvidada. In HENOSTROZA, H. et al. **Adhesión en Odontología Restauradora**. Curitiba: Ed. Maio, 2003. 442-54p.
- 36 CARVALHO, R.M. et al. A challenge to the conventional wisdom that simultaneous etching and resin infiltration always occurs in self-etch adhesives. **Biomaterials**, v.26, n.9, p.1035-42, Mar. 2005. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/pubmed/>. Acesso em: 18 Abr. 2005. (Abstract)
- 37 CHAN, A.R. et al. A short- and long-term shear bond strength study using acids of varying dilutions on bovine dentine. **J Dent**, v.25, p.145-52, 1997.
- 38 CHAVES, P.; GIANNINI, M.; AMBROSANO, G.M.B. Influence of smear layer pretreatments on bond strength to dentin. **J Adhes Dent**, v.4, n.3, p.191-6, 2002.
- 39 CHERSONI, S. et al. *In vivo* and *in vitro* permeability of one-step self-etch adhesives. **J Dent Res**, v.83, n.6, p.459-64, 2004. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/pubmed/>. Acesso em: 14 fev. 2005. (Abstract).
- 40 CUNHA, M.R.B.; DE GOES, M.F.; MONTES, M.A.J.R. Comparação da resistência de união de sistemas adesivos sobre a dentina aos 10 minutos e 24 horas. **Pesqui Odontol Bras**, v.14, Suplemento, p.71, 2000. (Resumo A083) Apresentado à 17^a Reunião Anual da SBPqO.
- 41 DAGOSTIN, A.; FERRARI, M. *In vivo* bonding mechanism of an experimental dual-cure enamel-dentin bonding system. **Am J Dent**, v.14, n.2, p.105-8, 2001.

- 42 DELLA SERRA, O.; FERREIRA, F.V. Generalidades. In:__. **Anatomia dental**. 3.ed. São Paulo: Artes Médicas, 1981. cap.1, p.1-11.
- 43 DRIESSENS, F.C.M. Mineral aspects of dentistry. In:__**Monographs in oral science**. V.10. Basel: Karger, 1982. p.159-76. apud SCHILKE, R. et al. Bovine dentin as a substitute for human dentin in shear bond strength measurements. **Am J Dent**, v.12, n.2, p.92-6. Apr. 1999.
- 44 DUKE, E.S. Adhesion and its application with restorative materials. **Dental Clin North Am**, v.37, n.3, p.329-40, July 1993.
- 45 DUTRA-CORREA. Avaliação das propriedades térmicas, químicas e mecânicas, relacionando dente bovino com dente humano. São José dos Campos, 2005, 220f. Dissertação (Mestrado em Odontologia Restauradora: Especialidade em Dentística) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos, 2005.
- 46 DUTRA-CORRÊA, M.; ANAUATE-NETTO, C.; ARANA-CHAVEZ, V.E. Comparação da densidade tubular e diâmetro dos túbulos dentinários da dentina bovina condicionada e fraturada. **Braz Oral Res**, v.18, Suppl., p.214, 2004. (Abstract Pc 093). Trabalho apresentado 21 Annual SBPqO Meeting.
- 47 DUTRA-CORRÊA, M. et al. Caracterização da dentina e esmalte bovino por difratometria de raios X e espectroscopia por infravermelho. In: Congresso de odontologia da Universidade de Mogi das Cruzes e Jornada Odontológica, 25. 2002, Mogi das

Cruzes: **Anais Encontro de Pesquisa e Iniciação Científica**. Mogi das Cruzes: UMC, 2002. p.29.

- 48 DUTRA-CORRÊA, M. et al. Estudo micromorfológico comparativo entre dentina bovina e humana ao MEV. **RPG Rev Pos Grad**, v.10, n.4, p. 312-6, 2003.
- 49 DYCE, K.M.; WENSING, C.J.G.; SACK, O.W. A cabeça e a parte ventral do pescoço dos ruminantes. In: __. **Tratado de anatomia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1987. p.417-20.
- 50 EICK, J.D. et al. Scanning electron microscopy of cut tooth surfaces and identification of debris by use of the electron microprobe. **J Dent Res**, v.49, n.6, Nov./Dec. 1970.
- 51 EICK, J.D. et al. The dentinal surface: its influence on dentinal adhesion. Part I. **Quintessence Int**, v. 22, n.12, p. 967-77, 1991.
- 52 EICK, J.D. et al. The dentinal surface: its influence on dentinal adhesion. Part II. **Quintessence Int**, v. 23, n.1, p. 43-51, 1992.
- 53 EICK, J.D. et al. The dentinal surface: its influence on dentinal adhesion. Part III. **Quintessence Int**, v. 24, n.8, p. 571-82, 1993.
- 54 EICK, J.D. et al. Current concepts on adhesion to dentin. **Crit Rev Oral Biol Med**, v.8, n.3, p.306-35, 1997.
- 55 EL-DIN, A.K.N.; MILLER, B.H.; GRIGGS, J.A. Resin bonding to sclerotic, noncarious , cervical lesions. **Quintessence Int.**, v. 35, p. 529-40, 2004.

- 56 ELIADES, G.; VOUGIOUKLAKIS, G.; PALAGHIAS, G. Effect of dentin primers on the morphology, molecular composition and collagen conformation of acid-demineralized dentin *in situ*. **Dent Mater**, v. 15, p.310-7, 1999.
- 57 ESTRELA, C. **Metodologia científica**. São Paulo: Artes Médicas, 2001. 483p.
- 58 FAISSNER, K. Physical and physical-chemical data in the application of revitalized and non-revitalized water and the use of Grander water revitalization in industry, March, 2000. Disponível em: <http://www.grander-tecnologie.com/en/wissenschaft-forschung/DiplomarbeitUniGrass.php> . Acesso realizado em: 27 ago 2004.
- 59 FERRARI, M.; DAVIDSON, C.L. *In vivo* resin-dentin interdiffusion and tag formation with lateral branches of two adhesive systems. **J Prosthet Dent**, v.76, n.3, p.250-3, Sept. 1996.
- 60 FERRARI, M. et al. Dentin infiltration by three adhesive systems in clinical and laboratory conditions. **Am J Dent**, v.9, n.6, p.241-44, Dec. 1996.
- 61 FERRARI, M. et al Standardized microscopic evaluation of the bonding mechanism of NRC/Prime & Bond NT. **Am J Dent**, v.12, n.2, p.77-83, Apr. 1999.
- 62 FOGEL, H.M.; MARSHALL, F.J.; PASHLEY, D.H. Effects of distance from the pulp and thickness on the hydraulic conductance of human radicular dentin. **J Dent Res**, v.67, n.11, p.1381-5, Nov. 1988.

- 63 FOWLER, C.S. et al. Influence of selected variables on adhesion testing. **Dent Mater**, v.8, p.265-9, July 1992.
- 64 FUSAYAMA, T. et al. Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. **J Dent Res**, v.58, n.4, p.1364-70, Apr. 1979.
- 65 FRANKENBERGER, R.; KRÄMER, N.; PETSCHERT, A. Technique sensitivity of dentin bonding: effect of application mistakes on bond strength and marginal adaption. **Oper Dent**, v.25, p.324-30, 2000.
- 66 GABRIEL, B.L. **SEM**: a user's manual for materials science. 3ed. Ohio: Carnes Publication Services, 1985. 173p.
- 67 GARBEROGLIO, R.; BRÄNNSTRÖM, M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. **Archs Oral Biol**, v.21, p.355-62, 1976.
- 68 GARCIA, F.C.P. et al. O paradoxo da evolução dos sistemas adesivos. **Rev Assoc Paul Cir Dent**, v.57, n.6, p.449-53, 2003.
- 69 GIACHETTI, L. et al. Sclerotic dentin: aetio-pathogenetic hypothesis. **Minerva Stomatol**, v.51, n.7-8, p.285-92, July/Aug. 2002 Medline. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/pubmed/>. Acesso em: 15 nov. 2003. (Abstract)
- 70 GIACHETTI, L.; BERTINI, F.; RUSSO, D.S. Investigation into the nature of dentin resin tags: a scanning electron microscopic morphological analysis of demineralized bonded dentin. **J Prosthet Dent**, v.92, n.3, p.233-8, Sept. 2004.

- 71 GONÇALVES, S.E.P. **Pré-tratamento dentinário-influência do condicionamento ácido, irradiação e hipermineralizaçõis na resistência ao cisalhamento de sistema adesivo multi-uso.** São José dos Campos, 1997, 208f. Tese (Doutorado em Odontologia-Área de concentração em Odontologia Restauradora) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos, 1997.
- 72 GONÇALVES, S.E.P.; ARAUJO, M.A.M.; DAMIÃO, A.J. Dentin bond strength: influence of laser irradiation, acid etching and hypermineralization. **J Clin Laser Med & Surg**, v.17, n.2, p.77-85. 1999.
- 73 GONÇALVES, S.E.P.; ARAUJO, M.A.M.; PADILHA, R.Q. Adesivos multi-uso: avaliação da resistência adesiva à dentina ante ao teste de cisalhamento. **Rev Odontol UNESP**, v.25, n.esp., p.113-121, 1996.
- 74 GWINNETT, A.J. Smear layer: morphological consideration. **Oper Dent**, v.9, suppl.3, p.3-12, 1984.
- 75 GWINNETT, A.J. Quantitative contribution of resin infiltration/hibridization to dentin bonding. **Am J Dent**, v.6, p.7-9, 1993.
- 76 GWINNETT, A.J. et al. Quantitative contribution of the collagen network in dentin hybridization. **Am J Dent**, v.9, n.4, p.140-4, Aug. 1996.
- 77 HASHIMOTO, M. et al. The effect of hybrid layer thickness on bond strengths: demineralized dentin zone of the hybrid layer. **Dent Mater**,

v.16, p.406-11, 2000. Disponível em:
<http://www.ncbi.nlm.gov/pubmed/>. Acesso em: 20 maio 2005.

- 78 HASHIMOTO, M. et al. Resin-tooth adhesive interfaces after long-term function. **Am J Dent**, v.14, n.4, p.211-5, Aug. 2001.
- 79 HENOSTROZA, H. et al. **Adhesión en Odontología Restauradora**. Curitiba: Ed. Maio, 2003. 454p.
- 80 HUHTALA, M.F.R.L.; UEMURA, E.S.; PENNA, P.P. Resistência ao cisalhamento de dois sistemas adesivos. **Pesqui Odontol Bras**, v.14, Supl., p.124, 2000. Resumo B131 (Apresentado à 17^a Reunião Anual da SBPqO).
- 81 IKEMURA, K. et al. Bonding mechanism and ultrastructural interfacial analysis of a single-step adhesive to dentin. **Dent Mater**, v.19, p.707-17, 2003.
- 82 INOKOSHI S. et al. A study on the resin impregnated layer of dentin. Part I. A comparative study on the decalcified and undecalcified sections and the application of argon ion beam etching to disclose the resin impregnated layer of dentin. **Jpn J Conserv Dent**, n.33, p.427-42, 1990 apud VAN MEERBEEK, B. et al. Microscopy investigations. Techniques, results, limitations. **Am J Dent**, v.13. Sp.Iss., p. 3D-18D, Nov. 2000.
- 83 ITTHAGARUN, A. et al. Single-step adhesives are simi-permeable membranes. III Fluoride-releasing evidence. **J Dent Res**, v.81, sp iss A, p.A469, 2002. (Abstract 3830).

- 84 ITOU, K. et al. Effect of priming time on tensile bond strength to bovine teeth and morphologic structure of interfaces created by self-etching primers. **Int J Prosthodont**, v.14, n.3, p.225-30, May 2001.
- 85 ITOU, K. et al. Effect of drying methods on hybrid layer thickness. **Am J Dent**, v.16, n.5, p.335-9, Oct. 2003.
- 86 JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 427p.
- 87 KANCA III, J. Resin bonding to wet substrate. 1. Bonding to dentin. **Quintessence Int**, v.23, n.1, p.39-41, 1992.
- 88 KATO, G.; NAKABAYASHI, N. Influence of exposed collagen etched with fosforic acid to bonding. **J Dent Res**, v.74, Sp.Iss., p.403, 1995. (Abstract 19)
- 89 KATO, G.; NAKABAYASHI, N. Effect of phosphoric acid concentration on wet-bonding to etched dentin. **Dent Mater**, v. 12, p. 250-5, July 1996.
- 90 KITAJIMA, E.W.; LEITE, B. **Curso introdutório de microscopia eletrônica de varredura**. 2.ed. Piracicaba: NAP/MEPA, ESALq/USP, 1999. 47p. (Apostila)
- 91 KITAJIMA, E.W.; LEITE, B. **Curso introdutório de microscopia eletrônica de varredura de pressão variável**. Piracicaba: NAP/MEPA, ESALq/USP, 1999. 43p. (Apostila)

- 92 KLETER, G.A. et al. The influence of the organic matrix on demineralization of bovine root dentin in vitro. **J Dent Res**, v. 73, n. 9, p. 1523-9, Sept. 1994.
- 93 KOSHIRO, K. et al., In vivo degradation of resin-dentin bonds produced by a self-etch vs. a total-etch adhesives system. **Eur J Oral Sci**, v.112, n.4, p.368-75, Aug. 2004.
- 94 KWON, T.; IMAI, Y. Effect of ferric chloride/citric acid/phosphoric acid conditioner on adhesion of 4-META/MMA-TBB resin to the tooth. **Dent Mater J**, v. 18, n. 2, p. 184-93, 1999.
- 95 KWONG, S.M. et al. An ultrastructural study of application of dentine adhesives to acid-conditioned sclerotic dentine. **J Dent**, v.28, p.515-28, Apr. 2000.
- 96 LI, H.P.; BURROW, M.F.; TYAS, M.J. The effect of long-term storage on nanoleakage. **Oper Dent**, v.26, p.609-16, 2001.
- 97 LOPES, M.B. et al. Comparative study of the dental substrate used in shear bond strength tests. **Pesq Odontol Bras**, v.17, n.2, p.171-5, 2003.
- 98 MACARI, S. et al. Scanning electron microscopy evaluation of the interface of three adhesive systems. **Braz Dent J**, v.13, n.1, p.33-8, 2002.
- 99 MARSHALL JUNIOR, G.W. Dentin: microstructure and characterization. **Quintessence Int**, v.24, n.9, p. 606-17, 1993.

- 100 McCABE J.F.; RUSBY, S. Dentine bonding agents – characteristic bond strength as a function of dentine depth. **J Dent**, v.20, p.225-30, 1992.
- 101 McGUICKIN, R.S. et al. Shear bond strength of Scotchbond *in vivo*. **Dent Mater**, v.7, p.50-3, Jan. 1991.
- 102 MEDINA, V. et al. Effect of bonding variables on the shear bond strength and interfacial morphology of a one-bottle adhesive. **Oper Dent**, v.26, p.277-86, 2001.
- 103 MELLO, J.B. et al. Adesivos dentinários- correlação entre resistencia à tensão adesiva e o grau de penetração dos agentes de união. **Rev Odontol Unesp**, v.21, p.233-42, 1992.
- 104 MIEARS JUNIOR, J.R.; CHARLTON. D.G.; HERMESCH, C.B. Effect of dentin moisture and storage time on resin bonding. **Am J Dent**, v.8, n.2, p.80-2, Apr. 1995.
- 105 MILIA, E.; SANTINI,A. Ultrastructural transmission electron microscopy (TEM) study of hybrid layers formed beneath a one-bottle adhesive system using the total-etch technique and a self-etching system. *Quintessence Int.*, v. 34, p. 447-52, 2003.
- 106 MINTO, A.M.P. **Avaliação qualitativa da camada híbrida sob microscopia eletrônica de varredura, efeito do condicionamento dentinário em função do tipo de sistema adesivo empregado.** 2001. 204f. Tese (Doutorado em Odontologia, Área de Concentração em Dentística) – Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, São Paulo.

- 107 MITCHEM, J.C.; GRONAS, D.G. Effects of time after extraction and depth of dentin on resin dentin adhesives. **J Am Dent Assoc**, v.113, p.285-7, Aug. 1986.
- 108 MIYASAKA, K.; NAKABAYASHI, N. Combination of EDTA conditioner and Phenyl-P/HEMA self-etching primer for bonding to dentin. **Dent Mater**, v. 15, p. 153-7, 1999.
- 109 MJÖR, I.A.; NORDAHL, I. The density and branching of dentinal tubules in human teeth. **Archs Oral Biol**, v.41, n.5, p.401-12, 1996.
- 110 MOWERY JUNIOR, A.S.; PARKER, M.; DAVIS, E.L. Dentin bonding: the effect of surface roughness on shear bond strength. **Oper Dent**, v.12, p.91-4, 1987.
- 111 NAKABAYASHI, N. Adhesive bonding with 4-META. **Oper Dent**, Suppl.5, p.125-30, 1992.
- 112 NAKABAYASHI, N.; PASHLEY, D.H. **Hybridization of dental hard tissues**. Tokio: Quintessence Books, 1998. 129p.
- 113 NAKABAYASHI, N.; SAIMI, Y. Bonding to intact dentin. **J Dent Res**, v.75, n.9, p.1706-15, Sept. 1996.
- 114 NAKABAYASHI, N.; TAKARADA, K. Effect of HEMA on bonding to dentin. **Dent Mater**, v.8, p.125-30, Mar. 1992.
- 115 NAKABAYASHI, N.; ASHIZAWA, M.; NAKAMURA, M. Identification of a resin-dentin hybrid layer in vital human dentin created in vivo: durable bonding to vital dentin. **Quintessence Int**, v. 23, n. 2, p.135-41,1992.

- 116 NAKABAYASHI, N.; KOJIMA, K.; MASUHARA, E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. **J Biomed Mater Res**, v. 16, p. 265-73, 1982.
- 117 NAKABAYASHI, N.; NAKAMURA, M.; YASUDA, N. Hibrid layer as a dentin-bonding mechanism. **J Esthet Dent**, v.3, n.4, p.133-8, July/Aug. 1991.
- 118 NAKAJIMA, M. et al. Tensile bond strength and SEM evaluation of caries-affected dentin using dentin adhesives. **J Dent Res**, v.74, n.10, p.1679-88, Oct. 1995.
- 119 NAKAJIMA, M. et al. Bond strengths of single-bottle dentin adhesives to caries-affected dentin. **Oper Dent**, v.25, p.2-10, Jan./Feb. 2000.
- 120 NAKAJIMA, M. et al. Comparative microtensile bond strength and SEM analysis of bonding to wet and dry dentin. **Am J Dent**, v.13, n.6, p. 324-8, Dec. 2000.
- 121 NAKAJIMA, M. et al. Dimensional changes and ultimate tensile strengths of wet decalcified dentin applied with one-bottle adhesives. **Dent Mater**, v.08, p.603-8, 2002.
- 122 NAKAMICHI, I.; IWAKU, M.; FUSAYAMA, T. Bovine teeth as possible substitutes in the adhesion test. **J Dent Res**, v.62, n.10, p.1076-81, Oct. 1983.
- 123 NORDENVALL, K.J. Enamel bond-composite fillings in etched cavities. The appearance of resin surfaces facing enamel and dentin. **Swed Dent J**, v.2, p.141-50, 1978.

- 124 O'BRIEN, W.J; RYGE, G.. Fenômenos de superfície e adesão. In____.Materiais dentários. 1ª ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1981. p. 39-51.
- 125 OGATA, M. et al. Influence of the direction of tubules on bond strength to dentin. **Oper Dent**, v.26, p.27-35, 2001.
- 126 PARAIZO, M. et al. Microinfiltração em resina composta: substrato bovino versus humano. **Pesqui Odontol Bras**, v.14, Suplemento, p.39, 2000. (Resumo I224) Apresentado à 17ª Reunião Anual da SBPqO.
- 127 PASHLEY, D. H. Smear layer: physiological considerations. **Oper Dent**, v.9, suppl.3, p.13-29,1984.
- 128 PASHLEY, D.H.; CARVALHO, R.M. Dentine permeability and dentin adhesion. **J Dent**, v.25, n.5, p.355-72, 1997.
- 129 PASHLEY, D.H.; HORNER, J.A.; BREWER, P.D. Interactions of conditioners on the dentin surface. **Oper Dent**, v.17, Suppl. 5, p.137-50, 1992.
- 130 PASHLEY, D.H. et al. Scanning electron microscopy of the substructure of smear layers in human dentine. **Archs Oral Biol**, v.33, n.4, p.265-70, 1988.
- 131 PASHLEY, D.H. et al. Bond strengths to superficial, intermediate and deep dentin *in vivo* with four dentin bonding systems. **Dent Mater**, v.9, p.19-22, Jan. 1993.

- 132 PASHLEY, D.H. et al. Permeability of dentin to adhesive agents. **Quintessence Int**, v.24, n.9, p.618-31, 1993.
- 133 PASHLEY, D.H. et al. Permeability of demineralized dentin to HEMA. **Dent Mater**, v.16, p.7-14, 2000.
- 134 PERDIGÃO, J. **An ultra-morphological study of human dentine exposed to adhesive systems**, 1995.457f. Tese (Doutorado) - School of Dentistry, Catholic University of Leuven. Leuven/Bélgica.
- 135 PERDIGÃO, J.; SWIFT JUNIOR, E.J. Analysis of dental adhesive systems using scanning electron microscopy. **Int Dent J**, v.44, n.4, p.349-59, 1994.
- 136 PERDIGÃO, J.; BARATIERI, L.N.; LOPES, M. Laboratory evaluation and clinical application of a new one-bottle adhesive. **J Esthet Dent**, v.11, n.1, p.23-35, 1999.
- 137 PERDIGÃO, J.; GERALDELI, S.; HODGE, J.S. Total-etch versus self-etch adhesive. Effect on postoperative sensivity. **J Am Dent Assoc**, v.34, p.1621-9, Dec. 2003.
- 138 PERDIGÃO, J.; SWIFT JUNIOR, E.J.; CLOE, B.C. Effects of etchants, surface moisture, and resin composite on dentin bonding strengths. **Am J Dent**, v.6, n.2, p.61-4, Apr. 1993.
- 139 PERDIGÃO, J. et al. *In vitro* bond strength and SEM evaluation of dentin bonding systems to different dentin substrates. **J Dent Res**, v.73, n.1, p.44-55, 1994.

- 140 PERDIGÃO, J. et al. Field emission SEM comparison of four postfixation drying techniques for human dentin. **J Biomed Mater Res**, v.29, n.9, p.1111-20, 1995.
- 141 PERDIGÃO, J. et al. Morphological field emission-SEM study of the effects of six phosphoric acid etching agents on human dentin. **Dent Mater**, v.12, p.262-71, July 1996.
- 142 PERDIGÃO, J. et al. The interaction of adhesive systems with human dentin. **Am J Dent**, v.9, n.4, p.167-73, Aug. 1996.
- 143 PERDIGÃO, J. et al. The effect of a re-wetting agent on dentin bonding. **Dent Mater**, v. 15, p. 282-95, 1999.
- 144 PERDIGÃO, J. et al. The effect of depth of dentin demineralization on bond strengths and morphology of hybrid layer. **Oper Dent**, v.25, p.186-94, 2000.
- 145 PERINKA, L.; SANO, H.; HOSODA, H. Dentin thickness, hardness and Ca-concentration vs. bond strength of dentin adhesives. **Dent Mat**, v.8, p.229-33, July 1992.
- 146 PHOENIX, R.D.; SHEN, C. Characterization of treated porcelain surfaces via dynamic contact angle analysis. **Int J Prosthodont.**,v.8, p. 187-94, 1995.
- 147 PHRUKKANON, S.; BURROW, M.F.; TYAS, M.J. The effect of dentine location and tubule orientation on the bond strengths between resin and dentine. **J Dent**, v. 27, p. 265-74, 1999.

- 148 PHRUKKANON, S. et al. The influence of the modification of etched bovine dentin on bond strengths. **Dent Mater**, v.16, p.255-65, 2000.
- 149 PRATI, C.; CHERSONI, S.; PASHLEY, D.H. Effect of removal of surface collagen fibrils on resin-dentin bonding. **Dent Mater**, v.15, p.323-31, 1999.
- 150 PRATI, C. et al. Resin-infiltrated dentin layer formation of new bonding systems. **Oper Dent**, v.23, p.185-94, 1998.
- 151 PRATI, C et al. Thickness and morphology of resin-infiltrated dentin layer in young, old, and sclerotic dentin. **Oper Dent**, v.24, n.2, p.66-72, Mar./Apr. 1999.
- 152 RANGEL, E.C.; GADIOLI, G.Z.; CRUZ, N.C. Investigations on the stability of plasma modified silicone surfaces. *Plasmas and Polymers*, v. 9, n. 1, p. 35-48, March, 2004.
- 153 RAUSCHER, F.C. **Avaliação *in vitro* da qualidade da interface de adesão formada entre um sistema adesivo convencional e um auto-condicionante e a dentina bovina normal e hipermineralizada:** estudo em MEV. 2003. 155f. Dissertação (Mestrado em Odontologia Restauradora, Área de concentração em Odontologia Restauradora) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos.
- 154 REEVES, G.W. et al. Microleakage of new dentin bonding systems using human and bovine teeth. **Oper Dent**, v. 20, p. 230-5, 1995.

- 155 REIS, A. et al. Sistemas adesivos atuais. **J Bras Clín Odontol Integr**, v.5, n.30, p.455-67, Nov/Dez, 2001.
- 156 REIS, A.F. et al. Comparison of microtensile bond strength to enamel and dentin of human, bovine, and porcine teeth. **J Adhes Dent**, v.6, n.2, p.117-21, Summer, 2004. Medline. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/pubmed/>. Acesso em: 14 fev. 2005. (Abstract)
- 157 RETIEF, H. Standardizing laboratory adhesion tests. **Am J Dent**, v.4, n. 5, p.231-6, Oct. 1991.
- 158 RETIEF, H. The principles of adhesion. **J Dent Assoc S Afr**, v.5, p.285-95, 1970.
- 159 RETIEF, D.H. et al. Tensile bond strengths of dentin bonding agents to dentin. **Dent Mater**, v.2, p.72-7, 1986.
- 160 RETIEF, D.H. et al. *In vitro* investigation and evaluation of dentin bonding agents. **Am J Dent**, v.1, Sp. Iss., p.176-83, Sept. 1988.
- 161 RETIEF, D.H. et al. Extracted human versus bovine teeth in laboratory studies. **Am J Dent**, v.3, n.6, p. 253-8, Dec. 1990.
- 162 RIBEIRO, C.C.C. et al. A clinical, radiographic, and scanning electron microscopic evaluation of adhesive restorations on carious dentin in primary teeth. **Quintessence Int**, v.30, n.9, p.591-9, 1999.
- 163 ROSE, E.E. et al. The screening of materials for adhesion to human tooth structure. **J Dent Res**, v.34, n.4, p.577-88, Aug. 1955.

- 164 RUEGGERBERG, F.A. Substrate for adhesion testing to tooth structure – review of the literature. **Dent Mater**, v.7, n.6, p.2-10, Jan. 1991.
- 165 RUSE, N.D.; SMITH, D.C. Adhesion to bovine dentin – surface characterization. **J Dent Res**, v. 70, n. 6, p. 1002-8, June 1991.
- 166 SAKOOLNAMARKA, R.; BURROW, M.F.; TYAS, M.J. Interfacial micromorphology of three adhesive systems created in caries-affected dentin. **Am J Dent**, v.16,n.3, p.202-6, June, 2003.
- 167 SANO, H. et al. Tensile properties of mineralized and demineralized human and bovine dentin. **J Dent Res**, v.73, n.6, p.1205-11, June 1994.
- 168 SANO, H. et al. Comparative SEM and TEM observations of nanoleakage within the hybrid layer. **Oper Dent**, v.20, p.1060-167, 1995.
- 169 SANO, H. et al. Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. **J Dent Res**, v.78, n.4, p.906-11, 1999.
- 170 SAUNDERS, W.P. The shear impact retentive strengths of four dentine bonding agents to human and bovine dentine. **J Dent**, v.16, n. 5, p. 233-8, 1988.
- 171 SCHILKE, R. et al. Bovine dentin as a substitute for human dentin in shear bond strength measurements. **Am J Dent** , v.12, n.2, p.92-6. Apr. 1999.

- 172 SCHILKE, R. et al Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. **Archs Oral Biol**, v.45, p.355-61, 2000.
- 173 SCHMALZ, G. et al., Permeability characteristics of bovine and human dentin under different pretreatment conditions. **J Endod**, v.27, n.1, p.23-30, 2001.
- 174 SCHUEPBACH, P.; KREJCI, I.; LUTZ, F. The resin-dentin hybrid layer: comparative SEM, TEM, and confocal microscopic examination. **J Dent Res**, v.73, sp.iss., p.107, 1994. (Abstracts 1188).
- 175 SPENCER, P.; WANG, Y. Self-etching adhesives: conversion at the dentin interface and within the tubule. **J Dent Res**, v.81, Sp.Iss. A, p.A 469, 2002 (Abstract 3831).
- 176 STINSON, A.W; CALHOUN, M.L. Sistema digestivo. In: DELLMANN, H.D.; BROWN, E.M. **Histologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1982. p.164-73.
- 177 SUNDFELD, R.H. ET AL. Avaliação clínico/microscópica da camada híbrida de adesão e dos prolongamentos resinosos (tags) em tecido dentinário condicionado- efeitos de materiais, técnicas de aplicação e de análise. **JBD**, v.1, n. 4, p. 315-31, out/dez, 2002.
- 178 SWIFT JUNIOR, E.J.; PERDIGÃO, J.; HEYMANN, H.O. Bonding to enamel and dentin: a brief history and state of the art, 1995. **Quintessence Int**, v.26, n.2, p.95-110, 1995.

- 179 SYDNEY-ZAX, M.; MAYER, I.; DEUTSCH, D. Carbonate content in developing human and bovine enamel. **J Dent Res**, v.70, n.5, p.913-6, May 1991.
- 180 SYMPOSIUM GENERATION DENTAL ADHESIVES, 5, 1995, Rancho Bernardo. **Proceedings of a symposium on 5th generation dental adhesives**, Itasca: Bisco, 1995. sec1, p.1 – sec.13, p.6.
- 181 TAGAMI, J.; TAO, L.; PASHLEY, D.H. Correlation among dentin depth, permeability, and bond strength of adhesive resins. **Dent Mater**, v.6, p.45-50, Jan. 1990.
- 182 TAGAMI, J. et al. The permeability of dentine from bovine incisors *in vitro*. **Archs Oral Biol**, v.34, n.10, p.773-7, 1989.
- 183 TAGAMI, J. et al. Effect of aging dentin bonding. **Am J Dent**, v.6, p.145-7, June 1993.
- 184 TAKEMORI, T. et al. Factors affecting tensile bond strength of composite to dentin. **Dent Mater**, v.8, p.136-8, Mar. 1993.
- 185 TANAKA, J.; NAKAI, H. Application of root canal cleaning agents having dissolving abilities of collagen to the surface treatment for enhanced bonding of resin to dentin. **Dent Mater J**, v.12, n.2, p.196-208, 1993.
- 186 TAO L.; PASHLEY, D.H. Shear bond strengths to dentin: effects of surface treatments, depth and position. **Dent Mater**, v.4, p.371-8, 1988.

- 187 TAO, L.; PASHLEY, D.H. The relationship between dentin bond strengths and dentin permeability. **Dent Mater**, v.5, n.2, p.133-9, Mar. 1989.
- 188 TAO L.; PASHLEY, D.H. Dentin perfusion effects on the shear bond strengths of bonding agents to dentin. **Dent Mater**, v.5, n.3, p.181-4, May. 1989.
- 189 TAY, F.R; PASHLEY, D.H. Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: depth of penetration beyond dentin smear layers. **Dent Mater**, v.17, n.4, p.296-308, July 2001.
- 190 TAY, F.R; PASHLEY, D.H. Water treeing - A potential mechanism for degradation of dentin adhesives. **Am J Dent**, v.16, n.1, p.6-12, Feb. 2003.
- 191 TAY, F.R.; GWINNETT, A.J.; WEI, S.H.Y. The overwet phenomenon: a scanning electron microscopic study of surface moisture in the acid-conditioned, resin-dentin interface. **Am J Dent**, v.9, n.3, p.100-4, June 1996.
- 192 TAY, F.R.; GWINNETT, A.J.; WEI, S.H.Y. Micromorphological spectrum from overdrying to overwetting acid-conditioned dentin in water-free, acetone-based, single-bottle primers/adhesives. **Dent Mater**, v. 12, p. 236-44, July 1996.
- 193 TAY, F.R.; GWINNETT, A.J.; WEI, S.H.Y. Micromorphological spectrum of acid-conditioned dentin following the application of a water-based adhesive. **Dent Mater**, v.14, p.329-38, Sept. 1998.

- 194 TAY, F.R.; PASHLEY, D.H.; PETERS, M.C. Adhesive permeability affects composite coupling to dentin treated with a self-etch adhesive. **Oper Dent**, v.28, n.5, p.610-21, 2003.
- 195 TAY, F.R. et al. Micromorphologic relationship of the resin-dentin interface following a total-etch technique *in vivo* using a dentinal bonding system. **Quintessence Int**, v.26, n.1, p.63-70, 1995.
- 196 TAY, F.R. et al. Resin permeation into acid-conditioned, moist and dry dentin: a paradigm using water-free adhesive primers. **J Dent Res**, v.75, n.4, p.1034-44, Apr. 1996.
- 197 TAY, F.R. et al. Bonding of a self-etching primer to non-cariou cervical sclerotic dentin: interfacial ultrastructure and microtensile bond strength evaluation. **J Adhes Dent**, v.2, n.1, p.9-28, *Spring* 2000.
- 198 TAY, F.R. et al. Single-step adhesives are permeable membranes. **J Dent**, v.30, p.371-82, 2002.
- 199 TAY, F.R. et al. Single-step, self-etch adhesives behave as permeable membranes after polymerization. Part I. Bond strength and morphologic evidence. **Am J Dent**, v.17, n.4, p.271-8, Aug. 2004.
- 200 TAY, F.R. et al. Single-bottle adhesives behave as permeable membranes after polymerization. I *In vivo* evidence. **J Dent**, v.32, n.8, p.611-21, Nov. 2004.
- 201 TITLEY, K. et al. The morphology of the demineralized layer in primed dentin. **Am J Dent**, v.7, n.1, p.22-6, Feb. 1994.

- 202 TITLEY, K. et al. Penetration of a dentin bonding agent into dentin. **Am J Dent**, v.7, n.4, p.190-4, Aug. 1994.
- 203 TITLEY, K.C. et al. The effect of various storage methods and media on shear-bond strengths of dental composite resin to bovine dentine. **Arch Oral Biol**, v.43, p.305-11, 1998.
- 204 TOBA, S. et al. Micro-shear bond strengths of adhesive resins to coronal dentin versus the floor of the pulp chamber. **Am J Dent**, v.16, Sp.Iss., p.51A-56A, Sept. 2003.
- 205 TOLEDANO, M. et al. Influence of self-etching primer on the resin adhesion to enamel and dentin. **Am J Dent**, v.14, p.205-10, 2001.
- 206 TOLEDANO M.; et al. Microtensile bond strength of several adhesive systems to different dentin depths. **Am J Dent**, v.16, n.5, p.292-8, Oct. 2003.
- 207 TONAMI, K. Effect of storage on tensile strength of bovine dentin. **J Dent Res**, v.75, Sp.Iss., p.288, 1996. (Abstract 2161).
- 208 TORII, Y. et al. Effect of phosphoric acid etching prior to self-etching primer application on adhesion of resin composite to enamel and dentin. **Am J Dent**, v.15, n.5, p.305-8, Oct. 2002.
- 209 TORII, Y. et al. Effect of self-etching primer containing N-acryloyl aspartic acid on enamel adhesion. **Den Mater** , v.19, n.5, p.253-58, 2003.

- 210 TORRES, C.R.G.; ARAÚJO, M.A.M. Adesivos de quinta geração – condicionamento ácido total X *primers* autocondicionantes. **J Bras Clin**, v.4, n.20, p.52-60, 2000.
- 211 TORRES, C.R.G.; ARAÚJO, M.A.M.; TORRES, A.C.M. Effects of dentin collagen removal on microleakage of bonded restorations. **J Adhes Dent**, v.6, n.1, p.33-42, 2004.
- 212 TRONSTAD, L. Scanning electron microscopy of attrited dentinal surfaces and subjacent dentin in human teeth. **Scand J Dent Res**, v.81, p.112-22, 1973.
- 213 Unidades Legais de Medir. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/cs_unidades.htm. Acesso em 23 ago 2000.
- 214 UNO, F.; FINGER, W.J. Effects of acidic conditioners on dentine demineralization and dimension of hybrid layers. **J Dent**, v.24, n.3, p.211-6, 1996.
- 215 VAN MEERBEEK, B. et al. Factors affecting adhesion to mineralized tissues. **Oper Dent**, Suppl.5, p.111-24, 1992.
- 216 VAN MEERBEEK, B. et al. Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems. **J Dent Res**, v.71, v.8, p.1530-40, Aug. 1992.
- 217 VAN MEERBEEK, B. et al. Comparative SEM and TEM examination of the ultrastructure of the resin-dentin interdiffusion zone. **J Dent Res**, n.72, v.2, p.495-501, Feb. 1993.

- 218 VAN MEERBEEK, B. et al. Assessment by nano-indentation of the hardness and elasticity of the resin-dentin bonding area. **J Dent Res**, v.72, n.10, p.1434-42, Oct. 1993.
- 219 VAN MEERBEEK, B. et al. Clinical status of ten dentin adhesive systems. **J Dent Res**, v.73, n.11, p.1690-702, Nov. 1994.
- 220 VAN MEERBEEK, B. et al. Morphological characterization of the interface between resin and sclerotic dentine. **J Dent**, v.22, n.3, p.141-6, 1994.
- 221 VAN MEERBEEK, B. et al. Correlative transmission electron microscopy examination of nondemineralized and demineralized resin-dentin interfaces formed by two dentin adhesive systems. **J Dent Res**, n.75, v.3, p.879-88, Mar. 1996.
- 222 VAN MEERBEEK, B. et al. Microscopy investigations. Techniques, results, limitations. **Am J Dent**, v.13. Sp.Iss., p. 3D-18D, November, 2000.
- 223 VAN MEERBEEK, B. et al. Adhesives and cements to promote preservation dentistry. **Oper Dent**, Suppl. 6, p.119-44, 2001.
- 224 VAN MEERBEEK, B. Et al. Technique-sensitivity of contemporary adhesives. **Dent Mater J**, v.24, n.1, p.1-13, Mar. 2005. Medline. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/pubmed/>. Acesso em: 20/04/2005. (Abstract)
- 225 VARGAS, M.A.; COBB, D.S.; ARMSTRONG, S.R. Resin-dentin shear bond strength and interfacial ultrastructure with and without a hybrid layer. **Oper Dent**, v.22, p.159-66, 1997.

- 226 WALKER, M.P.; WANG, Y.; SPENCER, P. Morphological and chemical characterization of the dentin/resin cement interface produced with a self-etching primer. **J Adhes Dent**, v.4, n.3, p.181-9, 2002.
- 227 WALSHAW, P.R.; McCOMB, D. SEM evaluation of the resin-dentin interface with proprietary bonding agents in human subjects. **J Dent Res**, v.73, n.5, p.1079-87, May 1994.
- 228 WANG, T.; NAKABAYASHI, N. Effect of 2-(Methacriloxy) Ethyl Phenyl phosphate on adhesion to dentin. **J Dent Res**. v.70, n.1, p.59-66, Jan. 1991.
- 229 WATANABE, I. Photocure bonding agents to ground dentin. **J Jpn Dent Mater**, v.11, p.955-73, 1992 apud NAKABAYASHI, N. PASHLEY, D.H. **Hibridization of Dental Hard tissues** 1ed., Tokio: Quintessence Books, 1998, 129p.
- 230 WATANABE, I.; NAKABAYASHI, N. Bonding durability of photocured phenyl-P in TEGDMA to smear layer-retained bovine dentin. **Quintessence Int**, v.24, n.5, p.335-42, 1993.
- 231 WATANABE, I.; NAKABAYASHI, N.; PASHLEY, D.H. Bonding to ground dentin by a phenyl-P self-etching primer. **J Dent Res**, v.73, n.6, p.1212-20, June 1994.
- 232 WATANABE, I.; NIKAIDO, T.; NAKABAYASHI, N. Effect of adhesion promoting monomers on adhesion to ground dentin. **J Jpn Dent Mater**, v.9, p.888-93, 1990 apud Nakabayashi, N.Pashley, D.H.

Hibridization of Dental Hard tissues, Tokio: Quintessence Books, 1998. 129p.

- 233 WILSON, N.H.F. Direct adhesive materials: current perceptions and evidence – future solutions. **J Dent** , v.29, p.307-19, 2001.
- 234 WON-SUCK, O.; et al. Wetting characteristic of ceramic to water and adhesive resin. **J Prosthet Dent**, v.88, p. 616-21, 2002.
- 235 YAMAMOTO, K. et al. Bond durability of 3-step & 2-step dentin bonding systems. **J Dent Res**, v.79, Sp Iss., p.453, 2000. (Abstract 2473).
- 236 YOSHIDA et al. Adhesion to and decalcification of hydroxyapatite by carboxylic acids. **J Dent Res**, v. 80, n. 6., p. 1565-9, 2001.
- 237 YOSHIYAMA, M. et al. Interfacial morphology and strength of bonds made to superficial versus deep dentin. **Am J Dent**, v.8, p.297-302, 1995.
- 238 YOSHIYAMA, M. et al. Regional strengths of bonding agents to cervical sclerotic root dentin. **J Dent Res**, v.75, p.1404-13, 1996.
- 239 YOUNGSON, C.C.; GREY, N.J.A. An *in vitro* comparative analysis: scanning electron microscopy of dentin/restoration interfaces. **Dent Mater**, v.8, p.252-58, July 1992.
- 240 ZUANON , A.C.C.; PANSINI, C.A.; CILENSE, M. Estudo comparativo *in vitro* entre dois selantes fotopolimerizáveis com e sem carga, quanto à umectabilidade e penetração no esmalte de dentes

decíduos, após diferentes tempos de condicionamento ácido. Ver ABO, v. 9, n. 2, p.118-23, Abril/maio, 2001.

GONÇALVES, S.E.P. Human and bovine dentin – comparative study: of physical proprieties and hybridization characteristics of non-modified and Grander modified adhesive systems: SEM analysis. 2005. 327f. Tese (Livre-Docência em Odontologia Restauradora: Dentística) - Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José dos Campos, 2005.

ABSTRACT

A long-lasting adhesion is still one of the biggest challenges of the modern Dentistry. A new approach to reaching the equilibrium of the adhesion to the dental tissues emerges based on the observation of the results obtained with the Grander Technology for revitalizing water. The aim of this study was to verify the influence of this technology on the physical properties of two adhesive systems (conventional and self-etching) through the measurement of the surface tension and of the contact angle and through the evaluation of the formed hybrid layer in human and bovine dentin. The surface tension of four different liquids (water, Single Bond – 3M, Clearfil SE primer – Kuraray and Clearfil SE bond – Kuraray) was measured before and after submitting these liquids to the Grander modifying unit, with the aid of a goniometer (Ramé-hart). The measurement of the contact angle of the liquids followed the same procedure using three distinct surfaces: titanium plate, human dentin and bovine dentin. The hybrid layer formed for both: non-modified and Grander modified adhesive systems, was evaluated in SEM. For this purpose human and bovine dentin samples were prepared. The teeth were fixed in acrylic resin and the dentin surfaces exposed and finished with various grit polishing paper discs. These dentin surfaces were then treated with the adhesive procedures (normal and Grander modified), before the placement of a double composite resin layer (Z250- 3M). After storage at 37°C for 24h, the SEM analysis were conducted. The data were submitted to ANOVA and Turkeys test 5%. The results showed statistically significant reduction for the surface tension of all liquids modified by the Grander technology, as well as for the contact angle in the human dentin. Statistically significant were also the results showing a thicker hybrid layer formation with the two adhesive systems when modified by the Grander technology. The observation of higher values of thickness of the hybrid layer was verified for the conventional adhesive system when comparing to the self-etching adhesive system, in all situations.

KEY WORDS: *Self-etching adhesive, conventional adhesive, dentin, contact angle, surface tension, hybridization.*