



UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Faculdade de Odontologia de Araraquara

**HÉRICA ADAD RICCI**

**Influência do substrato, dentes decíduos e permanentes, e da aplicação de clorexidina na resistência de união de sistemas adesivos à dentina**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista, como pré-requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas, Área de concentração: Odontopediatria.

Orientadora: Prof<sup>ca</sup>. Dr<sup>a</sup>. Josimeri Hebling

**Araraquara**

**- 2008 -**

**Ricci, Hérica Adad.**

**Influência do substrato, dentes decíduos e permanentes, e da aplicação de clorexidina na resistência de união de sistemas adesivos à dentina / Hérica Adad Ricci. – Araraquara: [s.n.], 2008.**

**116 f.; 30 cm.**

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientadora : Profa. Dra. Josimeri Hebling

1. Adesivos dentinários
  2. Dentina
  3. Resistência à tração
  4. Clorexidina
  5. Dente decíduo
  6. Dente permanente.
- I. Título

**HÉRICA ADAD RICCI**

**INFLUÊNCIA DO SUBSTRATO, DENTES DECÍDUOS E PERMANENTES, E  
DA APLICAÇÃO DE CLOREXIDINA NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO DE  
SISTEMAS ADESIVOS À DENTINA**

**COMISSÃO JULGADORA**

**DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE**

Presidente e Orientador: Profa. Dra. Josimeri Hebling

2<sup>o</sup> Examinador: Profa. Dra. Regina Maria Puppim Rontani

3<sup>o</sup> Examinador: Profa. Dra. Angela Cristina Cilense Zuanon

Araraquara, 31 de julho de 2008

## Hérica Adad Ricci

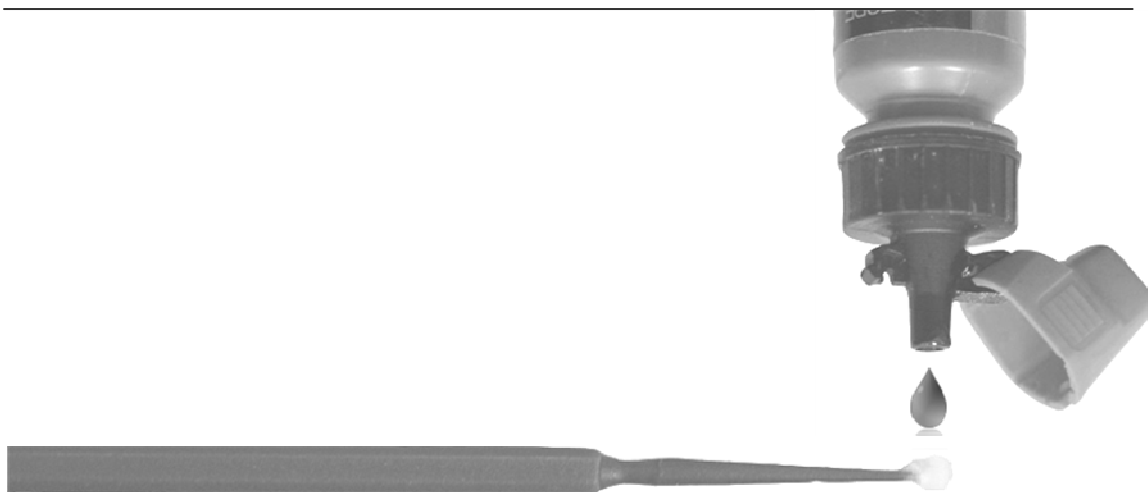
### DADOS CURRICULARES

<b>Nascimento</b>	20/ 01/ 1982, São Carlos, SP
<b>Filiação</b>	Humberto Paulo Ricci Sandra Adad Ricci
<b>2001a 2004</b>	Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Araraquara - FOAr - UNESP
<b>2005</b>	Estágio de Aperfeiçoamento em Urgência em Odontopediatria pela Faculdade de Odontologia de Araraquara - FOAr - UNESP
<b>2006 a 2008</b>	Curso de Pós Graduação em Ciências Odontológicas, Área de Concentração Odontopediatria, nível Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara - FOAr – UNESP

“Eu te agradecerei, Senhor, de todo meu coração. Louvarei o Teu nome diante de reis e autoridades da terra. Eu me curvarei e Te louvarei por causa do Teu imenso amor e da Tua fidelidade. Sim, as Tuas promessas são garantidas pela honra do Teu nome. Quando orei pedindo a Tua ajuda, Tu me respondeste e deste novas forças ao meu coração.

Ó Senhor, todos os líderes da terra Te darão graças quando entenderem a Tua palavra e louvarão, cantando os Teus planos perfeitos porque a glória do Senhor é grande! E no entanto, apesar de ser grande e poderoso o Senhor é meu amigo. Se estou cercado de problemas, Tu me dás novas forças para vencer e lutar com o Teu poder contra aqueles que querem meu mal. O Senhor cumprirá perfeitamente todos os Teus planos a meu respeito!

Ó Senhor! Teu amor cuidadoso e fiel dura para sempre; por isso eu Te peço, não me abandones porque Tu me criaste!”



## Dedicatória

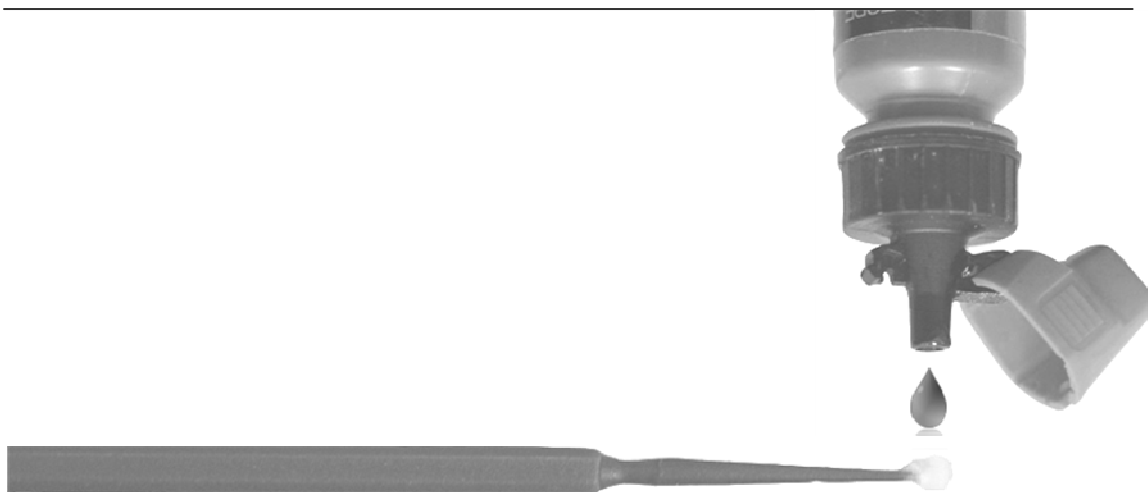


À minha orientadora, Profa. Dra. Josimeri Hebling, grande exemplo de dedicação à pesquisa e honestidade. Muito obrigada pelos seus ricos ensinamentos, pela amizade, por ajudar-me sempre e nunca medir esforços para que tudo ocorresse da melhor forma durante a construção deste trabalho.

Não tenho como retribuir tudo o que a sra. fez por mim.

Que Deus lhe abençoe.

Aos cirurgiões dentistas de nosso país, deixo a minha contribuição.



## **Agradecimentos Especiais**





Ao meu querido esposo Netto, por seu eterno incentivo, amor, carinho, muita paciência e por entender as inúmeras vezes que estive ausente. Muito obrigada por estar sempre ao meu lado e por me fazer tão feliz.

Ao meu pai, Humberto, pelo exemplo profissional, por estar disposto a me ajudar a todo instante e melhor ainda é ter a certeza de saber que posso contar sempre. Obrigada por me educar para a vida e mais importante, para a eternidade.

À minha mãe, Sandra, por me ensinar a batalhar, corajosamente, pelos meus sonhos. Isso não é tão fácil para mim quanto vejo ser para a sra., afinal sempre a vi batalhar pelos filhos sem nunca desanimar por piores que fossem as dificuldades. Obrigada por tudo.

Ao meu irmão Weber, por seu meu eterno professor e sem dúvida alguma a minha fonte de inspiração. Muito obrigada pela atenção, paciência e pela disposição em me ensinar sempre. Agradeço também a Gi, pela amizade sincera e por ser uma grande irmã.

Ao meu irmão Heddíe, que mesmo um pouco distante, está sempre presente no meu coração e nas minhas orações.

Aos meu avós, Nestor, Benedicta e Nadedged. Exemplos vivos de que a vida é uma longa lição de humildade.

Aos meus tios e primos, pois sei que estão sempre torcendo pelos meus sonhos.

Aos meus sogros, Vavau e Waldete, e a minha cunhada Amanda. Obrigada pelo carinho e amor.

À todas as minhas amigas da turma de mestrado, Indri Nogueira, Ana Luísa B. M. de Oliveira, Camila Fávero, Lícia Bezerra e Elcilaine Azevedo. Obrigada pela amizade, pelo carinho, pelo convívio e por estarem presentes em tantos momentos inesquecíveis da minha vida.

À querida Profa. Dra. Elisa, pelo exemplo de dedicação e simplicidade. Muito obrigada pelo carinho, atenção e amizade.

À amiga Emi, que muito colaborou para a realização deste trabalho. Muito obrigada pela amizade sincera e por estar sempre disposta a me ajudar.

À amiga Jack, por também me acolher tantas e tantas vezes aqui em Araraquara. “Sem palavras para lhe agradecer”.

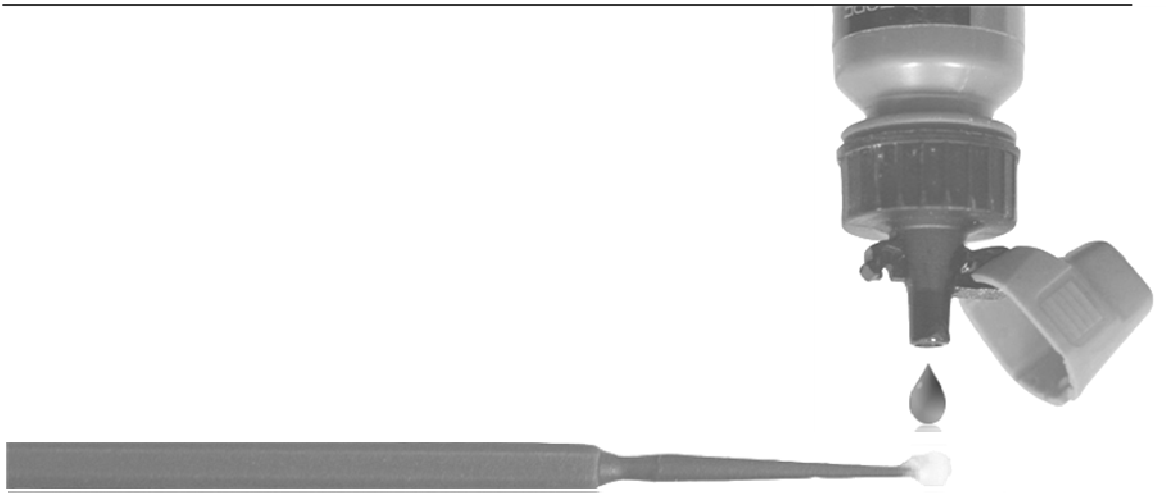
Ao Prof. Dr. Carlos Alberto, colaborador deste trabalho. Obrigada por sempre disponibilizar o laboratório e muito obrigada pelo convívio e carinho concedido, juntamente com a tia Jô.

À querida e amiga Profa. Dra. Patrícia Petronilli Nordi Sasso Garcia, por ser uma grande amiga, pelos conselhos, pelas caronas e pelas alegrias compartilhadas. Você é muito especial para mim. Obrigada por tudo!

Ao meu eterno “diretor”, Prof. Dr. Welington Dinelli. Muito obrigada pelo carinho e pela confiança depositada em mim.

À minha companheira de docência e que se tornou uma grande amiga Profa. Dra. Jaqueline Braga Barbosa Cerqueira Leite. Muito obrigada pelo apoio constante, pelos ensinamentos e exemplos.

Aos colegas da pós-graduação. Obrigada pela amizade, pelo convívio e ajuda nos momentos em que precisei.



## **Agradecimentos**



À Faculdade de Odontologia de Araraquara – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, representados pelo digníssimo diretor Prof. Dr. José Cláudio Martins Segalla e pela vice-diteta, Andréia Affonso Barretto Montandon.

Aos professores da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araraquara –FOAr –UNESP, Profa. Dra. Angêla Cristina Cilense Zuanon, Prof. Dr. Cyneu Aguiar Pansani, Profa. Dra. Elisa Maria Aparecida, Prof. Dr. Fábio César de Abreu-e-Lima, Profa. Dra. Josimeri Hebling, Profa. Dra. Lourdes Aparecida Martins dos Santos-Pinto e Profa. Dra. Rita de Cássia Loiola Cordeiro, meu respeito e gratidão pelos ensinamentos e pela convivência agradável.

À ex-coordenação do programa de Pós-graduação em Ciências Odontológicas – Área de concentração Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr – UNESP, representada pela Profa. Dra. Rita de Cássia Loiola Cordeiro e pelo vice-coordenador Prof. Dr. Dirceu Barnabé Raveli e a atual coordenação representada pela Profa. Dra. Josimeri Hebling e pelo vice-coordenador Prof. Dr. Osmir Batista de Oliveira Junior.

Aos professores da Disciplina de Matérias Dentárias Prof. Dr. Luís Geraldo Vaz, Prof. Dr. Carlos Alberto dos Santos Cruz, Prof. Dr. Gelson Luis Adabo, Profa. Dra. Renata Garcia Fonseca por disponibilizarem os aparelhos para a realização deste trabalho e pelos conhecimentos transmitidos.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Elliot Watanabe Kitajima e ao Sr. Renato Barbosa Salaroli pertencentes ao Núcleo de Apoio à Pesquisa/ Microscopia Eletrônica Aplicada à Pesquisa Agropecuária – MAP/MEPA, da ESALQ (Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz) da Universidade de São Paulo – USP, pelo auxílio a microscopia eletrônica de varredura.

Ao Laboratório de Patologia Experimental do Departamento de Patologia e Fisiologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, coordenado pelo Prof. Dr.

Carlos Alberto de Souza Costa, pela disponibilidade de sua estrutura física, matérias e equipamentos.

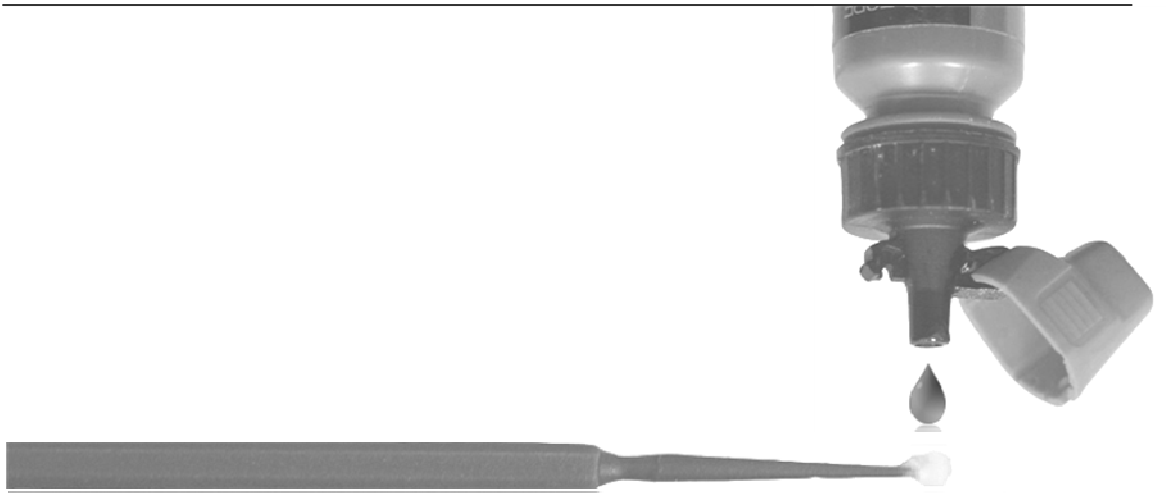
Aos funcionários do Departamento de Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Araraquara - FOAr- UNESP, Cris, Márcia, Tânia, Odete, Dulce, Soninha, Celinha, Pedrinho e Totó, pelo convívio amigável e por me ajudarem sempre que precisei.

Aos funcionários da Pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Araraquara - FOAr- UNESP, Mara , Alexandre, Rosângela e Flávia, pela disposição em servir.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araraquara - FOAr- UNESP, Maria Helena, Marley, Cristina, Ceres, Maria, Silvia, Odete, Eliane, Inês e Adriano. Muito obrigada pela simpatia, pelo carinho, pela atenção e pela ajuda constante.

Aos pacientes que doaram seus dentes, fundamentais para a minha pesquisa, meu profundo respeito.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

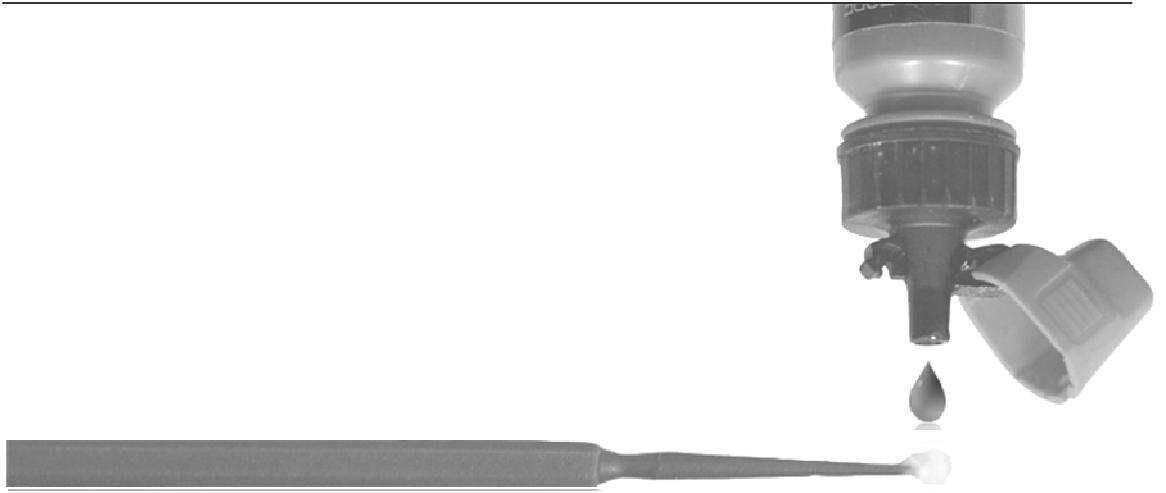


## Sumário



## SUMÁRIO

<b>RESUMO .....</b>	<b>15</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>18</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>21</b>
<b>PROPOSIÇÃO .....</b>	<b>25</b>
<b>ESTUDO 1 .....</b>	<b>27</b>
<b>ESTUDO 2 .....</b>	<b>48</b>
<b>ESTUDO 3 .....</b>	<b>73</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>96</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>101</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>107</b>



## Resumo





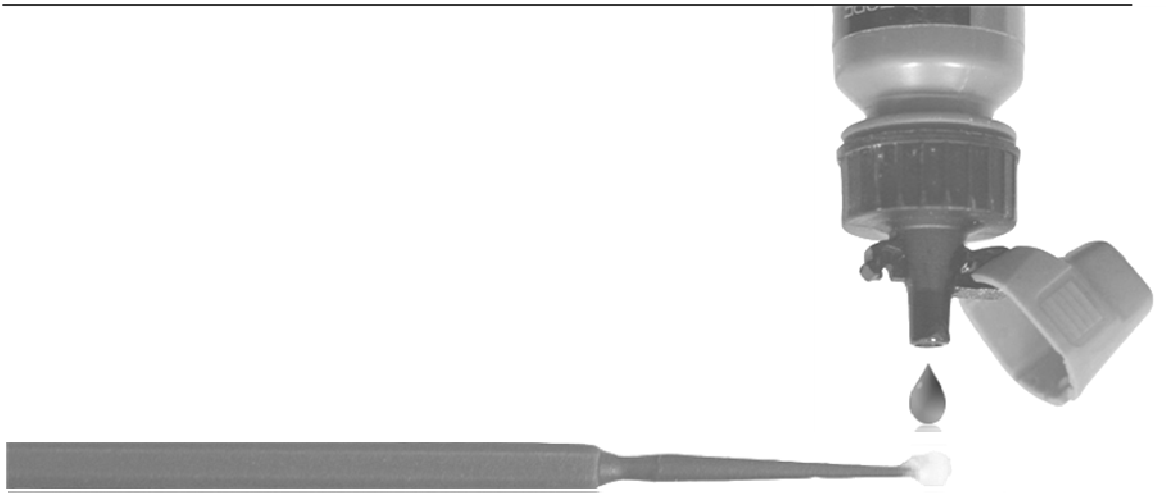
RICCI HA. Influência do substrato, dentes decíduos e permanentes, e da aplicação de clorexidina na resistência de união de sistemas adesivos á dentina. [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2008.

## RESUMO

**Proposição.** O objetivo deste trabalho, dividido em três estudos, foi (1) investigar o efeito do substrato, dentina de dentes decíduos e permanentes, assim como (2) o efeito imediato e (3) em longo prazo, da aplicação de clorexidina pós-condicionamento ácido da dentina na resistência de união (RU) de sistemas adesivos. **Materiais e Métodos.** Nos estudos 1 e 2, realizados in vitro, foram utilizados molares decíduos e pré-molares, divididos em três grupos segundo a aplicação dos sistemas adesivos Prime & Bond NT, Adper Single Bond e Excite DSC. Sobre superfícies planas em dentina, foi realizado o condicionamento com ácido fosfórico a 35% por 15 s, o qual foi removido com lavagem abundante. Após remoção do excesso de umidade, os sistemas adesivos foram aplicados segundo a recomendação dos fabricantes. Apenas para o estudo 2, em 50% dos dentes para cada sistema adesivo foram aplicados 20 µL de clorexidina a 2% por 60 s sobre a dentina condicionada. Seguida à aplicação dos sistemas adesivos, as coroas foram reconstruídas em resina composta. Para o estudo 3, foram selecionados 13 voluntários que apresentavam no mínimo 2 molares decíduos contralaterais com lesão de cárie oclusal, sendo os dentes aleatoriamente designados aos grupos controle ou experimental. Após o preparo cavitário, no grupo controle, 5 µL de água destilada foram aplicados sobre a dentina condicionada com ácido fosfórico, enquanto no grupo experimental foi aplicado o mesmo volume de solução de clorexidina 2%. Os dentes foram restaurados com Prime&Bond NT e resina Z250 e recuperados quando da esfoliação, definindo os períodos de função na cavidade bucal como até 30 dias, de 1 a

5, de 10 a 12 e de 18 a 20 meses. Para todos os experimentos, os dentes foram cortados em espécimes com área transversal aproximada de  $0,81\text{mm}^2$  para realização do ensaio mecânico de microtração. Os dados de RU foram analisados pelos testes de ANOVA e Tukey ( $\alpha=0,05$ ). **Resultados:** Os resultados mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa para os valores de RU nos diferentes substratos (dentina decídua e permanente). Porém, quando da aplicação da clorexidina, esta afetou positivamente ( $p<0,05$ ) a RU produzida pelos adesivos Prime & Bond NT e Single Bond em ambos os substratos enquanto nenhum efeito foi demonstrado para o Excite DSC. Para a análise in vivo, redução significativa da RU foi observada para o grupo controle nos primeiros meses (1-5 meses) enquanto o mesmo foi observado para o grupo experimental apenas a partir do período de 10-12 meses. **Conclusão:** Não houve diferença quanto à RU para os diferentes substratos dentinários e a utilização da clorexidina como coadjuvante no processo de adesão à dentina, além de não interferir negativamente na RU imediata, foi capaz de desacelerar a degradação da interface adesiva nos primeiros meses após o procedimento restaurador.

Palavras-chave: Adesivos dentinários, dentina, resistência à tração, clorexidina, dente decíduo, dente permanente



## **Abstract**



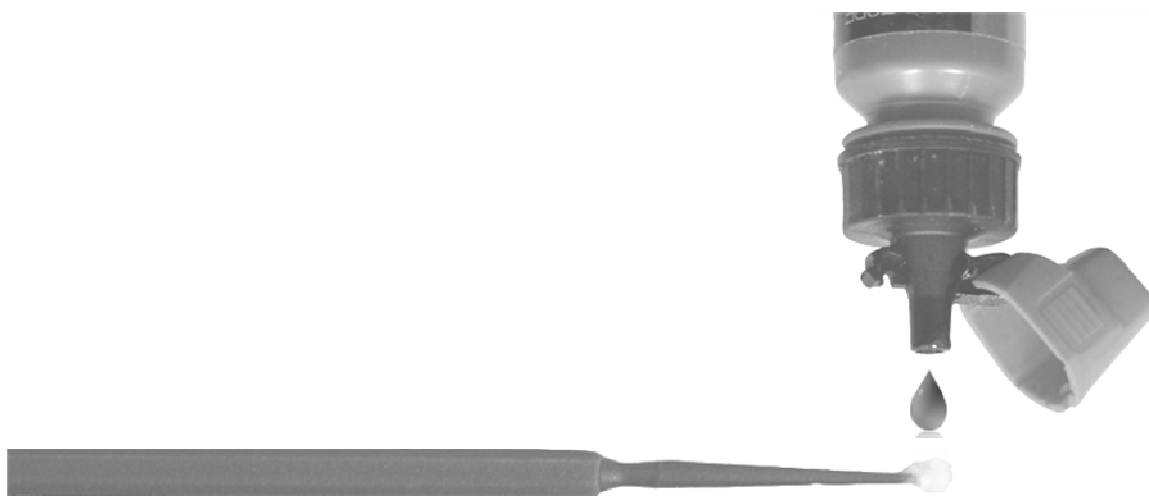
RICCI HA. Influence of the substrate, permanent and primary teeth, and the application of chlorhexidine on the bond strength of adhesive systems to dentin. [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2008.

## **ABSTRACT**

**Purpose:** The aim of this work, divided in three studies, was to investigate (1) the effect of the substrate, dentin of primary and permanent teeth, as well as, (2) the effect of chlorhexidine application after acid etching on the immediate and (3) long-term bond strength of adhesive systems to dentin. **Materials and Methods:** In studies 1 and 2, performed in vitro, primary molars and pre-molars were assigned to three groups according to the adhesive systems Prime & Bond NT, Adper Single Bond and Excite DSC. Flat dentin surfaces were etched with 35% phosphoric acid for 15 s, followed by abundant water rinse. After the removal of the excess of water, the adhesive systems were applied following the manufacturer's instructions. Only in study 2, fifty percent of the teeth for each adhesive system received the application of 2% chlorhexidine for 60 s after acid etching. Following the application of the adhesive systems, the crowns were rebuilt in composite resin. In study 3, thirteen volunteers were included which had at least one pair of primary contralateral molars with occlusal caries lesions. The teeth were randomly assigned into the control or experimental group. After the class I cavity preparation, for the control group, five microliters of distilled water were applied on the phosphoric acid etched dentin, while for the experimental group the same volume of 2% chlorhexidine was used. The cavities were restored with Prime&Bond NT and Z250 resin and the teeth were retrieved after exfoliation defining the periods of function in the oral cavity as up to 30 days, 1-5, 10-12 and 18-20 months. In all studies, the teeth were

cut to produce beams with 0.81 mm<sup>2</sup> cross-sectional area, which were subjected to the microtensile test. Bond strength ( $\mu$ TBS) data were submitted to ANOVA and Tukey statistical tests ( $\alpha=0.05$ ). **Results:** There was no statistically significant difference for  $\mu$ TBS values produced on the different substrates (primary and permanent teeth dentin). The application of chlorhexidine positively affected  $\mu$ TBS of Prime & Bond NT and Single Bond in both substrates while no effect was demonstrated for Excite DSC. For the in vivo analysis, significant reduction in  $\mu$ TBS was observed for the control group in the first 1-5 months whereas the same was observed for the experimental group only after 10-12 months. **Conclusion:** The adhesive systems performed equally well in both substrates, dentin of primary and permanent teeth. The use of chlorhexidine on the demineralized dentin did not negatively interfere with the immediate bond strength and decelerate the resin-dentin bond degradation in the first months after the restorative procedure.

Keywords: Dentin bonding agents, dentin, tensile strength, chlorhexidine, primary tooth, permanente tooth



## **Introdução**



## INTRODUÇÃO

A possibilidade de união de materiais aos substratos dentários e o aprimoramento das técnicas e materiais adesivos tem permitido, entre outros procedimentos, a realização de preparos minimamente invasivos, limitados aos tecidos irreversivelmente afetados. No entanto, enquanto a adesão ao esmalte é mais previsível e confiável (De Munck et al.<sup>11</sup>, 2003; Reis et al.<sup>25</sup>, 2008), a adesão à dentina ainda enfrenta desafios que motivam a produção de inúmeras pesquisas na área. Esses desafios são representados pelas características intrínsecas do substrato, onde se destacam a presença de umidade e heterogeneidade morfológica regional, e condições da cavidade bucal, uma vez que as interfaces adesivas são constantemente sujeitas a variação de temperatura, forças mastigatórias, processos biológicos e reações químicas (De Munck et al.<sup>11</sup>, 2003).

Dentes decíduos e permanentes apresentam diferenças estruturais e químicas que poderiam interferir no desempenho de sistemas adesivos. A área de dentina intertubular é menor em dentes decíduos quando comparada aos dentes permanentes uma vez que apresentam maior densidade de túbulos dentinários (Sumikawa et al.<sup>31</sup>, 1999). A espessura da dentina peritubular dos dentes decíduos pode ser de duas a cinco vezes maior do que a dentina dos permanentes (Hirayama et al.<sup>18</sup>, 1999). O conteúdo mineral

da dentina de dentes decíduos é menor do que o da dentina de dentes permanentes (Angker et al.<sup>1</sup>, 2004) conferindo à dentina dos decíduos uma maior reatividade a soluções acidificadas (Nor et al.<sup>22</sup>, 1996; Nor et al.<sup>23</sup>, 1997). Entretanto, a despeito dessas diferenças, não existe consenso na literatura sobre o desempenho de um mesmo sistema adesivo quando aplicado à dentina de dentes decíduos e permanentes, justificando a realização de novos estudos empregando sistemas adesivos e métodos contemporâneos no sentido de contribuir com tal impasse, e na subsequente definição, se necessários, de protocolos adesivos específicos para os dentes decíduos.

A maior reatividade a substâncias ácidas sugerida para a dentina de dentes decíduos tem sido utilizada como argumento para justificar a formação de camadas híbridas aproximadamente 25-30% mais espessas nos decíduos quando a dentina é condicionada pelo mesmo tempo recomendado para dentes permanentes (Nor et al.<sup>22</sup>, 1996). Considerando-se que camadas híbridas mais espessas podem incorporar um maior número de defeitos intrínsecos (Hashimoto et al.<sup>16</sup>, 2000) e conseqüentemente serem mais susceptíveis a degradação, tem sido sugerida a redução do tempo de condicionamento ácido da dentina para dentes decíduos (Sardella et al.<sup>27</sup>, 2005; Sanabe et al.<sup>26</sup>, 2008).

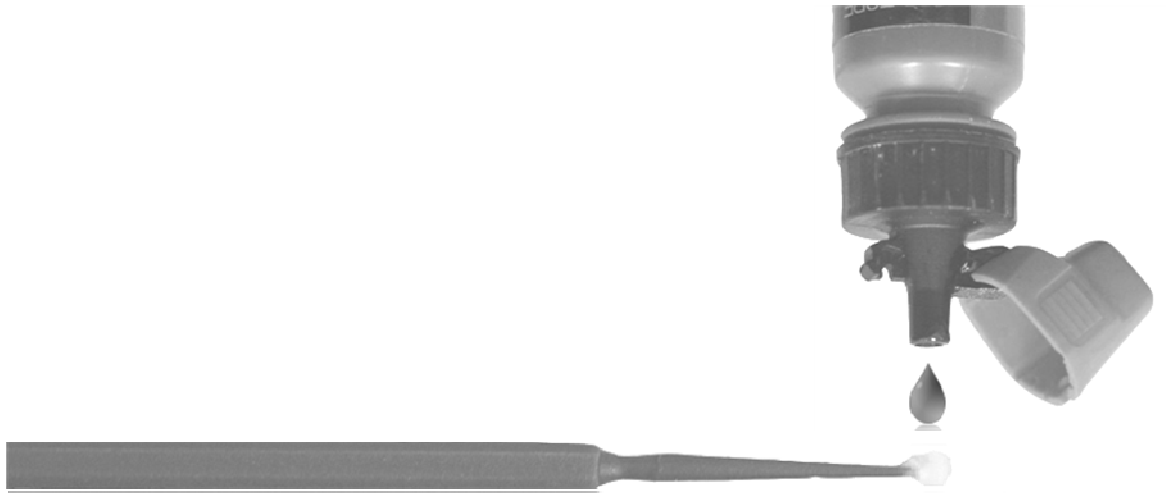
A degradação da interface adesiva ocorre como resultado da ação conjunta da água (degradação hidrolítica) e de enzimas salivares, bacterianas e da própria dentina (degradação enzimática) (Tjaderhane et al.<sup>33</sup>, 1998; Pashley et al.<sup>24</sup>, 2004; Fanchon et al.<sup>14</sup>, 2004). Essas últimas, denominadas de metaloproteinases da matriz dentinária (MMPs) têm sido alvo de vários estudos (Pashley et al.<sup>24</sup>, 2004; Hebling et al.<sup>17</sup>, 2005; Carrilho et al.<sup>7</sup>, 2007; Carrilho et al.<sup>8</sup>, 2007) uma vez que são liberadas da dentina durante sua dissolução pelo condicionador ácido (Pashley et al.<sup>24</sup>, 2004) e ativadas pelos sistemas adesivos aplicados (Mazzoni et al.<sup>21</sup>, 2006). Quando ativadas, são capazes de



degradar constituintes da matriz extracelular, incluindo o colágeno tipo I em sua forma nativa (atividade colagenolítica) ou desnaturada (atividade gelatinolítica) (Birkedal-Hansen et al.<sup>2</sup>, 1995; Chaussain et al.<sup>9</sup>, 2006).

A presença de fibrilas de colágeno expostas na união resina-dentina ocorre como resultado da infiltração incompleta da dentina desmineralizada (Eliades et al.<sup>12</sup>, 2001; Spencer e Wang<sup>30</sup>, 2002; Tay et al.<sup>32</sup>, 1996) ou da degradação do componente resinoso das interfaces pela ação da água em longo prazo (Hashimoto et al.<sup>16</sup>, 2000). Conseqüentemente, a ativação das MMPs no momento do estabelecimento da união adesiva favoreceria sua deterioração, como demonstrado nos estudos de Hebling et al.<sup>17</sup> (2005), Carrilho et al.<sup>8</sup> (2007) e Brackett et al.<sup>4</sup> (2007). Nesses mesmos estudos, entretanto, também foi observada a desaceleração da degradação de camadas híbridas produzidas na presença de clorexidina.

Tem sido demonstrado que a clorexidina apresenta atividade inibitória de MMPs (Gendron et al.<sup>15</sup>, 1999), e sua utilização como coadjuvante nos procedimentos adesivos foi pela primeira vez sugerida por Pashley et al.<sup>24</sup> (2004). Embora alguns estudos já tenham sido desenvolvidos (Hebling et al.<sup>17</sup>, 2005; Carrilho et al.<sup>7</sup>, 2007; Carrilho et al.<sup>8</sup>, 2007; Brackett et al.<sup>4</sup>, 2007), ainda é necessária a consolidação dessa nova proposta, primeiro demonstrando que a aplicação de clorexidina sobre a dentina desmineralizada não interfere na resistência de união imediata de diferentes sistemas adesivos e depois ratificando sua ação em longo prazo na detenção do processo de degradação.



## Proposição



## **PROPOSIÇÃO GERAL**

O presente estudo teve como objetivo avaliar o desempenho da união resina-dentina produzida em dentes decíduos e permanentes com sistemas adesivos convencionais simplificados, assim como a ação da clorexidina como coadjuvante no processo de adesão.

## **PROPOSIÇÕES ESPECÍFICAS**

### **ESTUDO 1**

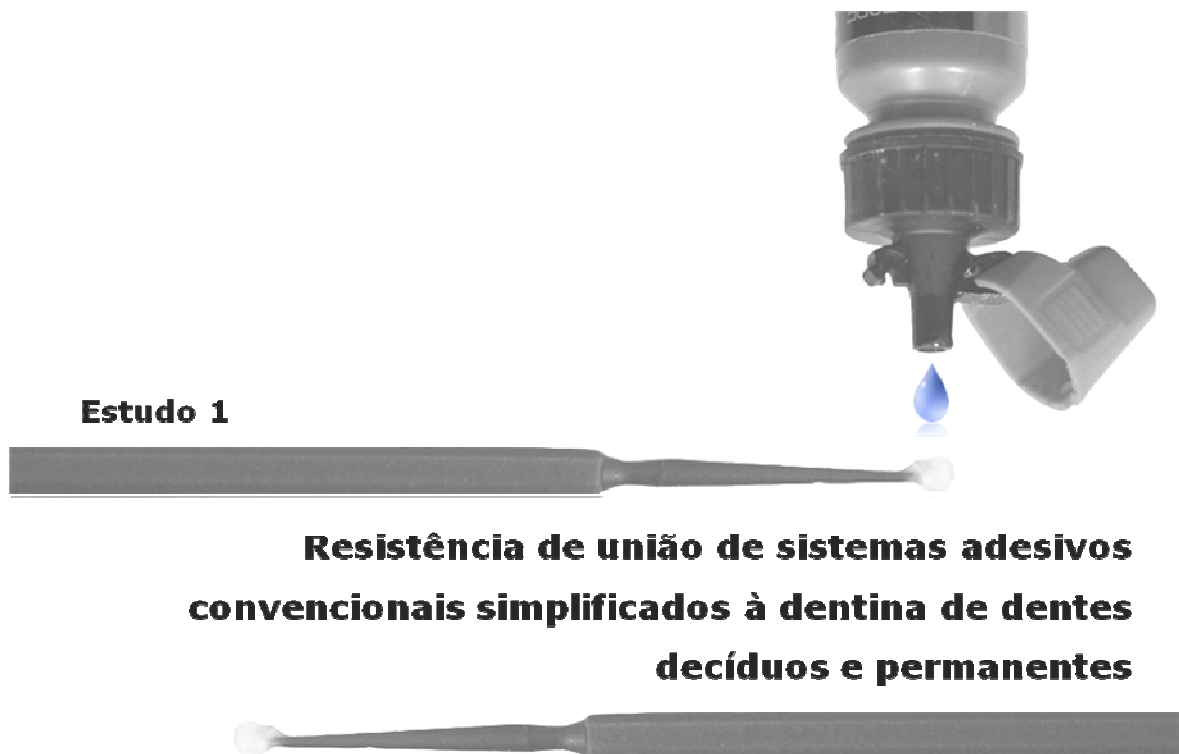
*Comparar in vitro a resistência de união imediata de sistemas adesivos convencionais simplificados à dentina de dentes decíduos e permanentes.*

### **ESTUDO 2**

*Investigar se a aplicação de clorexidina pós-condicionamento ácido interfere na resistência de união imediata de sistemas adesivos convencionais simplificados à dentina decídua e permanente.*

### **ESTUDO 3**

*Avaliar in vivo a estabilidade mecânica da união resina-dentina produzida em dentes decíduos na presença de clorexidina.*



## **RESISTÊNCIA DE UNIÃO DE SISTEMAS ADESIVOS CONVENCIONAIS SIMPLIFICADOS À DENTINA DE DENTES DECÍDUOS E PERMANENTES**

### **Hérica Adad Ricci, DDS**

Pós-graduanda em Odontopediatria, Departamento de Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, São Paulo, Brasil

### **Mariane Emi Sanabe, DDS, MS**

Pós-graduanda em Odontopediatria, Departamento de Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, São Paulo, Brasil

### **Carlos Alberto de Souza Costa, DDS, MS, PhD**

Professor Adjunto, Departamento de Fisiologia e Patologia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, São Paulo, Brasil

### **Josimeri Hebling, DDS, MS, PhD**✉

Professor Adjunto, Departamento de Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, São Paulo, Brasil

✉ **Autor Correspondente:**

Profa. Dra. Josimeri Hebling

Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

Rua Humaitá, 1680

Araraquara, SP, Brasil 14.801-903

e-mail: jhebling@foar.unesp.br

Fone: (16) 3301 6334 Fax: (16) 3301 6329

O artigo foi formatado segundo as normas do periódico *International Journal of Paediatric Dentistry* (junho de 2008)

**Objetivo:** O objetivo deste trabalho foi comparar in vitro a resistência de união (RU) imediata de sistemas adesivos convencionais simplificados à dentina de dentes decíduos e permanentes. **Materiais e métodos:** Foram utilizados 12 molares decíduos e 12 pré-molares divididos em 3 grupos (n=4) segundo a aplicação dos sistemas adesivos Prime & Bond NT, Adper Single Bond e Excite DSC. Sobre superfícies planas de dentina, foi realizado o condicionamento com ácido fosfórico a 35% por 15 segundos, seguido da aplicação dos sistemas adesivos e restauração em resina composta. Os dentes foram seccionados para a obtenção de espécimes com área transversal de 0,81mm<sup>2</sup> para realização do ensaio mecânico de microtração. Os valores de RU foram analisados pela aplicação do teste de ANOVA ao nível de significância de 5%. **Resultados:** Os resultados mostraram que o desempenho dos sistemas adesivos avaliados foi comparável entre eles e equivalentes quando o mesmo sistema foi aplicado à dentina de dentes decíduos e permanentes (p> 0,05). O valor médio de RU produzido pelo sistema

Prime & Bond NT sobre a dentina de dentes permanentes foi de  $41,7 \pm 14,4$  MPa enquanto que para dentes decíduos foi de  $40,8 \pm 13,4$  MPa. Para o sistema Single Bond foi observado um valor médio de RU de  $42,9 \pm 8,6$  MPa e  $41,4 \pm 11,9$  MPa, respectivamente para dentes permanentes e decíduos, enquanto que para o sistema Excite DSC esse valor foi de  $46,3 \pm 11,3$  MPa e  $43,4 \pm 12,0$  MPa. **Conclusão:** Pôde ser concluído que não houve diferença na RU imediata produzida pelos sistemas convencionais simplificados quando aplicados à dentina de dentes decíduos e permanentes.

## INTRODUÇÃO

A adesão à dentina, a despeito de toda a evolução na formulação dos sistemas adesivos, ainda é considerada menos previsível e segura do que a adesão ao esmalte. O desafio imposto pelo substrato dentinário deve-se a sua característica intrinsecamente úmida e heterogeneidade estrutural e composicional<sup>1</sup>, a qual varia regionalmente em um mesmo dente. Essas diferenças se intensificam quando substratos diferentes são comparados, como por exemplo, dentina hígida e afetada por cárie<sup>2</sup> o que também poderia ser esperado para a dentina de dentes decíduos e permanentes.

Os dentes decíduos possuem menor área de dentina intertubular quando comparados aos dentes permanentes, em função de terem maior densidade e diâmetro de túbulos dentinários<sup>3</sup>. Além disso, a espessura da dentina peritubular nos dentes decíduos pode ser de duas a cinco vezes maior que a da dentina permanente<sup>4</sup>. Outra diferença é que a dentina de dentes decíduos tem menor conteúdo mineral do que a dos permanentes<sup>5</sup> o que poderia acarretar em uma menor capacidade tampão e

consequentemente, maior reatividade a soluções acidificadas. Embora não existam estudos que comprovem tal especulação, essa particular diferença tem sido considerada responsável pela formação de camadas híbridas aproximadamente 25-30% mais espessas nos dentes decíduos, quando a dentina é condicionada pelo mesmo tempo recomendado para a dentina permanente<sup>6</sup>.

Estudos comparativos sobre a resistência de união entre a dentina de dentes decíduos e permanentes ainda não apontam em uma única direção, havendo divergência quanto ao desempenho de sistemas adesivos aplicados nesses dois substratos. Enquanto alguns estudos têm demonstrado valores de resistência de união inferiores à dentina decídua<sup>7-9</sup>, outros têm revelado resistência de união similar para ambos os substratos<sup>10-14</sup>. Ainda, Hosoya *et al.*<sup>15</sup> (1997) demonstraram desempenho adesivo superior para a dentina de dentes decíduos em comparação a de dentes permanentes.

Em face da necessidade do estabelecimento de um protocolo adequado de adesão aos dentes decíduos, o objetivo deste trabalho foi comparar *in vitro* a resistência de união imediata de sistemas adesivos convencionais simplificados à dentina de dentes decíduos e permanentes. A hipótese nula investigada foi a de que não existe diferença no desempenho adesivo dos diferentes sistemas quando aplicados aos dois substratos.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Doze molares decíduos e doze pré-molares humanos hígidos foram coletados para este estudo após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP (Protocolo nº. 18/06). Segundo sua categoria (decíduo ou permanente), os dentes foram divididos aleatoriamente em 3 grupos (n= 4) de acordo com a aplicação do sistema adesivo. Os sistemas adesivos selecionados foram Adper Single Bond (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA), Prime & Bond



NT (Dentsply, Milford, DE, EUA) e Excite DSC (Ivoclar Vivadent, Schaan Liechtenstein). Informações sobre os sistemas adesivos e outros materiais usados nesse estudo estão apresentadas na Tabela 1. Devido ao avançado grau de rizólise, a câmara coronária foi preenchida com um primeiro incremento de resina de baixa viscosidade (Filtek Flow, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) pigmentada com mínima quantidade de rodamina B e outros de resina composta híbrida sem rodamina, reproduzindo-se o terço cervical das raízes.

O desgaste da superfície oclusal de todos os dentes foi realizado em politriz (DP 10, Panambra Industrial e Técnica Ltda, São Paulo, Brasil) com lixas de carbetto de silício de granulação 320, a uma velocidade de 500 rpm e refrigeração constante até a obtenção de uma superfície plana de dentina. Após lavagem, com o objetivo de padronizar a formação da smear layer, após o desgaste, todas as superfícies foram lixadas manualmente com lixas de carbetto de silício 320<sup>16</sup> lubrificadas em água, durante 30 segundos.

Sobre a superfície plana de dentina coberta com smear layer, foi realizado o condicionamento com ácido fosfórico 35% (Scotchbond Etchant, 3M EPE, St. Paul, MN, EUA) durante 15 segundos, tanto para os dentes permanentes como para os decíduos. Em seguida, a superfície foi abundantemente lavada com água destilada por 10 segundos e o excesso de água foi removido com papel absorvente para a obtenção de uma superfície úmida.

### **Procedimentos adesivos**

Após o condicionamento ácido, para os sistemas Adper Single Bond e Excite DSC, uma primeira camada de adesivo foi aplicada cobrindo toda a superfície, sujeita a leves jatos de ar (5 segundos a uma distância de 10 cm) para evaporação dos solventes.

Uma segunda camada foi aplicada também submetida a leves jatos de ar e finalmente, fotoativada por 10 segundos. Para o sistema Prime & Bond NT foi aplicada uma primeira camada de adesivo, a qual foi mantida em contato com a dentina por 20 segundos antes da aplicação da segunda camada, então submetida a leves jatos de ar e fotoativada por 10 segundos. Em seguida, uma coroa em resina composta de 3 mm de altura foi confeccionada (Z250, cor A3, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) incrementalmente, sendo cada incremento (1mm) individualmente fotoativado por 20 segundos. Todos os procedimentos envolvendo fotoativação foram realizados com o mesmo aparelho Optilux 500 (Demetron Research Co., Danbury, Connecticut, EUA), cuja intensidade média foi de  $480 \pm 10 \text{ mW/cm}^2$  (Optilux Radiometer, mod.100; Danbury, CT, EUA). Os dentes foram mantidos em estufa a 37 °C por 24 h.

### **Ensaio Mecânico de Microtração**

Os dentes foram fixados em cortadeira metalográfica (ISOMET 1000, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA) para a obtenção de espécimes na forma de palitos com área transversal de secção de aproximadamente  $0,81 \text{ mm}^2$ . A interface adesiva de cada espécime foi cuidadosamente inspecionada em microscópio de luz (modelo SZX 7, Olympus, São Paulo, Brasil ) em aumento de 30X e as defeituosas foram desconsideradas da amostra. Cada espécime foi fixado em um dispositivo para o ensaio mecânico de microtração com cola de cianoacrilato (Super Bonder Gel e Ativador 7456, Henkel Loctile Ltda, São Paulo, SP) e o conjunto acoplado a uma máquina de testes mecânicos (Material Test System, MTS 810; Minneapolis, MN, EUA), previamente ajustada para forças de tração, com célula de carga de capacidade máxima de 1 kN, sendo a velocidade do atuador de 0,5 mm/min.

Imediatamente após o teste, as metades obtidas de cada espécime foram armazenadas em recipientes fechados a temperatura ambiente até o momento da leitura do tipo de fratura em lupa estereoscópica em aumento aproximado de 50X. As fraturas foram classificadas em: coesivas da resina ou dentina, adesivas ou mistas.

### **Microscopia eletrônica de varredura**

Dois dentes adicionais foram preparados para cada grupo como descrito anteriormente e cortados no sentido vestibulo-lingual para a obtenção de espécimes (fatias com 1 mm de espessura, n=2) para a análise da união resina-dentina. Esses espécimes foram embebidos em resina epóxica quimicamente ativada (Epoxicure, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA) e polidos sequencialmente com lixas de carbetto de silício de granulação decrescente (600, 1200 e 2000). Em seguida foram expostos a tratamento com HCl 6 N por 15 segundos<sup>17</sup> e NaOCl 1% por 10 minutos, e desidratados em soluções de concentração crescente de etanol (30%, 50%, 95% por 30 minutos cada, e 100% por 60 minutos). Após a utilização da última solução, os espécimes foram secos por imersão em hexametildisilazano (HMDS, Ted Pella, Redding, CA) por 30 minutos e mantidos em dessecadora a vácuo por 24 horas. Em seguida foram metalizados com ouro e examinados em MEV (LEO 435 VP, Carl Zeiss, Cambridge, Inglaterra).

### **Análise Estatística**

A análise de variância a dois fatores fixos (sistema adesivo e tipo de substrato) foi aplicada ao conjunto de valores de resistência de união (MPa), considerando-se o nível pré-estabelecido de significância de 5% ( $\alpha = 0,05$ ). A análise das fraturas e dos espécimes em MEV foi apenas descritiva.

## **RESULTADOS**

### **Resistência de União**

Cento e quarenta e três espécimes foram obtidos e submetidos ao ensaio mecânico de microtração. A distribuição desses espécimes e os valores de resistência de união produzidos em função do sistema adesivo e substrato (dentina permanente e decídua) estão apresentados na Tabela 2. A aplicação da análise de variância demonstrou que nenhum dos fatores, assim como sua interação, afetou de forma significativa os valores de resistência de união. Dessa forma, o desempenho dos sistemas investigados foi comparável entre eles e equivalente quando o mesmo sistema foi aplicado à dentina de dentes decíduos e permanentes ( $p>0,05$ ). O valor médio de resistência de união produzido pelo sistema Prime&Bond NT sobre a dentina de dentes permanentes foi de  $41,7\pm 14,4$  MPa enquanto que para dentes decíduos foi de  $40,8\pm 13,4$  MPa. Para o sistema Single Bond foi observado um valor médio de resistência de união de  $42,9\pm 8,6$  MPa e  $41,4\pm 11,9$  MPa, respectivamente para dentes permanentes e decíduos, enquanto que para o sistema Excite DSC esse valor foi de  $46,3\pm 11,3$  MPa e  $43,4\pm 12,0$  MPa (Tabela 2).

### **Análise das fraturas**

A frequência absoluta dos tipos de fratura detectados para cada grupo está descrita na Tabela 3. O predomínio das fraturas adesivas foi observado para todos os grupos, independente do sistema adesivo utilizado bem como do tipo de substrato. Nenhum padrão de distribuição dessas fraturas foi observado em função dessas variáveis.

### **Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Fotomicrografias ilustrativas das interfaces produzidas com os sistemas adesivos em dentina de dentes permanentes e decíduos estão apresentadas na Figura 1. Algumas características morfológicas como variação na espessura da camada de adesivo e no número e comprimento dos *tags* de resina foram identificadas, sem, contudo, serem representativas de um único grupo. Não foi possível avaliar a existência de diferenças na espessura da camada híbrida uma vez que essa estrutura não foi claramente visualizada para todos os espécimes examinados em MEV. Entretanto, independentemente do tipo de sistema adesivo e substrato, foi possível identificar claramente a formação de longos *tags* de resina com ramificações laterais, muitos dos quais se apresentaram fraturados devido à perda do suporte dentinário uma vez que a dentina foi removida pelo tratamento HCl/NaClO dos espécimes.

## DISCUSSÃO

Sistemas adesivos convencionais simplificados reduzem o tempo clínico operatório uma vez que associam dois dos três passos cardinais para o estabelecimento da união de materiais poliméricos ao substrato dentinário, (1) criação das vias de difusão (condicionamento dentinário), (2) molhamento da superfície (*primer*) e (3) infiltração monomérica (adesivo). Nesses sistemas *primer* e agente adesivo propriamente dito estão presentes em um único frasco. Apesar dessa simplificação, a resistência de união à dentina desses materiais tem sido comparável a dos sistemas convencionais de três passos<sup>18</sup>. Especialmente em Odontopediatria a simplificação das etapas de aplicação do sistema adesivo possibilita a redução do tempo de execução dos procedimentos restauradores, justificando dessa forma o interesse, no presente estudo, pela investigação da resistência de união desses materiais. Deve ser ressaltado,

entretanto, que a simplificação técnica não deve ser escolhida em detrimento da qualidade funcional e biológica das interfaces produzidas.

As conclusões encontradas na literatura sobre o desempenho de sistemas adesivos aplicados à dentina de dentes decíduos e permanentes não são consensuais. Na verdade, existe uma grande divergência de resultados, ora demonstrando superioridade de resistência de união em dentes permanentes<sup>7-9,11</sup>, ora em dentes decíduos<sup>15</sup> ou mesmo trabalhos demonstrando que o mesmo sistema adesivo apresenta desempenho igualmente satisfatório em ambos os substratos<sup>10,12-14</sup>. Os resultados do presente estudo corroboram com a última condição, uma vez que não foi observada diferença entre os valores de resistência de união produzidos pelos sistemas adesivos investigados quando aplicados à dentina de dentes decíduos e dentes permanentes. Consequentemente, a hipótese nula não foi rejeitada.

Diferenças na composição química e na estrutura da dentina de dentes decíduos e permanentes são consideradas os fatores responsáveis pelo inferior desempenho de sistemas adesivos quando aplicados à dentina decídua<sup>7-9,11</sup>. O menor conteúdo mineral da dentina decídua pode refletir em uma menor capacidade tampão desse tecido quando em contato com substâncias ácidas<sup>6,17,19</sup>. Nör et al.<sup>6</sup> (1996) observaram camadas híbridas 25-30% mais espessas em dentes decíduos quando comparadas as camadas híbridas produzidas pelo mesmo sistema adesivo em dentes permanentes. Burrow *et al.*<sup>12</sup> (2002) também observaram camadas híbridas ligeiramente mais espessas em dentes decíduos. Esses resultados são fundamentados na provável maior reatividade da dentina decídua ao ácido fosfórico em função do seu menor conteúdo mineral, o que resultou em desmineralização mais profunda desse substrato quando o mesmo tempo de condicionamento ácido realizado em dentes permanentes foi utilizado. Infelizmente, por limitações relacionadas à técnica, a camada híbrida só pôde ser claramente visualizada

em alguns espécimes. A espessura dessa estrutura poderia ser uma característica morfológica diferencial entre interfaces produzidas em dentes decíduos e permanentes avaliadas em MEV.

Ainda em relação ao conteúdo mineral, no presente estudo foram utilizados dentes molares decíduos esfoliados comparados a pré-molares extraídos de pacientes entre 12 e 15 anos de idade por indicação ortodôntica. Uma vez que ocorre deposição gradual de minerais nos tecidos dentários em função do tempo<sup>20,21</sup>, pode ser especulado que a diferença no conteúdo mineral entre a dentina de dentes decíduos e permanentes tenha sido minimizada no presente estudo.

Do ponto de vista estrutural, tem sido relatado que dentes decíduos apresentam menor área de dentina intertubular quando comparados aos dentes permanentes, em função de terem maior densidade e diâmetro de túbulos dentinários como descrito por Sumikawa *et al.*<sup>3</sup> (1999). Essa característica poderia afetar de forma significativa o desempenho de sistemas adesivos, como demonstrado em estudos que investigam a influência da profundidade em dentina na resistência de união desses materiais<sup>22,24</sup>. Entretanto, no estudo de Sumikawa *et al.*<sup>3</sup> (1999) foram avaliados apenas dentes decíduos anteriores ficando aqui o questionamento se esses achados poderiam ser extrapolados para os dentes posteriores ou mesmo diretamente comparados a dentes permanentes. Ainda, Koutsi *et al.*<sup>23</sup> (1994) demonstraram resultados opostos aos de Sumikawa *et al.*<sup>3</sup> (1999). Em seu estudo, os autores observaram que a permeabilidade dentinária de molares decíduos foi significativamente menor do que a de dentes pré-molares, fato esse, segundo os autores, resultado de um menor número de túbulos e com menor diâmetro para os dentes decíduos. Esses achados também foram considerados por Nör *et al.*<sup>6,19</sup> (1996 e 1997) para justificar a maior espessura da camada híbrida

produzida em dentes decíduos em comparação à produzida em dentes permanentes quando o mesmo tempo de condicionamento ácido foi utilizado.

No presente estudo, tanto para dentes decíduos como para permanentes, superfícies planas foram produzidas em dentina superficial. Hebling *et al.*<sup>24</sup> (2007) demonstraram efeito significativo da profundidade da dentina na resistência de união de um sistema convencional simplificado apenas na presença de pressão intra-pulpar e ainda, diferença significativa foi observada apenas entre a dentina superficial e profunda. Dessa forma, pode ser sugerido que pequenas diferenças na área superficial de dentina intertubular não tivessem influência significativa no desempenho de sistemas adesivos a ponto de serem detectadas pelo teste mecânico. Isso poderia ser ratificado pelas características das interfaces adesivas avaliadas em MEV. Nenhuma diferença estrutural significativa foi observada quando o mesmo sistema adesivo foi aplicado à dentina de dentes decíduos e permanentes o que também foi demonstrado por Soares *et al.*<sup>14</sup> (2005). Considerando-se os achados de Sumikawa *et al.*<sup>3</sup> (1999), a maior densidade e o maior diâmetro dos túbulos dentinários deveria ser refletido nas imagens em MEV com a formação de um maior número de *tags* por unidade de área e com maior calibre. Nos poucos espécimes avaliados, essas variações não foram observadas. De fato, as Figuras 1a e 1c sugerem uma maior densidade tubular para os dentes permanentes quando comparados com seus contra pares decíduos (Figuras 1b e 1d).

Para que diferenciações nos protocolos de adesão aos substratos dentários de dentes decíduos e permanentes possam ser seguramente estabelecidas, mais estudos são necessários no sentido de clarificar pontos ainda questionáveis sobre a morfologia da dentina decídua e reatividade desse tecido às substâncias ácidas. Existem trabalhos laboratoriais na literatura que sugerem uma redução do tempo de condicionamento ácido da dentina visando favorecer o desempenho imediato<sup>17</sup> e em longo prazo<sup>25</sup> das



interfaces produzidas com sistemas adesivos em dentes decíduos. Entretanto, estudos clínicos longitudinais são ainda necessários para comprovar a eficiência e segurança dessa modificação no protocolo de adesão à dentina decídua.

## **CONCLUSÃO**

A resistência de união dos sistemas adesivos convencionais simplificados foi semelhante quando aplicados à dentina de dentes decíduos e permanentes.

- **O que este artigo adiciona:**

*(What this paper adds)*

Este artigo contribui com a ainda existente controvérsia sobre a efetividade adesiva de sistemas aplicados à dentina de dentes decíduos e permanentes.

- **Por que este artigo é importante para Odontopediatras:**

*(Why this paper is important to Paediatric Dentists)*

Os resultados deste trabalho sugerem que não existe a necessidade de diferenciar os protocolos adesivos utilizados em dentes decíduos e permanentes quando da aplicação de sistemas convencionais simplificados, quanto ao desempenho imediato.

---

## **AGRADECIMENTOS**

Este estudo foi financiado pela FAPESP (processo 06/01781-2). Os autores reconhecem o apoio técnico prestado pelo Dr. Elliot W. Kitajima, diretor do centro de microscopia eletrônica NAP / MEPA (Escola de Agronomia Luiz de Queiróz, ESALQ, USP) e pelo Sr. Renato Barbosa Salaroli.

## **REFERÊNCIAS**

1. Marshall GW Jr, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent.* 1997; 25: 441-458.
2. Nakajima M, Sano H, Urabe I, Tagami J, Pashley DH. Bond strengths of single-bottle dentin adhesives to caries-affected dentin. *Oper Dent.* 2000; 25: 2-10.
3. Sumikawa DA, Marshall GW, Gee L, Marshall SJ. Microstructure of primary tooth dentin. *Pediatr Dent.* 1999; 21: 439-444.

4. Hirayama A, Yamada M, Miake K. An electron microscope study on dentinal tubules of human deciduous teeth. *Shikwa Gakuho*. 1992; 86: 1021-1031. Apud Sumikawa DA et al. Microstructure of primary tooth dentin. *Pediatr Dent*. 1999; 21: 439-444.
5. Angker L, Nockolds C, Swain M, Kilpatrick N. Quantitative analysis of mineral content of sound and carious primary dentine using BSE imaging. *Arch Oral Biol*. 2004; 49: 99-107.
6. Nör JE, Feigal RJ, Dennison JB, Edwards CA. Dentin bonding: SEM comparison of the resin-dentin interface in primary and permanent teeth. *J Dent Res*. 1996; 75: 1396-1403.
7. Bordin-Aykroyd S, Sefton J, Davies EH. In vitro bond strengths of three current dentin adhesives to primary and permanent teeth. *Dent Mater*. 1992; 8: 74-78.
8. Senawongse P, Harnirattisai C, Shimada Y, Tagami J. Effective bond strength of current adhesive systems on deciduous and permanent dentin. *Oper Dent*. 2004; 29: 196-202.
9. Uekusa S, Yamaguchi K, Miyazaki M, Tsubota K, Kurokawa H, Hosoya Y. Bonding efficacy of single-step self-etch systems to sound primary and permanent tooth dentin. *Oper Dent*. 2006; 31: 569-576.
10. Mazzeo N, Ott NW, Hondrum SO. Resin bonding to primary teeth using three adhesive systems. *Pediatr Dent*. 1997; 17: 112-115.
11. El-Kalla IH, Garcia-Godoy F. Bond strength and interfacial micromorphology of four adhesive systems in primary and permanent molars. *J Dent Child*. 1998; 8: 169-176.

12. Burrow MF, Nopnakeepong U, Phrukkanon S. A comparison of microtensile bond strengths of several dentin bonding systems to primary and permanent dentin. *Dent Mater.* 2002; 18: 239-245.
13. Cecilia, CG, Ballesta CG, Lillo OC, Lajarín LP. Shear Bond strength of a self-etching adhesive in primary and permanent dentition. *Am J Dent.* 2005; 18: 331-334.
14. Soares FZ, Rocha Rde O, Raggio DP, Sadek FT, Cardoso PE. Microtensile Bond strength of different adhesive systems to primary and permanent dentin. *Pediatr Dent.* 2005; 27: 457-462.
15. Hosoya Y, Nishigushi M, Kashiwabara Y, Horiuchi A, Goto G. Comparison of two dentin adhesives to primary and permanent bovine teeth. *J Clin Pediatr Dent.* 1997; 22: 69-76.
16. Oliveira SS, Pugach MK, Hilton JF, Watanabe LG, Marshall SJ, Marshall GW Jr. The influence of the dentin smear layer on adhesion: A self-etching primer vs. total-etch system. *Dent Mater.* 2003; 19: 758-767.
17. Sardella TN, de Castro FL, Sanabe ME, Hebling J. Shortening of primary dentin etching time and its implication on bond strength. *J Dent* 2005; 33: 355-362.
18. Wilder AD Jr, Swift EJ Jr, May KN Jr Waddell SL. Bond strengths of conventional and simplified bonding systems. *Am J Dent.* 1998; 11: 114-117.
19. Nör JE, Feigal RJ, Dennison JB, Edwards CA Dentin bonding: SEM comparison of the dentin surface in primary and permanent teeth. *Pediatr Dent.* 1997; 19: 246-252.
20. Porter AE, Nalla RK, Minor A, Jinschek JR, Kisielowski C, Radmilovic V, Kinney JH, Tomsia AP, Ritchie RO. A transmission electron microscopy study of mineralization in age-induced transparent dentin. *Biomaterials.* 2005; 26: 7650-7660.

21. Verdelis K, Lukashova L, Wright JT, Mendelsohn R, Peterson MG, Doty S, Boskey AL. Maturational changes in dentin mineral properties. *Bone*. 2007; 40: 1399-1407.
22. Giannini M, Carvalho RM, Martins LR, Dias CT, Pashley DH. The influence of tubule density and area of solid dentin on bond strength of two adhesive systems to dentin. *J Adhes Dent*. 2001; 3: 315-324.
23. Koutsi V, Noonan RG, Horner JA, Simpson MD, Matthews WG, Pashley DH. The effect of dentin depth on the permeability and ultrastructure of primary molars. *Pediatr Dent*. 1994; 16: 29-35.
24. Hebling J, de Castro FLA, Costa CAS. Adhesive performance of dentin bonding agents applied in vivo and in vitro. Effect of intrapulpal pressure and dentin depth. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2007; 83: 295-303.
25. Sanabe ME, Kantovitz KR, Costa CAS, Hebling J. Effect of acid etching time on the degradation of resin-dentin bonds produced in primary teeth. *Am J Dent*. (aceito para publicação em junho de 2008).

Tabela 1. Nome comercial, fabricante, principais componentes e lote dos materiais utilizados no estudo

Nome comercial	Principais componentes	Lote
Adper Single Bond (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA)	Bis-GMA, HEMA, dimetacrilatos, ácido polialcenóico, iniciadores, água e etanol	4 KE
Prime & Bond NT (Dentsply, Milford, DE, EUA)	Resinas de di e trimetacrilato, sílica coloidal, PENTA, fotoiniciadores, estabilizantes, hidrofloreto de cetilamina, acetona	0503000963
Excite DSC (Ivoclar-Vivadent, Schaan Liechtenstein)	Adesivo: HEMA, dimetacrilatos, acrilato do ácido fosfônico, dióxido de silício, catalisadores, estabilizadores, etanol <i>Microbrush</i> : iniciadores	J04042
Filtek Z250 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA)	Resinas Bis-GMA, UDMA, Bis-EMA, zircônia, sílica	4 BB
Scotchbond Etchant (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA)	Ácido fosfórico 35%	5 EN

Abreviaturas. Bis-GMA: bisfenol-glicidil-dimetacrilato; HEMA: hidroxietil metacrilato; PENTA: dipentaeritritol-pentacrilato éster fosfato; UDMA: uretana dimetacrilato; Bis-EMA: bisfenol-etil-dimetacrilato.

Tabela 2. Resistência de união (MPa) dos sistemas adesivos à dentina de dentes permanentes e decíduos

Substrato	Sistemas adesivos		
	Prime&Bond NT	Single Bond	Excite
Permanente	41,7±14,4 [30]* a**	42,9±8,6 [18] a	46,3±11,3 [17] a
Decíduo	40,8±13,4 [26] a	41,4±11,9 [23] a	43,4±12,0 [29] a

\* valores representam a média±desvio padrão [número de espécimes]

\*\* médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente (ANOVA, p>0,05)

Tabela 3. Distribuição dos tipos de fratura segundo os sistemas adesivos e substrato, dentina de dentes permanentes e decíduos

Sistema adesivo	Substrato			
	Permanentes	n	Decíduos	n
Prime&Bond NT	A*= 26 (86,7%)**	30	A= 23 (88,5%)	26
	CD= 1 (3,3%)		M= 1 (7,7%)	
	CR= 3 (10,0%)		CD= 2 (3,8%)	
Single Bond	A= 15 (83,3%)	18	A= 15 (83,3%)	23
	CD= 1 (5,6%)		M = 2 (8,7%)	
	CR= 2 (11,1%)		CD = 5 (21,7%)	
Excite DSC	A= 14 (70,0%)	17	A= 17 (58,6%)	29
	CD= 3 (15,0%)		M = 1 (3,4%)	
			CD= 9 (31,0%)	
			CR = 2 (6,9%)	

\* A = adesiva; M = mista; CD = coesiva de dentina; CR = coesiva de resina

\*\* frequência absoluta (porcentagem em relação ao total de espécimes, n, do grupo)



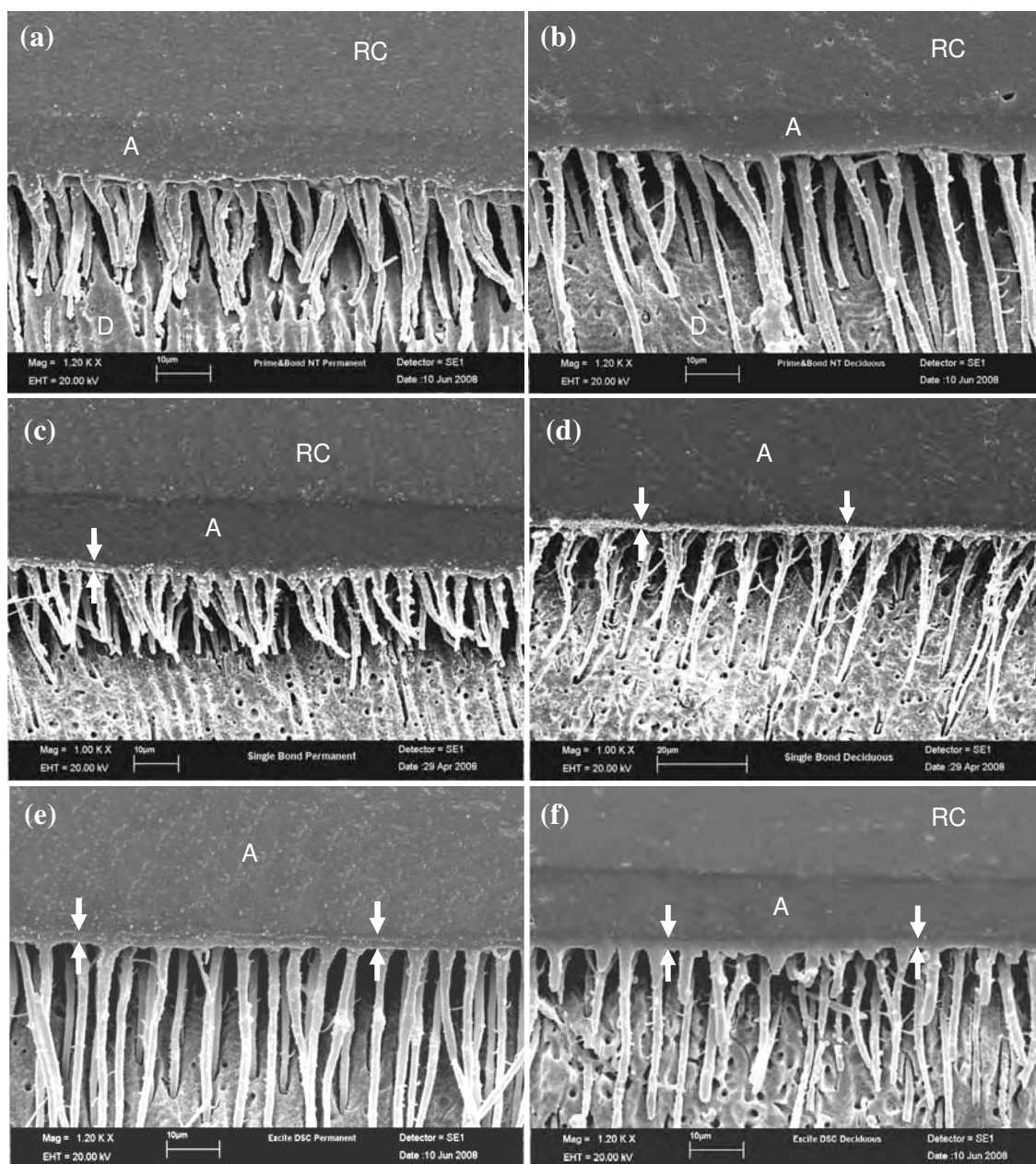


Figura 1. Fotomicrografias em MEV da união resina-dentina produzida em dentes permanentes (imagens da esquerda) e em dentes decíduos (imagens da direita) com os sistemas adesivos Prime & Bond NT (a) (b), Single Bond (c) (d) e Excite DSC (e) (f). Uma grande variação na espessura da camada de adesivo pôde ser observada, enquanto que a camada híbrida só pôde ser claramente identificada em alguns espécimes (entre setas). RC: resina composta; A: camada de adesivo; D: dentina.

## **Estudo 2**

**Influência da aplicação de clorexidina pós-condicionamento ácido na resistência de união imediata de sistemas adesivos à dentina de dentes decíduos e permanentes**



# **INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE CLOREXIDINA PÓS-CONDICIONAMENTO ÁCIDO NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO IMEDIATA DE SISTEMAS ADESIVOS À DENTINA DE DENTES DECÍDUOS E PERMANENTES**

## **Hérica Adad Ricci, DDS**

Pós-graduanda em Odontopediatria, Departamento de Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, São Paulo, Brasil

## **Mariane Emi Sanabe, DDS, MS**

Pós-graduanda em Odontopediatria, Departamento de Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, São Paulo, Brasil

## **Carlos Alberto de Souza Costa, DDS, MS, PhD**

Professor Associado, Departamento de Fisiologia e Patologia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, São Paulo, Brasil

## **Josimeri Hebling, DDS, MS, PhD<sup>✉</sup>**

Professor Associado, Departamento de Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, São Paulo, Brasil

### **✉ Autor Correspondente:**

Profa. Dra. Josimeri Hebling  
Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP  
Rua Humaitá, 1680  
Araraquara, SP, Brasil 14.801-903  
e-mail: jhebling@foar.unesp.br

**Proposição:** O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da aplicação de clorexidina pós-condicionamento ácido da dentina de dentes decíduos e permanentes na resistência de união (RU) de sistemas adesivos convencionais simplificados. **Materiais e métodos:** Foram utilizados 24 molares decíduos e 24 pré-molares, divididos em 3 grupos segundo a aplicação dos sistemas adesivos Prime & Bond NT, Adper Single Bond e Excite DSC. Em 50% dos dentes para cada sistema adesivo, após condicionamento ácido da dentina por 15 segundos, foram aplicados 20 µL de clorexidina a 2% por 60 s e a superfície mantida úmida pela remoção dos excessos com papel absorvente. Os sistemas adesivos foram aplicados seguidos da construção da coroa em resina composta. Espécimes com área transversal de união de 0,81 mm<sup>2</sup> foram obtidos para o ensaio mecânico de microtração e os dados submetidos à análise de variância e Tukey ( $\alpha= 0,05$ ). **Resultados:** A aplicação da clorexidina afetou positivamente a resistência de união produzida pelos adesivos Prime & Bond NT e Single Bond em ambos os substratos (decíduo e permanente) enquanto nenhum efeito foi demonstrado para o Excite DSC.

**Significância clínica:** A aplicação de clorexidina sobre a dentina desmineralizada, objetivando melhorar a longevidade da união resina-dentina, não interfere negativamente no desempenho adesivo imediato de sistemas convencionais simplificados à dentina de dentes decíduos ou permanentes.

## INTRODUÇÃO

A clorexidina tem sido amplamente utilizada na Odontologia, principalmente como um potente agente antimicrobiano.<sup>1</sup> No entanto, tem sido demonstrado que a clorexidina também desempenha um papel importante na inibição de metaloproteínases da matriz dentinária (MMPs).<sup>2-5</sup> Essas proteínas representam uma família de endopeptidases metal-dependentes capazes de degradar componentes da matriz extracelular, incluindo colágeno tipo I, mesmo na sua forma nativa.<sup>6-8</sup> MMPs são produzidas por várias células como fibroblastos e odontoblastos durante a fase de dentinogênese,<sup>9</sup> sendo que ao final da mesma, permanecem aprisionadas no tecido mineralizado em sua forma latente.<sup>10-12</sup> Uma vez que esse tecido sofre desmineralização, quer seja pelo processo cariioso<sup>13</sup> ou pela utilização de agentes ácidos como parte do processo de adesão,<sup>14</sup> as MMPs são liberadas e participam diretamente do processo de degradação do conteúdo orgânico da dentina.

Entre os componentes orgânicos do tecido dentinário, o colágeno tipo I é a proteína mais abundante.<sup>13</sup> Na dentina mineralizada, as fibrilas de colágeno são protegidas da ação enzimática pelo seu envólucro de cristais de hidroxiapatita. Uma vez destituídas dessa proteção, essas fibrilas tornam-se susceptíveis à hidrólise e degradação enzimática mediada pelas MMPs do próprio substrato,<sup>13-15</sup> assim como pelas MMPs salivares e colagenases de origem bacteriana.

A discrepância entre a profundidade de desmineralização ácida da dentina e a infiltração monomérica durante os procedimentos adesivos resulta na manutenção de fibrilas de colágeno expostas na base da camada híbrida. Isso ocorre como resultado conjunto de uma série de fatores tais como a redução gradual dos espaços interfibrilares no sentido da dentina mineralizada, o alto peso molecular e baixa hidrofília de alguns monômeros resinosos presentes nos adesivos dentinários,<sup>16,17</sup> o fenômeno de separação

de fases<sup>17</sup> e o gradiente de umidade da dentina.<sup>18</sup> Além destes fatores imediatos, fibrilas de colágeno podem ser expostas devido à biodegradação, em longo prazo, das interfaces adesivas.<sup>19</sup>

O uso de substâncias sintéticas que mimetizem a ação de inibidores biológicos (TIMPs) e que inativem essas enzimas é uma alternativa para aumentar a estabilidade funcional das interfaces. Tem sido demonstrado que soluções de clorexidina têm capacidade de inibir completamente a atividade de MMP-2 e MMP-9, mesmo em concentrações tão pequenas quanto 0,03%<sup>20</sup> e que sua aplicação sobre a dentina condicionada não influencia negativamente a resistência de união imediata de sistemas adesivos a este substrato.<sup>2,3,4,21,22</sup>

A aplicação de clorexidina sobre a dentina desmineralizada previamente à aplicação de um sistema adesivo convencional simplificado conteve a degradação sub-clínica de camadas híbridas produzidas em dentes decíduos<sup>5</sup> e em dentes permanentes<sup>2</sup> e assegurou a manutenção da resistência de união in vivo por 14 meses.<sup>4</sup> Apesar desses resultados encorajadores em longo prazo, apenas alguns estudos têm investigado a influência da aplicação de clorexidina após o condicionamento ácido na resistência de união imediata de sistemas adesivos,<sup>2-4,21,22</sup> sendo que em nenhum deles foram utilizados dentes decíduos. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência da aplicação pós-condicionamento ácido de clorexidina, como um coadjuvante no processo de adesão à dentina de dentes de decíduos e permanentes. A hipótese nula testada foi a de que o uso de clorexidina não interfere na resistência de união imediata de sistemas adesivos convencionais simplificados à dentina de dentes decíduos e permanentes.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Vinte e quatro molares decíduos e vinte e quatro pré-molares humanos hígidos foram coletados para este estudo após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP (Protocolo n.º. 18/06). Segundo sua categoria (decíduo ou permanente), os dentes foram divididos aleatoriamente em 6 grupos (n= 4) de acordo com o sistema adesivo aplicado e utilização ou não de clorexidina. Os sistemas adesivos selecionados foram Adper Single Bond<sup>a</sup>, Prime & Bond NT<sup>b</sup> e Excite DSC<sup>c</sup> cujos principais componentes estão apresentados na Tabela 1. Devido ao avançado grau de rizólise, a câmara coronária foi preenchida com um primeiro incremento de resina de baixa viscosidade (Filtek Flow<sup>a</sup>) pigmentada com mínima quantidade de rodamina B e outros de resina composta híbrida sem rodamina, reproduzindo-se o terço cervical das raízes.

O desgaste da porção oclusal de todos os dentes até a exposição de uma superfície plana totalmente em dentina foi realizado em politriz (DP 10<sup>d</sup>), com lixas de carbetto de silício de granulação 320, a uma velocidade de 500 rpm e refrigeração abundante. Com o objetivo de padronizar a formação da smear layer, após o desgaste, todas as superfícies foram lixadas manualmente com lixas de carbetto de silício 320<sup>23</sup> lubrificadas em água, durante 30 segundos.

### Procedimentos adesivos

Sobre a superfície plana de dentina coberta com *smear layer* foi realizado o condicionamento com ácido fosfórico 35% (Scotchbond Etchant<sup>a</sup>), durante 15 segundos, tanto para os dentes permanentes como para os decíduos. Em seguida, a superfície foi lavada com água destilada por 10 segundos e secas com papel absorvente para a obtenção de uma superfície úmida. Após o condicionamento ácido, 20 µL de uma solução de clorexidina a 2% (Chlorhexidina 2%<sup>e</sup>), ou 20 µL de água deionizada foram

aplicados nos grupos experimentais e grupos controles, respectivamente, com o auxílio de uma micropipeta, cobrindo toda a superfície de dentina por 60 segundos. Em seguida, os excessos foram removidos com papel absorvente para a manutenção do aspecto úmido.

Os sistemas adesivos foram aplicados segundo as recomendações dos fabricantes. Desta forma, após o condicionamento ácido, duas camadas do sistema Adper Single Bond foram aplicadas cobrindo toda a superfície seguida de leves jatos de ar (5 segundos a uma distância de 10 cm) para evaporação dos solventes e finalmente, fotoativadas por 10 segundos. O mesmo procedimento foi realizado para o sistema Excite DSC. Para o sistema Prime & Bond NT foi aplicada uma primeira camada de adesivo mantido em contato com a dentina por 20 segundos antes da aplicação da segunda camada, a qual foi submetida a leves jatos de ar e fotoativada por 10 segundos.

Em seguida, uma coroa em resina composta (Z250<sup>a</sup>), de 3 mm de altura, foi confeccionada, incrementalmente, sendo cada incremento individualmente fotoativado por 20 segundos. Todos os procedimentos envolvendo fotoativação foram realizados com o mesmo aparelho Optilux 50 (Optilux Radiometer mod.100<sup>f</sup>), cuja irradiância média foi de  $480 \pm 10 \text{ mW/cm}^2$ . Os dentes foram mantidos em estufa a 37 °C por 24 h.

### **Ensaio Mecânico de Microtração**

Os dentes foram fixados em uma máquina de cortes equipada com disco diamantado (ISOMET 1000<sup>g</sup>) e foram realizados cortes no sentido longitudinal da coroa e perpendicular à interface adesiva, iniciados junto a uma das superfícies externas, com distância de 0,9 mm entre eles, até se atingir a superfície oposta. Em seguida, o dente foi rotacionado em 90° e uma nova série de cortes foi realizada de tal forma que foram obtidos espécimes com área transversal de secção de aproximadamente  $0,81 \text{ mm}^2$ . A interface adesiva de cada espécime foi cuidadosamente inspecionada em microscópio de



luz (mod. SZX 7<sup>h</sup>), em aumento de 30X e as defeituosas foram desconsideradas da amostra. Cada espécime foi fixado em um dispositivo para o ensaio mecânico de microtração com cola de cianoacrilato (Super Bonder Gel e Ativador 7456<sup>i</sup>), e o conjunto acoplado a uma máquina de testes mecânicos (MTS<sup>j</sup>), previamente ajustada para forças de tração, com célula de carga de capacidade máxima de 1 kN, sendo a velocidade do atuador de 0,5 mm/min.

Imediatamente após o teste, as metades obtidas de cada espécime foram armazenadas em recipientes fechados a temperatura ambiente até o momento da leitura do tipo de fratura em lupa estereoscópica em aumento aproximado de 50X. As fraturas foram classificadas em: coesivas da resina ou dentina, adesivas ou mistas.

### **Microscopia eletrônica de varredura**

Dois dentes adicionais foram preparados para cada grupo como descrito anteriormente e cortados no sentido vestibulo-lingual para a obtenção de espécimes (fatias com 1mm de espessura, n=2) para a análise da união resina-dentina. Esses espécimes foram embebidos em resina epóxica quimicamente ativada (Epoxicure<sup>g</sup>) e polidos sequencialmente com lixas de carbetto de silício de granulação decrescente (600, 1200 e 2000). Em seguida foram expostos a tratamento com HCl 6 N por 15 segundos<sup>24</sup> e NaOCl 1% por 10 minutos, e desidratados em soluções de concentração crescente de etanol (30%, 50%, 95% por 30 minutos cada, e 100% por 60 minutos). Após a utilização da última solução, os espécimes foram secos por imersão em hexametildisilazano (HMDS<sup>k</sup>) por 30 minutos e mantidos em dessecadora a vácuo por 24 horas. Em seguida foram metalizados com ouro e examinados em MEV (LEO 435 VP<sup>l</sup>).

## **Análise Estatística**

A análise de variância a dois fatores fixos foi aplicada ao conjunto de dados de resistência de união (MPa) considerando-se as variáveis sistema adesivo e aplicação de clorexidina. O teste adicional de Tukey foi utilizado para a comparação dos grupos aos pares. Todos os testes estatísticos foram considerados ao nível de significância de 5% ( $\alpha=0,05$ ). A análise das fraturas e dos espécimes em MEV foi apenas descritiva.

## **RESULTADOS**

### **Resistência de União**

Os valores de resistência de união imediata produzidos em função do sistema adesivo e aplicação ou não de clorexidina estão apresentados nas Tabelas 2 e 3, respectivamente para dentes permanentes e dentes decíduos. Para a dentina de dentes permanentes, os valores de resistência de união foram  $41,7 \pm 14,4$  MPa para o sistema Prime & Bond NT,  $42,9 \pm 8,6$  MPa para o sistema Single Bond e  $46,2 \pm 17,5$  MPa para o sistema Excite DSC, na ausência de clorexidina. Os valores médios correspondentes para os grupos onde a clorexidina foi aplicada foram  $50,1 \pm 16,2$  MPa,  $51,0 \pm 11,7$  MPa e  $49,2 \pm 17,5$  MPa, respectivamente (Tabela 2). Para a dentina de dentes decíduos foram obtidos  $40,4 \pm 13,4$  MPa para o sistema Prime & Bond NT,  $41,4 \pm 11,9$  MPa para o sistema Single Bond e  $43,4 \pm 12,0$  MPa para o sistema Excite DSC, sem aplicação de clorexidina. Quando essa substância foi utilizada, os valores médios de resistência de união obtidos para os sistemas adesivos foram de  $48,0 \pm 9,8$  MPa,  $47,4 \pm 9,5$  MPa e  $45,2 \pm 9,2$  MPa, respectivamente (Tabela 3).

Para ambos os substratos, a análise de variância detectou que apenas o fator aplicação ou não de clorexidina foi estatisticamente significante ( $p < 0,05$ ). Dessa forma,

o fator sistema adesivo, assim como sua interação com o fator aplicação ou não de clorexidina, não exerceram efeito significativo nos valores de resistência de união ( $p>0,05$ ). Conseqüentemente, comparável desempenho adesivo foi observado para todos os sistemas adesivos, independente da aplicação ou não de clorexidina após o condicionamento ácido, observação essa que se repetiu para dentes permanentes e dentes decíduos. Inversamente, a aplicação de clorexidina afetou positivamente a resistência de união produzida pelos sistemas adesivos Prime & Bond NT e Single Bond em ambos os substratos (decíduos e permanentes), enquanto nenhum efeito foi demonstrado para o sistema Excite DSC.

### **Análise das fraturas**

A frequência absoluta dos tipos de fratura detectados para cada grupo está descrita na Tabela 4 para os dentes permanentes e na Tabela 5 para os dentes decíduos. O predomínio das fraturas adesivas foi observado para todos os grupos, independente do sistema adesivo utilizado bem como da aplicação ou não da clorexidina sobre a superfície dentinária. Nenhum padrão de distribuição dessas fraturas foi observado em função dessas variáveis.

### **Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

As características observadas em MEV não permitiram diferenciar entre os sistemas adesivos, assim como entre os espécimes que receberam ou não a aplicação de clorexidina. Imagens representativas da união resina-dentina produzida em dentes permanentes e decíduos com o sistema adesivo Prime & Bond NT estão apresentadas nas Figuras 1 e 2, respectivamente. Com exceção de variações na espessura da camada de adesivo, nenhuma diferença morfológica significativa foi identificada quando o

mesmo sistema foi aplicado à dentina que recebeu a aplicação de clorexidina ou não após o condicionamento com ácido fosfórico. Entretanto, independentemente do tipo de sistema adesivo e aplicação ou não da clorexidina, foi possível identificar claramente a formação de longos *tags* de resina com ramificações laterais, muitos dos quais se apresentaram fraturados devido à perda do suporte dentinário uma vez que a dentina foi removida pelo tratamento HCl/NaClO dos espécimes.

## DISCUSSÃO

Durante os procedimentos restauradores adesivos, mais especificamente durante a cura dos materiais poliméricos, as tensões geradas pela contração de polimerização representam o primeiro desafio à interface adesiva recém-produzida. Portanto, é importante que a resistência de união imediata seja forte o suficiente para suportar essas tensões.<sup>25</sup> Também, a análise da resistência de união imediata se faz necessária para a comparação de materiais e modificações das técnicas adesivas, como a utilização da clorexidina após o condicionamento ácido da dentina, investigada no presente estudo. É imprescindível que essas modificações não influenciem negativamente os valores de resistência de união imediata. Partindo desse pressuposto, o presente trabalho avaliou o desempenho de três sistemas adesivos convencionais simplificados aplicados sobre a dentina de dentes decíduos e permanentes após a aplicação de uma solução de clorexidina pós-condicionamento ácido.

Todos os sistemas adesivos investigados no presente estudo são convencionais simplificados e, portanto, utilizam o ácido fosfórico como passo separado no processo de adesão. Devido a sua característica extremamente ácida (pH 0.7), poderia ser especulado que a simples aplicação do ácido fosfórico promoveria a desnaturação, parcial ou total, das MMPs liberadas durante a desmineralização da dentina, inibindo,

como consequência, sua atuação sobre as fibras de colágeno expostas pela remoção do conteúdo mineral. De fato, Mazzoni *et al.*<sup>26</sup> (2006) demonstraram que a utilização de ácido fosfórico por 15 segundos inativou quase que completamente a atividade proteolítica da dentina (98,1%). Entretanto, no mesmo estudo, os autores também demonstraram que sistemas adesivos convencionais simplificados, como os investigados no presente experimento, apresentam potencial de reativação de enzimas endógenas (MMPs) presentes na dentina, previamente inativadas pelo ácido fosfórico. Entre os sistemas adesivos investigados por esses autores, o sistema Prime & Bond NT foi o que promoveu a maior reativação da atividade proteolítica. Isso demonstra que a utilização de substâncias inibidoras da atividade enzimática exercida pelas MMPs são importantes para melhorar a resistência da união resina-dentina aos desafios impostos pelo processo de envelhecimento na cavidade bucal, a começar pelo desafio imposto pelas características do próprio substrato ao qual os materiais poliméricos são aderidos.

A impregnação da dentina desmineralizada com uma solução aquosa de clorexidina a 2% previamente à aplicação dos sistemas adesivos convencionais simplificados não exerceu efeito negativo sobre os valores de resistência de união imediata, tanto à dentina de dentes permanentes como à dentina de dentes decíduos. Embora não existam trabalhos na literatura utilizando dentes decíduos, os resultados do presente estudo ratificam os resultados obtidos por outros pesquisadores para dentes permanentes.<sup>2-4,21,22</sup> Isso demonstra que, apesar de ser uma molécula relativamente grande (PM = 897,8 g/mol) quando comparada a alguns monômeros constituintes dos sistemas adesivos, como HEMA (PM = 130,0 g/mol) ou Bis-GMA (PM = 512,0 g/mol), o digluconato de clorexidina não influenciou negativamente a infiltração monomérica da dentina desmineralizada. De fato, interfaces observadas em MEV produzidas pelo mesmo sistema adesivo com ou sem a utilização de clorexidina apresentaram espessura

equivalente da camada híbrida. Ainda, uma vez que foi utilizada uma solução aquosa de digluconato de clorexidina, sua aplicação garantiu a manutenção da expansão das fibrilas colágenas e, por conseqüência, dos espaços interfibrilares, os quais constituem as vias de difusão dos monômeros resinosos para posterior polimerização *in situ*. Isso é particularmente importante para sistemas adesivos que apresentam exclusivamente acetona ou etanol como solvente,<sup>27</sup> como os sistemas Prime & Bond NT e Excite DSC, respectivamente, utilizados no presente estudo.

Para dois dos três sistemas adesivos avaliados, Single Bond e Prime & Bond NT, houve aumento significativo dos valores de resistência de união quando a clorexidina foi utilizada, o que implica na rejeição parcial da hipótese nula inicialmente formulada. A influência positiva da utilização de clorexidina para esses sistemas adesivos foi observada tanto para dentes permanentes como dentes decíduos, embora, nas imagens avaliadas em MEV, nenhuma característica morfológica diferencial entre interfaces produzidas com e sem a utilização dessa substância tenha sido visualizada. Outros estudos também demonstraram que a aplicação de clorexidina 2% sobre a dentina desmineralizada pelo condicionamento com ácido fosfórico resultou em maiores valores de resistência de união imediata<sup>3,21</sup> entretanto, em nenhum desses estudos essa diferença foi estatisticamente significativa. Perdigão *et al.*<sup>22</sup> (1994) sugerem que a aplicação de clorexidina sobre a dentina desmineralizada pode aumentar sua energia livre de superfície à semelhança do observado para o esmalte.<sup>28</sup> Embora não exista comprovação científica para tal especulação, o aumento da energia de superfície da dentina desmineralizada favoreceria sua umectância pelos sistemas adesivos, o que poderia justificar os maiores valores de resistência de união para os grupos tratados com clorexidina, embora esse aumento tenha sido significativo apenas para os sistemas Single Bond e Prime & Bond NT.

O desempenho adesivo do sistema Excite DSC, diferentemente, não foi melhorado como observado para os demais sistemas. Entre os sistemas convencionais simplificados investigados, o sistema Excite DSC é o único que apresenta reação dual de polimerização. Não existem trabalhos na literatura que tenham investigado o efeito da utilização de clorexidina pós-condicionamento ácido da dentina na adesão de sistemas adesivos de polimerização dupla. Entretanto, apesar de não ter ocorrido uma melhora nos valores de resistência de união produzidos pelo sistema adesivo Excite DSC quando comparado aos demais, é importante ratificar que a utilização de clorexidina previamente a sua aplicação não foi prejudicial ao seu desempenho adesivo, ou seja, não resultou em redução dos valores de resistência de união produzidos em ambos os substratos. Seria importante observar se esse fenômeno se repetiria para outros materiais dessa natureza uma vez que são essenciais em vários procedimentos clínicos, como por exemplo, na cimentação de pinos intra-radulares, restaurações indiretas de resina ou peças protéticas.

A molécula de clorexidina tem sido reconhecida como um inibidor de metaloproteinases da matriz dentinária,<sup>14,20</sup> mimetizando o efeito de inibidores naturais dessas enzimas (TIMPS). Estudos realizados in vivo demonstraram que a utilização dessa substância como coadjuvante no processo de adesão à dentina reduz significativamente a velocidade de degradação das interfaces adesivas produzidas em dentes decíduos<sup>5</sup> e em dentes permanentes.<sup>2,4</sup> Considerando esses resultados favoráveis e os observados no presente estudo de que a aplicação de clorexidina sobre a dentina desmineralizada não interfere negativamente na resistência de união imediata de sistemas adesivos convencionais simplificados, em dentes decíduos e permanentes, a aplicação clínica dessa nova proposta de modificação da técnica de adesão dentinária é bastante promissora.

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, pode ser concluído que a utilização de uma solução aquosa de clorexidina 2% após o condicionamento ácido da dentina não interferiu negativamente no desempenho adesivo de sistemas convencionais simplificados quando aplicados à dentina de dentes decíduos e permanentes.

## **AGRADECIMENTOS**

Este estudo foi financiado pela FAPESP (processo 06/01781-2). Os autores reconhecem o apoio técnico prestado pelo Dr. Elliot W. Kitajima, diretor do centro de microscopia eletrônica NAP / MEPA (Escola de Agronomia Luiz de Queiróz, ESALQ, USP) e pelo Sr. Renato Barbosa Salaroli.

- a. 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA.
- b. Dentsply, Milford, DE, EUA.
- c. Ivoclar Vivadent, Schaan Liechtenstein.
- d. Panambra Industrial e Técnica Ltda, São Paulo, Brasil.
- e. FGM Produtos Odontológicos, Santa Catarina, Brasil.
- f. Demetron Research Co., Danbury, Connecticut, EUA.
- g. Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA.
- h. Olympus, São Paulo, Brasil.
- i. Henkel Loctile Ltda, São Paulo, Brasil.
- j. MTS System Corporation, Eden Prairie, MN, EUA.
- k. Ted Pella, Redding, CA, EUA.
- l. Carl Zeiss, Cambridge, Inglaterra.
- m. Qualxtron, São Paulo, Brasil.



## REFERÊNCIAS

1. Matthijs S, Adriaens PA. Chlorhexidine varnishes: a review. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 1-8.
2. Brackett WW, Tay FR, Brackett MG, Dib A, Sword RJ, Pashley DH. The effect of chlorhexidine on dentin hybrid layers in vivo. *Oper Dent* 2007; 32: 107-111.
3. Carrilho MR, Carvalho RM, de Góes MF, di Hipolito V, Geraldeli S, Tay FR, et al. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *J Dent Res* 2007; 86: 90-94.
4. Carrilho MR, Geraldeli S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjäderhane L et al. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res* 2007; 86: 529-533.
5. Hebling J, Pashley DH, Tjäderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res* 2005; 84: 741-746.
6. Birkedal-Hansen, H. Matrix metalloproteinases. *Adv Dent Res* 1995; 9 (3 Suppl):16.
7. Palosaari H, Pennington CJ, Larmas M, Edwards DR, Tjäderhane L, Salo T Expression profile of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs in mature human odontoblasts and pulp tissue. *Eur J Oral Sci* 2003; 111: 117-127.
8. Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M, Menashi S The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. *J Dent Res* 2006; 85: 22-32.
9. Palosaari H, Wahlgren J, Larmas M, Rönkä H, Sorsa T, Salo T, Tjäderhane L. The expression of MMP-8 in human odontoblasts and dental pulp cells is down-regulated by TGF-beta1. *J Dent Res* 2000; 79: 77-84.

10. Martin-De Las Heras S, Valenzuela A, Overall CM. The matrix metalloproteinase gelatinase A in human dentin. *Arch Oral Biol* 2000; 45: 757-765.
11. Mazzoni A, Mannello F, Tay FR, Tonti GAM, Papa S, Maxxotti G, Ki Lenarda R, Pashley DH, Breschi L. Zymographic analysis and characterization of MMP-2 and -9 forms in human sound dentin. *J Dent Res* 2007; 86: 436-440.
12. Sulkala M, Tervahartiala T, Sorsa T, Larmas M, Salo T, Tjäderhane L. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin. *Arch Oral Biol* 2007; 52: 121-127.
13. Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M, Salo T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *J Dent Res* 1998; 77: 1622-1629.
14. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res* 2004; 83: 216-221.
15. Fanchon S, Bourd K, Septier D, Everts V, Beertsen W, Menashi S, et al. Involvement of matrix metalloproteinases in the onset of dentin mineralization. *Eur J Oral Sci* 2004; 112: 171-176.
16. Eliades G, Vougiouklakis G, Palaghias G. Heterogeneous distribution of single-bottle adhesive monomers in the resin-dentin interdiffusion zone. *Dent Mater* 2001; 17:277-283.
17. Spencer P, Wang Y. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions. *J Biomed Mater Res* 2002; 62: 447-456.
18. Tay FR, Gwinnett AJ, Wei SH. The overwet phenomenon: an optical, micromorphological study of surface moisture in the acid-conditioned, resin-dentin interface. *Am J Dent* 1996; 9: 43-48.

19. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res* 2000; 79: 1385-1391.
20. Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8 and 9 by chlorhexidine. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999; 6: 437-439.
21. de Castro FL, de Andrade MF, Duarte Júnior SL, Vaz LG, Ahid FJ. Effect of 2% chlorhexidine on microtensile bond strength of composite to dentin. *J Adhes Dent* 2003 5: 129-138.
22. Perdigão J, Denehy GE, Swift EJ Jr. Effects of chlorhexidine on dentin surfaces and shear bond strengths. *Am J Dent* 1994; 7: 81-84.
23. Oliveira SS, Pugach MK, Hilton JF, Watanabe LG, Marshall SJ, Marshall GW Jr. The influence of the dentin smear layer on adhesion: A self-etching primer vs. total-etch system. *Dent Mater* 2003; 19: 758-767.
24. Sardella TN, de Castro FL, Sanabe ME, Hebling J. Shortening of primary dentin etching time and its implication on bond strength. *J Dent* 2005; 33: 355-362.
25. Munksgaard EC, Asmussen E. Dentin-polymer bond promoted by Gluma and various resins. *J Dent Res* 1985; 64: 1409-1411.
26. Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, Breschi L, Mannello F, Tjäderhane L et al. Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. *Biomaterials* 2006; 27: 4470-4476.
27. Manso AP, Marquezini L Jr, Silva SM, Pashley DH, Tay FR, Carvalho RM. Stability of wet and dry bonding with different solvent-based adhesives. *Dent Mater* 2008; 24:476-482.

28. Perdok JF, van der Mei HC, , Genet MJ, et al. Elemental surface concentration ratios and surface free energies of human enamel after application of chlorhexidine and adsorption of salivary constituents. *Caries Res* 1989; 23: 297-302.

Tabela 1. Nome comercial, fabricante, principais componentes, pH e lote dos sistemas adesivos

Nome comercial	Principais componentes	pH*	Lote
Adper Single Bond (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA)	Bis-GMA, HEMA, dimetacrilatos, ácido polialcenólico, iniciadores, água e etanol	3.6	4 KE
Prime & Bond NT (Dentsply, Milford, DE, EUA)	Resinas de di e trimetacrilato, sílica coloidal, PENTA, fotoiniciadores, estabilizantes, hidrofloreto de cetilamina, acetona	2.68	0503000963
Excite DSC (Ivoclar-Vivadent, Schaan Liechtenstein)	Adesivo: HEMA, dimetacrilatos, acrilato do ácido fosfônico, dióxido de silício, catalisadores, estabilizadores, etanol  <i>Microbrush</i> : iniciadores	3.2	J04042
Filtek Z250 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA)	Resinas Bis-GMA, UDMA, Bis-EMA, zircônia, sílica		4 BB
Scotchbond Etchant (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA)	Ácido fosfórico 35%	0.7	5 EN
Chlorhexidina (FGM Produtos Odontológicos, Joinvile, SC, Brasil)	Solução aquosa de digluconato de clorexidina 2%	6.8	

\*Segundo Mazzoni et al. (2006), com exceção do pH da solução de clorexidina (PHmetro mod. 8010<sup>m</sup>)

Abreviaturas. Bis-GMA: bisfenol-glicidil-dimetacrilato; HEMA: hidroxietil metacrilato; PENTA: dipentaeritritol-pentacrilato éster fosfato; UDMA: uretana dimetacrilato; Bis-EMA: bisfenol-etil-dimetacrilato.

Tabela 2. Resistência de união (MPa) à dentina de dentes permanentes em função do sistema adesivo e da aplicação ou não de clorexidina

Clorexidina	Sistemas adesivos		
	Prime&Bond NT	Single Bond	Excite DSC
Não	41,7±14,4 [30]* b A**	42,9±8,6 [18] b A	46,2±17,5 [17] a A
Sim	50,1±16,2 [27] a A	51,0±11,7 [23] a A	49,2±17,5 [20] a A

\* valores representam a média±desvio padrão [número de espécimes]

\*\* médias seguidas de letras minúsculas iguais nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente (Tukey,  $p>0,05$ )

Tabela 3. Resistência de união (MPa) à dentina de dentes decíduos em função do sistema adesivo e da aplicação ou não de clorexidina

Clorexidina	Sistema adesivo		
	Prime&Bond NT	Single Bond	Excite DSC
Não	40,8±13,4* [26]** b A	41,4±11,9 [23] b A	43,4±12,0 [29] a A
Sim	48,0±9,8 [40] a A	47,4±9,5 [31] a A	45,2±9,2 [21] a A

\* valores representam a média±desvio padrão [número de espécimes]

\*\* médias seguidas de letras minúsculas iguais nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente (Tukey,  $p>0,05$ ).

Tabela 4. Distribuição dos tipos de fratura segundo os sistemas adesivos e aplicação ou não de clorexidina para dentes permanentes

Sistema adesivo	Aplicação de clorexidina			
	Sim	n	Não	n
Prime&Bond NT	A*= 19 (70,45%)**	27	A= 26 (86,7%)	30
	M= 2 (7,4%)		CD= 1 (3,3%)	
	CD= 4 (14,8%)		CR= 3 (10,0%)	
	CR= 2 (7,4%)			
Single Bond	A= 17 (73,9%)	23	A= 15 (83,3%)	18
	M= 3 (13,0%)		CD= 1 (5,6%)	
	CD= 1 (4,3%)		CR= 2 (11,1%)	
	CR= 2 (8,7%)			
Excite DSC	A= 14 (70,0%)	20	A= 13 (76,5%)	17
	M= 2 (10,0%)		CD= 4 (23,5%)	
	CD= 3 (15,0%)			
	CR= 1 (5,0%)			

\* A = adesiva; M = mista; CD = coesiva de dentina; CR = coesiva de resina

\*\* frequência absoluta (porcentagem em relação ao total de espécimes, n, do grupo)



Tabela 5. Distribuição dos tipos de fratura segundo os sistemas adesivos e aplicação ou não de clorexidina para dentes decíduos

Sistema adesivo	Aplicação de clorexidina			
	Sim	n	Não	n
Prime&Bond NT	A*= 33 (82,5%)**	40	A= 23 (88,5%)	26
	M= 5 (12,5%)		M= 1 (3,8%)	
	CD= 1 (2,5%)		CD= 2 (7,7%)	
	CR= 1 (2,5%)			
Single Bond	A= 26 (83,9%)	31	A= 15 (65,2%)	23
	M= 3 (9,7%)		M= 2 (8,7%)	
	CD= 1 (3,2%)		CD= 5 (21,7%)	
	CR= 1 (3,2%)		CR= 1 (4,3%)	
Excite DSC	A= 18 (85,7%)	21	A= 17 (58,6%)	29
	M= 1 (4,8%)		M= 1 (3,4%)	
	CD= 1 (4,8%)		CD= 9 (31,0%)	
	CR= 1 (4,8%)		CR= 2 (6,9%)	

\* A = adesiva; M = mista; CD = coesiva de dentina; CR = coesiva de resina

\*\* frequência absoluta (porcentagem em relação ao total de espécimes, n, do grupo)

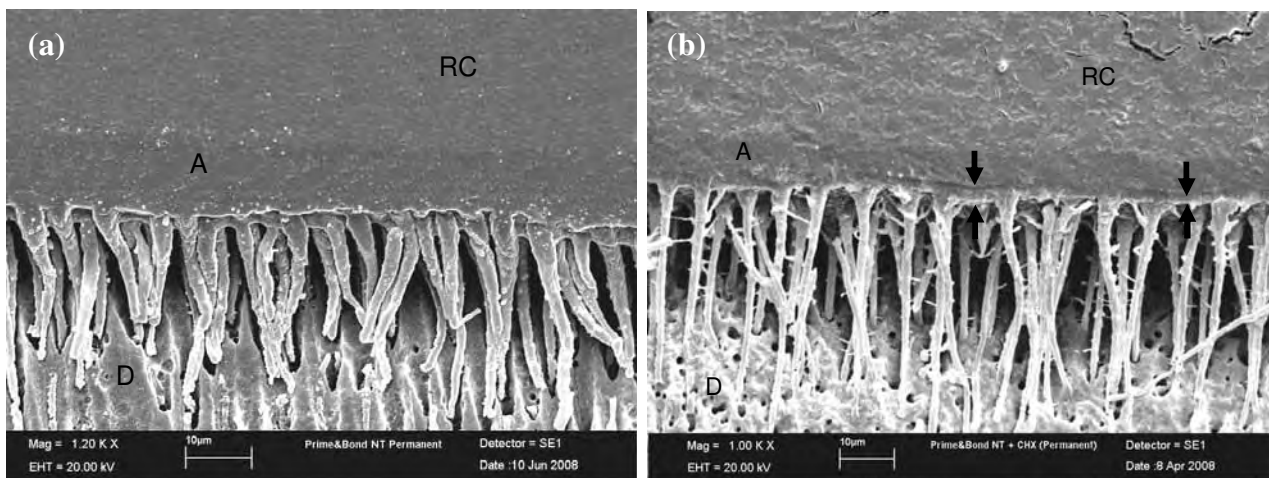


Figura 1. Fotomicrografias em MEV representativas da união resina-dentina produzida em dentes permanentes com o sistema adesivo Prime & Bond NT, (a) sem a aplicação de clorexidina e (b) com aplicação de 2% clorexidina por 60 segundos sobre a dentina condicionada com ácido fosfórico. A: camada de adesivo; entre setas: camada híbrida; RC: resina composta e D: dentina.

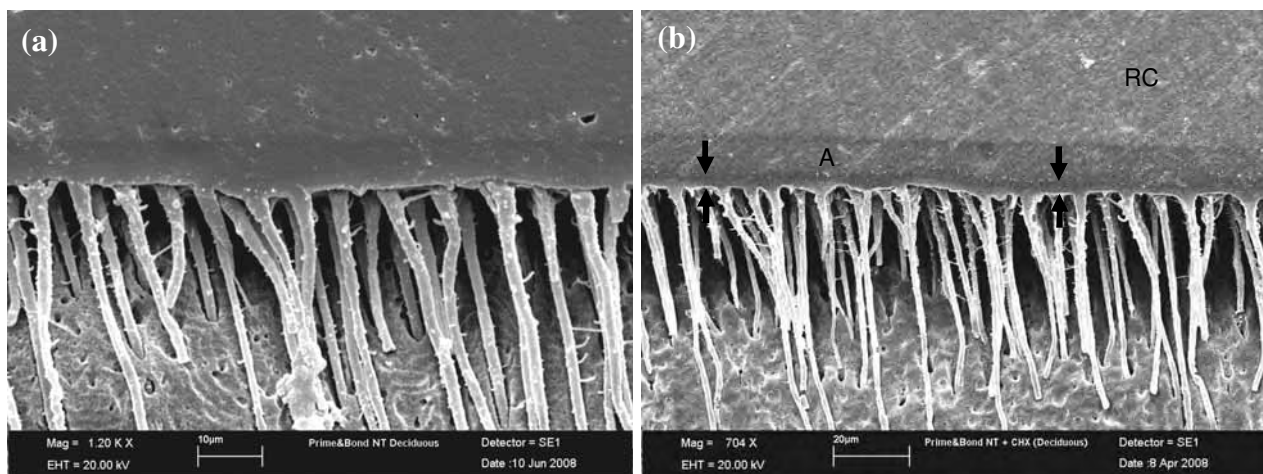


Figura 2. Fotomicrografias em MEV representativas da união resina-dentina produzida em dentes decíduos com o sistema adesivo Prime & Bond NT, (a) sem a aplicação de clorexidina e (b) com aplicação de 2% clorexidina por 60 segundos sobre a dentina condicionada com ácido fosfórico. A: camada de adesivo; entre setas: camada híbrida; RC: resina composta e D: dentina.

**Estudo 3**



**Longevidade da união resina-dentina produzida na  
presença de clorexidina**



## **LONGEVIDADE DA UNIÃO RESINA-DENTINA PRODUZIDA NA PRESENÇA DE CLOREXIDINA**

### **Hérica Adad Ricci, DDS**

Mestranda em Odontopediatria, Departamento de Ortodontia e Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Araraquara, São Paulo, Brasil

Rua Conde do Pinhal, 1431 São Carlos, SP, Brasil. 13.560-140

### **Mariane Emi Sanabe, DDS, MS**

Doutoranda em Odontopediatria, Departamento de Ortodontia e Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Araraquara, São Paulo, Brasil

Rua Humaitá, 1680 Araraquara, SP, Brasil. 14.801-903

### **Carlos Alberto de Souza Costa, DDS, MS, PhD**

Professor Associado, Departamento de Fisiologia e Patologia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, São Paulo, Brasil

Rua Humaitá, 1680 Araraquara, SP, Brasil. 14.801-903

### **Josimeri Hebling, DDS, MS, PhD<sup>✉</sup>**

Professor Associado, Departamento de Ortodontia e Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Araraquara, São Paulo, Brasil

Rua Humaitá, 1680 Araraquara, SP, Brasil. 14.801-903

**Palavras-chave:** clorexidina; dentina; sistemas adesivos; resistência à tração; dentes decíduos; longevidade

### **✉ Autor para correspondência:**

Profa. Dra. Josimeri Hebling

Rua Humaitá, 1680 Araraquara, SP, Brasil. 14.801-903

jhebling@foar.unesp.br

Fone: (16) 3301 6334 FAX: (16) 3301 6329

## **RESUMO**

**Proposição:** Avaliar a estabilidade mecânica da união resina-dentina produzida in vivo na presença de clorexidina. **Materiais e métodos:** Foram recrutados para o estudo voluntários que apresentavam no mínimo um par de molares decíduos contralaterais com lesão de cárie oclusal. Os dentes foram aleatoriamente designados aos grupos controle e experimental. Após o preparo cavitário, no grupo controle, 5 µL de água destilada foram aplicados sobre a dentina condicionada, enquanto que no grupo experimental foi aplicado o mesmo volume de solução de clorexidina 2%. Os dentes (13 pares) foram restaurados com Prime & Bond NT e resina Z250 e recuperados quando da esfoliação. Os períodos de função na cavidade bucal foram: até 30 dias, de 1 a 5, de 10 a 12 e de 18 a 20 meses. Os dentes foram seccionados para a obtenção de espécimes com área transversal de união de 0,81 mm<sup>2</sup>, os quais foram submetidos ao ensaio de microtração. Os dados de resistência de união (RU) foram analisados pelos testes de ANOVA e Tukey ( $\alpha=0,05$ ). **Resultados:** Redução significativa da RU foi observada para o grupo controle já no período de 1-5 meses (30,6%), enquanto o mesmo foi observado para o grupo experimental apenas a partir do período de 10-12 meses (26,3%). **Conclusão:** A utilização de clorexidina como coadjuvante no processo de adesão à dentina, além de não interferir negativamente na RU imediata, foi capaz de desacelerar a degradação da interface adesiva nos primeiros meses após o procedimento restaurador.

## INTRODUÇÃO

Embora a fase orgânica da dentina seja formada principalmente por colágeno tipo I (*ca.* 90%), proteínas não colagenosas da matriz desempenham papel importante como mediadores da sua interação com células, maturação e mineralização.<sup>3</sup> Várias biomoléculas, as quais são expressas durante a síntese da matriz extracelular, são aprisionadas no tecido dentinário após a finalização do processo de mineralização. Essas moléculas presentes na sua forma latente, podem ser liberadas e ativadas quando da solubilização da matriz dentinária pelo processo de cárie,<sup>30</sup> ou outro que envolva a remoção do conteúdo inorgânico deste tecido, como o condicionamento ácido realizado para os procedimentos de adesão de materiais ao substrato dentinário.<sup>22</sup>

As metaloproteinases da matriz (MMPs) representam uma família de endopeptidases zinco-cálcio dependentes com capacidade de degradar componentes da matriz extracelular, incluindo o colágeno em sua forma natural ou desnaturada.<sup>2</sup> Essas endopeptidases são expressas durante a síntese da matriz extracelular por odontoblastos e outras células pulpares, sendo que sua expressão é regulada por fatores de crescimento como TGF- $\beta$  (fator transformador de crescimento) e BMP-2 (proteína morfogenética óssea). Esse controle é fundamental na formação e remodelação da matriz durante processos fisiológicos e patológicos.<sup>27</sup>

Estudos têm demonstrado que MMP-2 (gelatinase-A), MMP-8 (colagenase-2), MMP-9 (gelatinase - B), MMP-14 e MMP-20 (enamelisina) estão presentes em tecidos mineralizados humanos maduros, incluindo a dentina,<sup>15,20,21,30</sup> sendo a MMP - 8 a mais abundante neste substrato.<sup>28</sup> Formas latentes de MMPs são liberadas da dentina como resultado da dissolução dos compostos inorgânicos, a qual ocorre pelo pH acidificado do local. Entretanto, o mecanismo exato de ativação ácida das MMPs ainda não está totalmente esclarecido.<sup>30</sup> De maneira semelhante a observada no processo cariioso,

MMPs também podem ser liberadas da matriz dentinária durante o condicionamento ácido da dentina, o qual é um passo ainda indispensável quando da utilização de sistemas adesivos.<sup>22</sup>

A desmineralização da dentina superficial é essencial para a formação da camada híbrida, principal estrutura responsável pela retenção micro-mecânica de materiais adesivos ao substrato dentinário.<sup>17</sup> A profundidade de desmineralização da dentina excede a capacidade de infiltração dos monômeros resinosos, resultando na formação de uma zona de dentina desmineralizada não reforçada por resina na base da camada híbrida,<sup>13,18,26,32</sup> observada tanto para sistemas convencionais<sup>26,32</sup> como para sistemas auto-condicionantes.<sup>8,19,25</sup>

As fibrilas de colágeno expostas, desprovidas de proteção mineral tornam-se susceptíveis à hidrólise e degradação enzimática. Essa degradação pode ser mediada pelas MMPs dentinárias liberadas durante o procedimento de condicionamento ácido.<sup>22</sup> Fibrilas de colágeno também podem ser expostas na interface adesiva devido à eluição de hidrogéis poliméricos hidroliticamente instáveis, a qual ocorre durante a vida funcional dessa interface, contribuindo para o aumento das imperfeições no interior da camada híbrida, o que possibilita a manutenção da nanoinfiltração.<sup>10,11,22,32</sup> Esse fenômeno permite o ingresso constante de fluídos diversos, metabólitos bacterianos e MMPs provenientes da saliva. O sinergismo destes produtos culminaria com a degradação das fibrilas desnudas de colágeno presentes na zona inferior da camada híbrida.

O uso de substâncias sintéticas que mimetizem a ação de inibidores biológicos (TIMPs) e que inativem essas enzimas é uma alternativa para aumentar a estabilidade funcional das interfaces. Tem sido demonstrado que soluções de clorexidina têm capacidade de inibir completamente a atividade de MMP-2 e MMP-9, mesmo em

concentrações tão pequenas quanto 0,03%<sup>12</sup> e que sua aplicação sobre a dentina condicionada não influencia negativamente a resistência de união imediata de sistemas adesivos a este substrato.<sup>4,5,9</sup>

Conseqüentemente, a aplicação de clorexidina após o condicionamento ácido da dentina e previamente à aplicação de sistemas adesivos tem mais uma função importante além da atividade antimicrobiana, a qual seria a prevenção da degradação de fibrilas de colágeno expostas na camada híbrida, resultando em interfaces adesivas mais estáveis longitudinalmente. Nesse sentido, resultados encorajadores têm sido demonstrados em estudos recentes realizados *in vivo*<sup>4,7,14</sup> e *in vitro*.<sup>4,5</sup> Dessa forma, a proposta deste estudo foi avaliar a degradação de interfaces adesivas *in vivo*, após a inativação de MMPs pela clorexidina. A hipótese nula testada foi a de que a aplicação de clorexidina após o condicionamento da dentina, com a intenção de inibir a ação de MMPs, não exerce efeito protetor na degradação da interface de união.

## **MATERIAL E MÉTODO**

Foram incluídos no estudo 13 crianças com idade entre 8 e 11 anos, ambos os gêneros, após a obtenção do termo de consentimento livre e esclarecido, assinado pelo responsável do menor, previamente analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Odontologia de Araraquara (Protocolo no. 91/04). Somente foram incluídas crianças que apresentavam no mínimo dois molares decíduos contralaterais com pequena lesão de cárie oclusal, detectável radiograficamente como limitada à metade externa da dentina, ou seja, cavidade rasa.



## Procedimentos Adesivos

Os dentes pertencentes ao mesmo par foram aleatoriamente designados aos grupos de investigação, ou seja, procedimento restaurador adesivo sem (controle) ou com (experimental) a utilização de clorexidina posteriormente ao condicionamento ácido da dentina (delineamento experimental do tipo boca dividida). Para todos os dentes foram realizados os procedimentos de anestesia local, profilaxia do hemiarco, isolamento absoluto do campo operatório e preparo cavitário não conservador de classe I para resina composta com broca diamantada (KG Sorensen, São Paulo, SP, Brasil) sob refrigeração abundante.

No grupo controle (CHX (-), sem aplicação de clorexidina), após a remoção do tecido cariado e definição do preparo cavitário, o esmalte foi condicionado com ácido fosfórico 35% (Scotchbond Etchant, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) por 30 segundos, e a dentina por 15 segundos. Decorrido este período, a cavidade foi lavada abundantemente com água e seca com jatos de ar. Cinco microlitros de água destilada foram aplicados sobre as paredes cavitárias com auxílio de um *microbrush*, mantidos em contato com a dentina passivamente por 60 segundos. Em seguida, o excesso foi removido com algodão esterilizado para a obtenção de uma superfície úmida. Para o grupo CHX(+), os mesmos procedimentos descritos para o grupo CHX(-) foram realizados, exceto pela aplicação de clorexidina a 2% (Chlorhexidina 2%, FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil) nas paredes cavitárias após o condicionamento ácido ao invés de água destilada. Cinco microlitros da solução de clorexidina foram depositados na cavidade e mantidos passivamente em contato com a dentina por 60 segundos. Após este período, o excesso foi removido algodão esterilizado, visando a manutenção da superfície úmida.

O sistema adesivo Prime & Bond NT (Dentsply, Milford, DE, EUA) foi aplicado em duas camadas, sendo em seguida fotoativado (Optilux 500, Demetron Research Co., Danbury, Connecticut, EUA, 450 mW/cm<sup>2</sup>) por 10 segundos. As cavidades foram restauradas em resina composta Z250 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA), na cor A2, em incrementos fotoativados individualmente por 20 segundos. Para todos os procedimentos envolvendo fotoativação, a intensidade de luz foi previamente avaliada com a utilização de um radiômetro (Demetron Research Co., Danbury, Connecticut, EUA). A composição básica dos materiais utilizados está apresentada na Tabela 1.

Os dentes foram acompanhados clínica e radiograficamente e imediatamente após a esfoliação, os mesmos foram recuperados e mantidos em ambiente com 100% de umidade relativa até serem preparados para o ensaio mecânico de microtração. Foram utilizados no estudo apenas os dentes considerados como sucesso do ponto de vista clínico e radiográfico, ou seja, com ausência de recidiva de cárie, fraturas da restauração, e outros insucessos. Os dentes foram divididos em quatro períodos de avaliação: até 30 dias, de 1 a 5 meses, de 10 a 12 meses e de 18 a 20 meses após o procedimento restaurador adesivo

### **Obtenção dos Espécimes para o Ensaio Mecânico de Microtração**

Assim que recuperados, os dentes tiveram suas coroas dentárias ampliadas verticalmente com a adição de novos incrementos de resina composta Z250. Esse procedimento objetivou obter uma área maior em resina para a correta fixação do espécime na máquina de ensaios mecânicos. A câmara coronária foi preenchida com um primeiro incremento de resina de baixa viscosidade (Filtek Flow, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) pigmentada com mínima quantidade de rodamina B e outros de resina

composta híbrida sem rodamina, reproduzindo-se o terço cervical das raízes, uma vez que os dentes apresentavam avançado processo de rizólise.

Os dentes foram fixados em uma máquina de cortes equipada com disco diamantado (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluf, IL, EUA) e foram realizados cortes no sentido longitudinal da coroa e perpendicular à interface adesiva, iniciados junto a uma das superfícies externas, com distância de 0,9 mm entre eles, até se atingir a superfície oposta. Em seguida, o dente foi rotacionado em 90° e uma nova série de cortes foi realizada de tal forma que foram obtidos espécimes com área transversal de secção de aproximadamente 0,81 mm<sup>2</sup>. Todos os espécimes foram inspecionados em lupa estereoscópica (Modelo SZX7, Olympus, São Paulo, Brasil) com aproximadamente 30 vezes de aumento. Aqueles que apresentaram defeitos na interface, bolhas ou irregularidades nas proximidades da união resina-dentina, foram excluídos da amostra, de tal forma que 3 a 4 espécimes foram obtidos de cada dente. Os espécimes selecionados tiveram sua área adesiva individualmente mensurada com paquímetro digital (Mod. 500-144b, Mytutoyo Sul Americana Ltda., São Paulo, Brasil) com resolução de 0,01 mm.

### **Ensaio Mecânico de Microtração**

O ensaio mecânico de microtração foi realizado em máquina de ensaios mecânicos (Material Testing System., MTS 810, Mineapolis, EUA) ajustada para forças de tração com célula de carga de capacidade máxima de 1 KN. Os espécimes foram individualmente fixados a um dispositivo metálico com adesivo de cianoacrilato associado a um acelerador à base de cianoacrilato (Super Bonder Gel e Ativador 7456, Henkel Loctile Ltda, São Paulo, Brasil). Este dispositivo metálico foi adaptado à

máquina de ensaios mecânicos para o teste de microtração, que atuou com velocidade de 0,5 mm/min. Os movimentos de tração foram iniciados através de um programa computadorizado específico (Test Works, Star IV, MTS System Corporation, Mineapolis, EUA) até que o espécime fosse rompido, quando o movimento foi cessado e os valores de carga máxima registrados.

### **Análise das Fraturas**

Imediatamente após o teste de microtração, as metades obtidas para cada espécime foram mantidas secas em recipientes fechados a temperatura ambiente até o momento da leitura das fraturas. Esta leitura foi realizada em microscópio de luz (Modelo SZX7, Olympus, São Paulo, Brasil) em aumentos variados, que permitissem a análise adequada. As fraturas foram classificadas em: coesivas da resina ou dentina; adesivas e mistas.

### **Análise Estatística**

Os dados referentes as áreas adesivas foram comparados pela aplicação do teste de análise de variância a um critério fixo. Em seguida os valores de carga máxima foram divididos pelas respectivas áreas para a obtenção dos dados de resistência de união em MPa. Esses dados foram submetidos à análise de variância a dois critérios fixos (aplicação de clorexidina e período de envelhecimento). Testes complementares de Tukey foram aplicados para a comparação múltipla dos grupos. Todos os testes foram considerados ao nível de significância de 5%.

## RESULTADOS

Dos quatorze pares de dentes incluídos no estudo, treze foram recuperados. Todas as restaurações apresentavam-se íntegras, sem sinais de pigmentação ou falta de adaptação das margens, assim como ausência de processo carioso. Um total de 85 espécimes foram obtidos e submetidos ao ensaio mecânico de microtração e os dados descritivos referentes aos valores de resistência união e ao número de dentes/espécimes por grupo estão apresentados na Tabela 2. A análise das áreas de união (ANOVA) demonstrou que para os oito grupos formados pela interação dos fatores não houve diferença estatisticamente significativa para essa variável ( $p > 0,05$ ). A aplicação da análise de variância a dois critérios fixos demonstrou que apenas o fator período exerceu efeito significativo ( $p < 0,05$ ) no desempenho adesivo do sistema Prime & Bond NT. Dessa forma, houve redução progressiva dos valores de resistência de união em função do tempo de envelhecimento para ambos os grupos. Entretanto, redução significativa da resistência de união (30,6%) foi detectada a partir do período de 1-5 meses de envelhecimento das interfaces para o grupo controle, enquanto o mesmo ocorreu para o grupo experimental apenas a partir do período de 10-12 meses (26,3%). Após 18-20 meses, o desempenho adesivo foi significativamente inferior aos valores imediatos de resistência de união para ambos os grupos. Houve redução dos valores de resistência de união de 56,5% para o grupo controle e de 37,0% para o grupo experimental. Em relação à utilização ou não de clorexidina, resistência de união significativamente superior foi observada para o grupo experimental quando comparada a do grupo controle nos períodos de 1-5 meses e 18-20 meses. Para o período de 10-12 meses, embora os valores de resistência de união tenham sido numericamente superiores para o grupo experimental, os mesmos não foram estatisticamente diferentes dos valores obtidos para o grupo controle.

Os valores de frequência absoluta e porcentagem dos tipos de fratura para cada condição de interação entre a aplicação ou não da clorexidina e o período de envelhecimento na cavidade bucal estão apresentados na Tabela 3. Falhas adesivas foram predominantes para todos os grupos formados pela interação das variáveis, e representaram 100% das falhas ocorridas no período de 18-20 meses.

## **DISCUSSÃO**

A redução progressiva dos valores de resistência de união em função do período de envelhecimento na cavidade bucal demonstrou a ocorrência de degradação da interface adesiva. Entretanto, no grupo experimental onde a clorexidina foi utilizada como agente coadjuvante no processo de adesão, houve uma desaceleração desse processo nos primeiros meses após o procedimento restaurador. Conseqüentemente, a hipótese nula de que a aplicação de clorexidina após o condicionamento ácido da dentina não exerce efeito protetor contra a degradação da interface de união foi parcialmente rejeitada. Após 1-5 meses em função na cavidade bucal, houve redução de 30,6% nos valores de resistência de união para o grupo controle e apenas 7,4% para o grupo experimental, com valores de resistência de união não diferentes dos valores obtidos para o período imediato (até 30 dias).

Degradação da união resina-dentina tem sido demonstrada em vários estudos *in vitro*<sup>5,10,24</sup> e *in vivo*.<sup>4,7,13,14</sup> O exato mecanismo de degradação dos componentes da interface adesiva ainda não é totalmente conhecido, mas esse processo pode ser definido como um complexo e intrincado fenômeno que envolve ambos os substratos, resina e dentina, os quais são negativamente afetados pela ação da água (degradação hidrolítica) e de enzimas salivares, bacterianas e da própria dentina (degradação enzimática). Embora o processo de degradação possa ser dividido em três estágios, plastificação do

polímero pela água, eluição de monômeros e/ou oligômeros da camada híbrida ou de adesivo, e degradação hidrolítica e enzimática da matriz dentinária<sup>23</sup> ainda não existe consenso sobre qual componente da interface é mais susceptível a esses eventos.<sup>6</sup>

A clorexidina apresenta, além de comprovado efeito antimicrobiano, a propriedade de inibir metaloproteinases<sup>12,22</sup> e quando utilizada como agente coadjuvante no processo de adesão polimérica ao substrato dentinário com o objetivo de inativar essas enzimas, não deveria interferir no desempenho adesivo imediato dos materiais resinosos. No presente estudo, valores equivalentes de resistência de união imediata (período até 30 dias) foram obtidos quando o sistema Prime & Bond NT foi aplicado à dentina desmineralizada com ácido fosfórico, tratada ou não com uma solução de clorexidina à 2%. Isso demonstra que, apesar de ser uma molécula relativamente grande (PM = 897,8 g/mol) quando comparada a alguns monômeros constituintes dos sistemas adesivos, como HEMA (PM = 130,0 g/mol) ou Bis-GMA (PM = 512,0 g/mol), o digluconato de clorexidina não influenciou negativamente a infiltração monomérica da dentina desmineralizada. A mesma ausência de influência negativa quando da utilização de clorexidina sobre a dentina condicionada e previamente a aplicação do sistema adesivo foi observada por outros autores.<sup>4,5,9</sup> Isso deve ser considerado condição *sine qua non* para a incorporação desse passo nos procedimentos restauradores adesivos.

Devido a sua característica extremamente ácida (pH 0.7), poderia ser especulado que a simples aplicação do ácido fosfórico promoveria a desnaturação, parcial ou total, das MMPs liberadas durante a desmineralização da dentina, inibindo, como consequência, sua atuação sobre as fibrilas de colégeno expostas pela remoção do conteúdo mineral. De fato, Mazzoni et al.<sup>16</sup> (2006) demonstraram que a utilização de ácido fosfórico por 15 segundos inativou quase que completamente a atividade proteolítica da dentina (98,1%). Entretanto, no mesmo estudo, os autores também

demonstraram que sistemas adesivos convencionais simplificados apresentam potencial de reativação de enzimas endógenas (MMPs) presentes na dentina, previamente inativadas pelo ácido fosfórico. Entre os sistemas adesivos investigados por esses autores, o sistema Prime & Bond NT foi o que promoveu a maior reativação da atividade proteolítica.

Embora a degradação das interfaces adesivas tenha sido observada para ambos os grupos, controle (sem clorexidina) e experimental (com clorexidina), para o último houve uma desaceleração do processo uma vez que redução significativa dos valores de resistência de união foi obtida apenas a partir do período de 7-12 meses, enquanto que para o grupo controle, redução significativa foi observada já no primeiro período de avaliação, ou seja, 1-5 meses. Conseqüentemente, no último período de avaliação, valores de resistência de união significativamente superiores foram observados para o grupo experimental em comparação aos valores obtidos para o grupo controle. É interessante ressaltar que do ponto de vista clínico e radiográfico todas as restaurações, mesmo após 18-20 meses estavam satisfatórias, sem sinais de desadaptação ou descoloração marginal, presença de lesões de cárie ou outro aspecto que sugerisse a ocorrência de infiltração marginal. Isso provavelmente ocorreu devido ao fato de as margens das restaurações estarem 100% estabelecidas em esmalte hígido.<sup>10,24</sup> Essas observações sugerem que a deterioração das interfaces adesivas ocorreu, principalmente, devido a fatores intrínsecos, embora não possa ser completamente excluída a possibilidade da ação da água (degradação hidrolítica) sobre os componentes da interface adesiva. Em relação à infiltração de colagenases exógenas, Armstrong et al.<sup>1</sup> (2006) e Toledano et al.<sup>31</sup> (2007) demonstraram que enzimas salivares como esterases e colagenases podem ser muito grandes para penetrar a interface dente-restauração<sup>7</sup> na presença de um adequado selamento marginal. Dessa forma, os



resultados do presente estudo indicam que a presença de clorexidina exerceu efeito positivo inibindo as metaloproteinases liberadas durante os procedimentos adesivos. Essa ação, entretanto, não foi duradoura o suficiente, para impedir que os efeitos deletérios do processo de degradação se manifestassem a partir do período de 7-12 meses de função das interfaces adesivas na cavidade bucal.

Carrilho et al.<sup>7</sup> (2007) demonstraram in vivo que a proteção contra a degradação promovida pela utilização da clorexidina no processo de adesão estendeu-se até 14 meses do estabelecimento da união resina-dentina. Entretanto, em seu estudo, os autores utilizaram dentes permanentes hígidos em contraste aos utilizados no presente trabalho, ou seja, dentes decíduos com lesão de cárie oclusal. Segundo esses autores, a ação em longo prazo da clorexidina pode ser explicada pelo seu confinamento na interface uma vez que a possibilidade de sua remoção pelo fluído circulante nos túbulos dentinários é minimizado pela formação dos *tags* de resina os quais obstruem esses túbulos. Em adição, os monômeros que recobrem as fibrilas de colágeno ligadas às moléculas de clorexidina, assim como a presença da camada de adesivo sobre a camada híbrida podem contribuir para a sua permanência na interface e conseqüente ação inibidora prolongada. Ainda, no presente estudo, foi utilizado o sistema Prime & Bond NT, o qual, segundo Mazzoni et al.<sup>16</sup> (2006), promove uma maior reativação das MMPs inativadas pelo ácido fosfórico do que o sistema Single Bond utilizado no estudo de Carrilho et al.<sup>7</sup> (2007).

Apesar das limitações do presente trabalho, como por exemplo o reduzido número de dentes/espécimes obtidos para os períodos mais longos de análise, os resultados obtidos são encorajadores e somam-se aos de outros estudos<sup>7,14</sup> que buscam melhorar a estabilidade longitudinal das interfaces adesivas na cavidade bucal. Entretanto, se por um lado a utilização de clorexidina favorece a estabilidade do

componente orgânico da dentina, por outro, o componente resinoso continua susceptível à degradação. Nesse sentido, pesquisas têm sido desenvolvidas avaliando a possibilidade de infiltrar a dentina desmineralizada e impregnada com etanol, ao invés de água, com monômeros essencialmente hidrófobos, como por exemplo o BisGMA, os quais seriam resistentes a degradação hidrolítica. Resultados favoráveis a esse conceito foram publicados recentemente por Tay et al.<sup>29</sup> (2007). Dessa forma, seria interessante avaliar se a associação da inibição exercida pela clorexidina e a infiltração da dentina desmineralizada com monômeros mais hidrófobos poderia resultar em efeito protetor sinérgico contra a degradação da união resina-dentina. A aplicação de soluções alcoólicas de clorexidina, ao invés de soluções aquosas, sobre a dentina desmineralizada pelo condicionamento ácido poderia ser investigada em estudos futuros.

Dentro das limitações do presente estudo e com base no delineamento experimental e resultados obtidos, pode ser concluído que após 18 meses de função na cavidade bucal, houve redução significativa do desempenho adesivo das interfaces produzidas. A utilização de clorexidina como coadjuvante no processo de adesão à dentina, além de não influenciar negativamente a resistência de união imediata, promoveu uma desaceleração significativa do processo de degradação das interfaces adesivas até o período de 6 meses de função dessas interfaces na cavidade bucal.

## **AGRADECIMENTOS**

Este estudo foi financiado pelas agências Brasileiras de pesquisa CNPq (processo 475134/2004-4) e FAPESP (processo 06/01781-2). Os autores reconhecem o apoio técnico prestado pelo Dr. Elliot W. Kitajima, diretor do centro de microscopia eletrônica NAP / MEPA (Escola de Agronomia Luiz de Queiróz, ESALQ, USP) e pelo Sr. Renato Barbosa Salaroli.

## RELEVÂNCIA CLÍNICA

A aplicação de clorexidina pós-condicionamento ácido da dentina reduz a susceptibilidade da união resina-dentina ao processo de degradação na cavidade bucal e não influencia negativamente o processo de adesão ao substrato dentinário.

## REFERÊNCIAS

1. Armstrong SR, Jessop JL, Vargas MA, Sou Y, Qian F, Campbell JA. Effects of exogenous collagenase and cholesterol esterase on the durability of the resin-dentin bond. *J Adhes Dent* 2006;8:151-160.
2. Birkedal-Hansen, H. Matrix metalloproteinases. *Adv Dent Res* 1995;9 (3 Suppl):16.
3. Boskey AL. The role of extracellular matrix components in dentin mineralization. *Crit Rev Oral Biol Med* 1991;2:369-387.
4. Brackett WW, Tay FR, Brackett MG, Dib A, Sword RJ, Pashley DH. The effect of chlorhexidine on dentin hybrid layers in vivo. *Oper Dent* 2007;32:107-111.
5. Carrilho MR, Carvalho RM, de Góes MF, di Hipolito V, Geraldeli S, Tay FR, et al. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *J Dent Res* 2007;86:90-94.
6. Carrilho MR, Carvalho RM, Tay FR, Pashley DH. Effects of storage media on mechanical properties of adhesive systems. *Am J Dent* 2004;17:104-108.
7. Carrilho MR, Geraldeli S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjaderhane L et al. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res* 2007;86:529-533.
8. Carvalho RM, Chersoni S, Frankenberger R, Pashley DH, Prati C, Tay FR. A challenge to the conventional wisdom that simultaneous etching and resin

- infiltration always occurs in self-etch adhesives. *Biomaterials* 2005;26:1035-1042.
9. Castro FLA, Andrade MF, Duarte SLL, Vaz LG, Ahid FJM. Effect of 2% chlorhexidine on microtensile bond strength of composite to dentin. *J Adhes Dent* 2003;5:129-138.
  10. De Munk J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K et al. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res* 2003; 82:136-140.
  11. Ferrari M, Tay FR. Technique sensitivity in bonding to vital, acid-etched dentin. *Oper Dent* 2003;28:2-8.
  12. Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8 and 9 by chlorhexidine. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999;6: 437-439.
  13. Hashimoto M, Ohno H, Endo K, Kaga M, Sano H, Oguchi H. The effect of hybrid layer thickness on bond strength: demineralized dentin zone of the hybrid layer. *Dent Mater* 2000;16:406-411.
  14. Hebling J, Pashley DH, Tjäderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res* 2005;84:741-476.
  15. Martin-de Las Heras S, Valenzuela A, Overall CM. The matrix metalloproteinase gelatinase A in human dentine. *Arch Oral Biol* 2000;45:757-765.
  16. Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, Breschi L, Mannello F, Tjäderhane L, Toledano M, Pashley EL, Tay FR. Reactivation of inactivated endogenous

- proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. *Biomaterials* 2006;27:4470-4476.
17. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res* 1982;16:265-273.
  18. Nakabayashi N, Watanabe A, Arao T. A tensile test to facilitate identification of defects in dentine bonded specimens. *J Dent* 1998;26:379-85.
  19. Oliveira SS, Marshall SJ, Habelitz S, Gansky SA, Wilson RS, Marshall Jr GW. The effect of a self-etching primer on the continuous demineralization of dentin. *Eur J Oral Sci* 2004; 112: 376-383.
  20. Palosaari H, Rennington CJ, Larmas M, Edwards DR, Tjäderhane L, Salo T. Expression profile of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs in mature human odontoblasts and pulp tissue. *Eur J Oral Sci* 2003;111: 117-127.
  21. Palosaari H, Wahlgren J, Larmas M, Ronka H, Sorsa T, Salo T et al. The expression of MMP-8 in human odontoblasts and dental pulp cells is down-regulated by TGF-beta1. *J Dent Res* 2000;79:77-84.
  22. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res* 2004;83: 216-221.
  23. Reis AF, Arrais CAG, Novaes PD, Carvalho RM, de Goes MR, Giannini M. Ultramorphological analysis of resin-dentin interfaces produced with water-based single-step and two-step adhesives: nanoleakage expression. *J Biomed Mater Res Par B: Appl Biomater* 2004;71:90-98.

24. Reis AF, Giannini M, Pereira PNR. Effects of a peripheral enamel bond on the long-term effectiveness of dentin bonding agents exposed to water in vitro. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 2008; 85B:10-17.
25. Sano H, Yoshiyama M, Ebisu S, Burrow MF, Takatsu T, Ciucchi B et al. Comparative SEM and TEM observations of nanoleakage within the hybrid layer. *Oper Dent* 1995;20:160-167.
26. Spencer P, Wang Y. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions. *J Biomed Mater Res* 2002;62:447-456.
27. Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001;17:463-516.
28. Sulkala M, Tervahartiala T, Sorsa T, Larmas M, Salo T, Tjäderhane L. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin. *Arch Oral Biol* 2007;52:121-127.
29. Tay FR, Pashley DH, Kapur RR, Carrilho MR, Hur YB, Garrett LV, Tay KC. Bonding BisGMA to dentin--a proof of concept for hydrophobic dentin bonding. *J Dent Res* 2007;86:1034-1039.
30. Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M, Salo T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *J Dent Res* 1998;77(8):1622-1629.
31. Toledano M, Osorio R, Osorio E, Aguilera F, Yamauti M, Pashley DH. Effect of bacterial collagenase on resin-dentin bond degradation. *J Mater Sci Mater Med* 2007;18(12):2355-2361.
32. Wang Y, Spencer P. Hybridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. *J Dent Res* 2003;82:141-145.

Tabela 1. Materiais utilizados na pesquisa

<b>Material</b>	<b>Categoria</b>	<b>Composição</b>
Prime & Bond NT (Dentsply, Milford, DE, EUA)	Sistema adesivo convencional simplificado	Resinas de di e trimetacrilato, sílica coloidal, PENTA, fotoiniciadores, estabilizantes, hidrofluoreto de cetilamina, acetona
Z250 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA)	Resina composta híbrida	Álcool etílico, Bis-DMA, glycerol 1,3 dimetacrilato, copolímero de ácido acrílico e itacônico, água, diuretano dimetacrilato, zircônica, sílica
Scotchbond Etchant (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA)	Condicionador ácido	Ácido fosfórico 35%
Chlorhexidina (FGM Produtos Odontológicos, Joinvile, SC, Brasil)	Digluconato de clorexidina	Digluconato de clorexidina 2%

Tabela 2. Valores de resistência de união (MPa) em função do período de envelhecimento na cavidade bucal e aplicação ou não de clorexidina

Período de envelhecimento	Aplicação de clorexidina			
	Sim	n*	Não	n
Até 30 dias	29,7 (10,6)** a A***	3/9	31,0 (11,7) a A	3/8
1-5 meses	27,5 (11,5) [7,4%] a AB	5/16	21,5 (11,6) [30,6%] b B	5/16
10-12 meses	21,9 (9,5) [26,3%] a BC	3/11	17,4 (6,8) [43,9%] a B	3/8
18-20 meses	18,7 (6,4) [37,0%] a C	2/8	13,5 (5,1) [56,5%] b C	2/9

\*número de dentes/espécimes

\*\* média (desvio-padrão) [porcentagem de redução da RU em relação ao período até 30 dias]

\*\*\* valores indicados por letras minúsculas iguais nas linhas e maiúsculas iguais nas colunas não diferem estatisticamente (Tukey,  $p > 0,05$ )



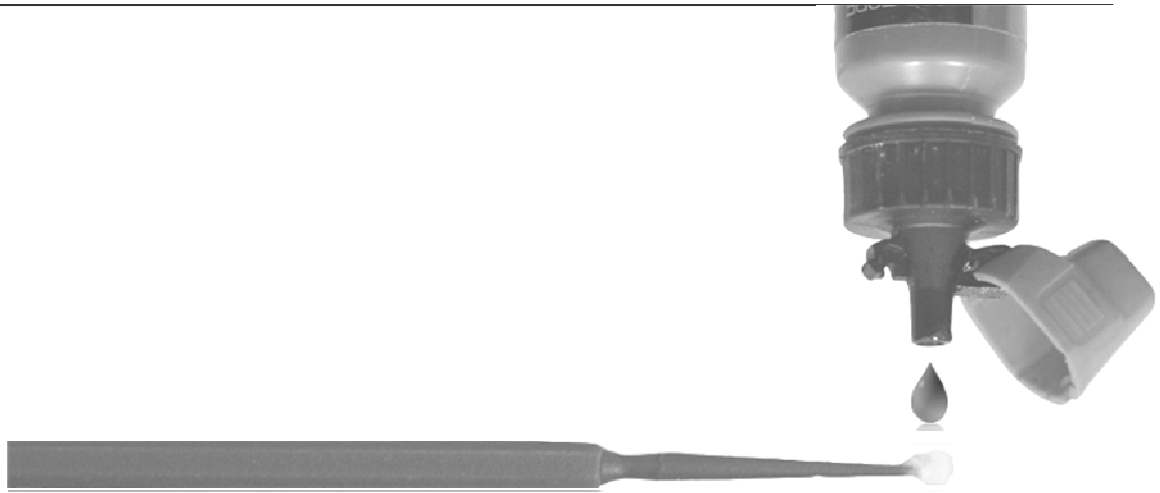
Tabela 3. Distribuição dos tipos de fraturas em função do período de envelhecimento na cavidade bucal e aplicação ou não de clorexidina

Período de envelhecimento	Aplicação de clorexidina			
	Sim	n*	Não	n
Até 30 dias	A = 9 (100%)**	3/9	A = 6 (75,0%)	3/8
			CR =1 (12,5%) CD =1 (12,5%)	
1-5 meses	A=14 (87,5%)	5/16	A = 10 (62,5%)	5/16
	CR =1 (6,3%)		CR =2 (12,5%)	
	CD =1 (6,3%)		CD =4 (25,0%)	
10-12 meses	A = 11 (100%)	2/11	A = 7 (87,5%) CR =1 (12,5%)	2/8
18-20 meses	A = 7 (100%)	2/8	A = 9 (100%)	2/9

\*número de dentes/espécimes

\*\*frequência absoluta/porcentagem em relação ao número de espécimes do grupo

A= adesiva; M=mista; CR=coesiva de resina; CD=coesiva de dentina



## **Considerações Finais**



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentre os vários fatores que podem interferir no processo de adesão de materiais poliméricos ao substrato dentinário como os relacionados à composição dos sistemas adesivos, à técnica de aplicação desses sistemas e as características próprias dos substratos onde são aplicados, no primeiro estudo do presente trabalho objetivou-se colaborar com o impasse que existe sobre o efeito das características da dentina de dentes decíduos e permanentes na resistência de união de sistemas adesivos convencionais simplificados, haja vista que os trabalhos da ainda literatura são controversos (Mazzeo et al.<sup>20</sup>, 1997, El-Kalla et al.<sup>13</sup>, 1998, Burrow et al., 2002; Bordin-Aykroyd et al.<sup>3</sup>, 1992; Senawongse et al.<sup>28</sup>, 2004). Os resultados obtidos demonstraram que os valores de resistência de união produzidos foram equivalentes para dentes permanentes e decíduos. Isso foi verdadeiro para todos os sistemas convencionais simplificados investigados. Esses resultados encontram respaldo nos estudos mais recentes, os quais também utilizaram a microtração como metodologia (Burrow et al.<sup>6</sup>, 2002; Soares et al.<sup>29</sup>, 2005). É importante ressaltar que extrapolações devem ser realizadas com cautela, se não evitadas, uma vez que no presente estudo, foram utilizados dentes decíduos velhos em comparação a dentes permanentes jovens, e que a resistência de união foi avaliada apenas em dentina superficial para os dois substratos.

Algumas características diferenciais entre a dentina de dentes decíduos e permanentes, as quais são freqüentemente utilizadas para justificar as diferenças nos valores de resistência de união, quando encontradas (Uekusa et al.<sup>34</sup>, 2006; Senawongse et al.<sup>28</sup>, 2004), ainda necessitam maiores comprovações científicas. Por exemplo, enquanto no estudo de Sumikawa et al.<sup>31</sup> (1999) foi observado uma maior densidade e diâmetro tubular para a dentina de dentes decíduos, os resultados descritos por Koutsi et

al.<sup>19</sup> (1994) sugerem o oposto. Da mesma forma, a maior reatividade as soluções ácidas por parte da dentina decídua devido ao seu menor conteúdo mineral, como sugerido por Nör et al.<sup>22,23</sup> (1996; 1997) e Sardella et al.<sup>27</sup> (2005), ainda não está comprovada cientificamente.

Entretanto, em face aos resultados obtidos no estudo 1, pode ser sugerido que não existe a necessidade de protocolos diferentes quando procedimentos que envolvam adesão à dentina forem realizados em dentes decíduos e permanentes. Obviamente, estudos clínicos longitudinais seriam importantes para consolidar tal sugestão.

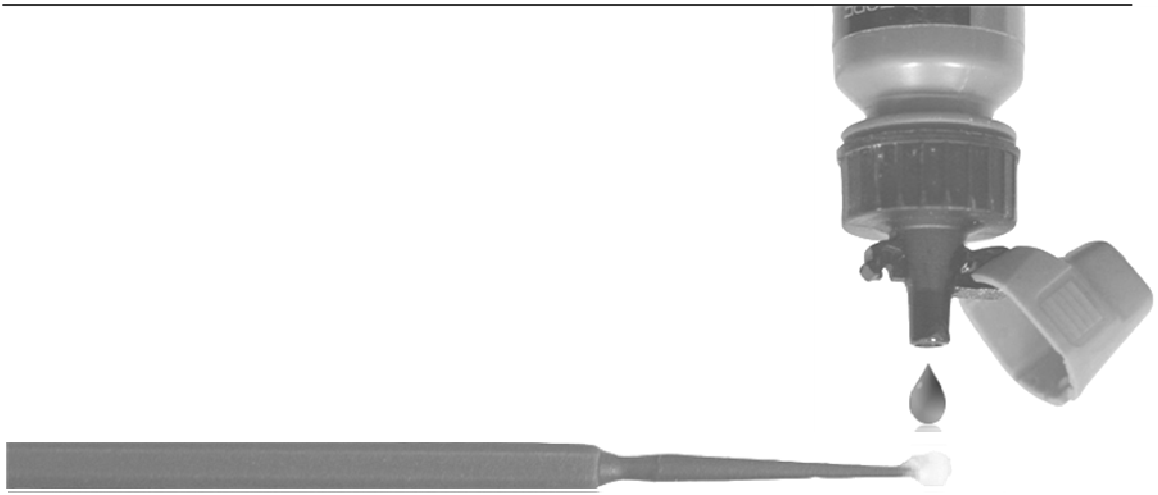
Outro aspecto avaliado no presente trabalho, contemplado nos estudos 2 e 3, foi a incorporação da clorexidina como coadjuvante no processo de adesão dentinária com o objetivo de desacelerar a degradação da interface adesiva. Dos fenômenos que resultam na deterioração da união resina-dentina, degradação hidrolítica e enzimática, tem sido demonstrado que a última é mediada por enzimas presentes na própria dentina (MMPs), as quais são liberadas e ativadas durante os procedimentos adesivos (Mazzoni et al.<sup>21</sup>, 2006; Pashley et al.<sup>24</sup>, 2004). Essas endopeptidases atuam sobre as fibrilas de colágeno expostas nas interfaces, quer seja pela infiltração incompleta da dentina desmineralizada (Eliades et al.<sup>12</sup>, 2001; Spencer, Wang,<sup>30</sup> 2002; Tay et al.<sup>32</sup>, 1996) ou pela eluição, em longo prazo, do conteúdo resinoso (Hashimoto et al.<sup>16</sup>, 2000), resultando na degradação da camada híbrida (Hebling et al.<sup>17</sup>, 2005; Brackett et al.<sup>4</sup>, 2007; Carrilho et al.<sup>7</sup>, 2007; Carrilho et al.<sup>8</sup>, 2007).

A inclusão da clorexidina no processo de adesão dentinária foi proposta pela primeira vez por Pashley et al.<sup>24</sup> (2004), uma vez que a literatura demonstrava que essa substância apresentava potencial de inibição de MMPs (Gendron et al.<sup>15</sup>, 1999). Entretanto, modificações técnicas no processo de adesão, não devem influenciar negativamente o desempenho imediato de sistemas adesivos, resguardadas as situações

onde esse efeito negativo teria uma substancial contribuição na estabilidade longitudinal das interfaces produzidas. Dessa forma, os resultados do estudo 2 demonstraram que, além de não interferir negativamente nos valores de resistência de união produzidos tanto em dentes decíduos como em dentes permanentes, a utilização de clorexidina melhorou significativamente o desempenho de dois (Prime & Bond NT e Single Bond) dos três sistemas adesivos convencionais simplificados investigados. Esses resultados corroboram com outros estudos (de Castro et al.<sup>10</sup>, 2003; Carrilho et al.<sup>7</sup>, 2007; Brackett et al.<sup>4</sup>, 2007) e oferecem segurança para que esse procedimento possa ser efetivamente considerado na prática clínica. Conseqüentemente, no estudo 3, a utilização de clorexidina como coadjuvante no processo de adesão foi investigada in vivo para dentes decíduos.

Os sistemas adesivos contemporâneos têm apresentado resultados imediatos satisfatórios em termos de retenção e selamento da união resina-dentina, conseqüentemente suportando as tensões geradas pela contração de polimerização da resina restauradora (Breschi et al.<sup>5</sup>, 2008). Entretanto, a estabilidade longitudinal dessas interfaces ainda representa um desafio à funcionalidade mecânica e biológica das restaurações adesivas (Breschi et al.<sup>5</sup>, 2008). Estudos realizados in vivo têm demonstrado degradação da camada híbrida em períodos tão curtos quanto 6 meses após o seu estabelecimento (Hebling et al.<sup>17</sup>, 2005; Brackett et al.<sup>4</sup>, 2007). Portanto, cresce o número de trabalhos científicos que procuram melhorar a resistência das interfaces adesivas aos desafios impostos pela cavidade bucal. Nesse sentido, no estudo 3, os resultados demonstraram que a utilização de clorexidina reduziu a velocidade de degradação das interfaces produzidas. Redução significativa dos valores de resistência de união foi observada apenas no período de 10 a 12 meses de função na cavidade bucal, enquanto que, nos dentes que não receberam clorexidina, essa redução foi visível

no primeiro período de avaliação, 1-5 meses. Ao final do experimento (18-20 meses), redução da resistência de união de 37% foi observada para o grupo experimental em comparação à redução de 56,5% observada para o grupo controle. Em concordância com outros trabalhos (Hebling et al.<sup>17</sup>, 2005; Carrilho et al.<sup>8</sup>, 2007; Brackett et al.<sup>4</sup>, 2007), esses resultados favoráveis indicam que a incorporação dessa modificação da técnica de adesão na prática clínica parece bastante promissora.



## Referências



## REFERÊNCIAS

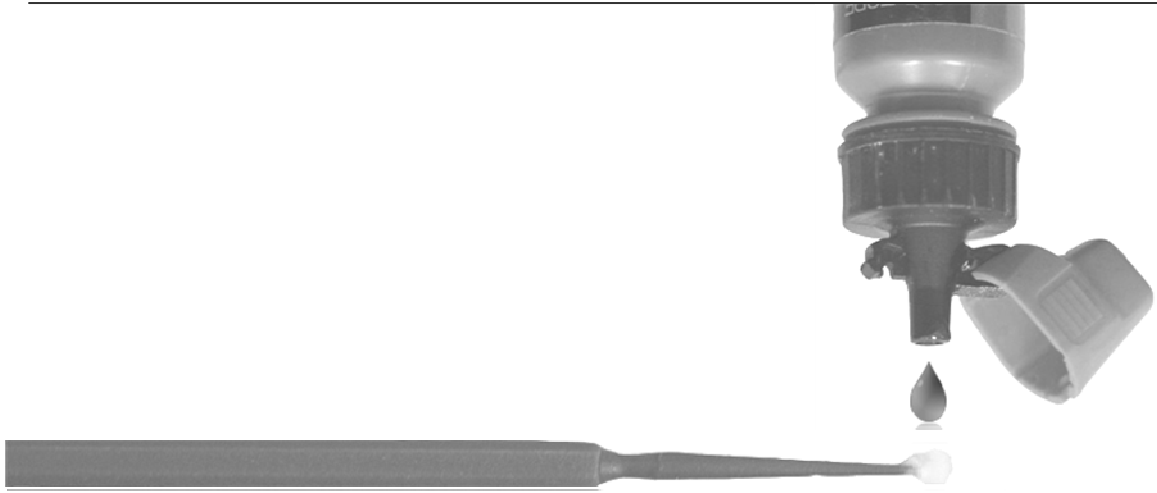
1. Angker L, Nockolds C, Swain M, Kilpatrick N. Quantitative analysis of mineral content of sound and carious primary dentine using BSE imaging. *Arch Oral Biol.* 2004; 49: 99-107.
2. Birkedal-Hansen, H. Matrix metalloproteinases. *Adv Dent Res.* 1995; 9 (3 Suppl):16.
3. Bordin-Aykroyd S, Sefton J, Davies EH. In vitro bond strengths of three current dentin adhesives to primary and permanent teeth. *Dent Mater.* 1992; 8: 74-8.
4. Brackett WW, Tay FR, Brackett MG, Dib A, Sword RJ, Pashley DH. The effect of chlorhexidine on dentin hybrid layers in vivo. *Oper Dent.* 2007; 32: 107-11.
5. Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater.* 2008; 24: 90-101.
6. Burrow MF, Nopnakeepong U, Phrukkanon S. A comparison of microtensile bond strengths of several dentin bonding systems to primary and permanent dentin. *Dent Mater.* 2002; 18: 239-45.
7. Carrilho MR, Carvalho RM, de Góes MF, di Hipolito V, Geraldeli S, Tay FR, et al. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *J Dent Res.* 2007; 86: 90-4.
8. Carrilho MR, Geraldeli S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjaderhane L et al. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res.* 2007; 86: 529-33.
9. Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M, Menashi S The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. *J Dent Res.* 2006; 85: 22-32.



10. de Castro FL, de Andrade MF, Duarte Júnior SL, Vaz LG, Ahid FJ. Effect of 2% chlorhexidine on microtensile bond strength of composite to dentin. *J Adhes Dent.* 2003 5: 129-38.
11. De Munk J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K et al. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res.* 2003; 82: 136-40.
12. Eliades G, Vougiouklakis G, Palaghias G. Heterogeneous distribution of single-bottle adhesive monomers in the resin-dentin interdiffusion zone. *Dent Mater.* 2001; 17: 277-83.
13. El-Kalla IH, Garcia-Godoy F. Bond strength and interfacial micromorphology of four adhesive systems in primary and permanent molars. *J Dent Child.* 1998; 8: 169-76.
14. Fanchon S, Bourd K, Septier D, Everts V, Beertsen W, Menashi S, et al. Involvement of matrix metalloproteinases in the onset of dentin mineralization. *Eur J Oral Sci.* 2004; 112: 171-6.
15. Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8 and 9 by chlorhexidine. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1999; 6: 437-9.
16. Hashimoto M, Ohno H, Endo K, Kaga M, Sano H, Oguchi H. The effect of hybrid layer thickness on bond strength: demineralized dentin zone of the hybrid layer. *Dent Mater.* 2000; 16: 406-11.
17. Hebling J, Pashley DH, Tjäderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res.* 2005; 84: 741-6.
18. Hirayama A, Yamada M, Miake K. An electron microscope study on dentinal tubules of human deciduous teeth. *Shikwa Gakuho.* 1992; 86: 1021-31. Apud

- Sumikawa DA et al. Microstructure of primary tooth dentin. *Pediatr Dent.* 1999; 21: 439-44.
19. Koutsi V, Noonan RG, Horner JA, Simpson MD, Matthews WG, Pashley DH. The effect of dentin depth on the permeability and ultrastructure of primary molars. *Pediatr Dent.* 1994; 16: 29-35.
20. Mazzeo N, Ott NW, Hondrum SO. Resin bonding to primary teeth using three adhesive systems. *Pediatr Dent.* 1997; 17: 112-15.
21. Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, Breschi L, Mannello F, Tjäderhane L, Toledano M, Pashley EL, Tay FR. Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. *Biomaterials.* 2006; 27: 4470-76.
22. Nör JE, Feigal RJ, Dennison JB, Edwards CA. Dentin bonding: SEM comparison of the resin-dentin interface in primary and permanent teeth. *J Dent Res.* 1996; 75: 1396-403.
23. Nör JE, Feigal RJ, Dennison JB, Edwards CA. Dentin bonding: SEM comparison of the dentin surface in primary and permanent teeth. *Pediatr Dent.* 1997; 19: 246-52.
24. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res.* 2004; 83: 216-21.
25. Reis AF, Giannini M, Pereira PNR. Effects of a peripheral enamel bond on the long-term effectiveness of dentin bonding agents exposed to water in vitro. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater.* 2008; 85B:10-7.
26. Sanabe ME, Kantovitz KR, Costa CAS, Hebling J. Effect of acid etching time on the degradation of resin-dentin bonds produced in primary teeth. *Am J Dent.* (aceito para publicação em junho de 2008).

27. Sardella TN, de Castro FL, Sanabe ME, Hebling J. Shortening of primary dentin etching time and its implication on bond strength. *J Dent.* 2005; 33: 355-62.
28. Senawongse P, Harnirattisai C, Shimada Y, Tagami J. Effective bond strength of current adhesive systems on deciduous and permanent dentin. *Oper Dent.* 2004; 29: 196-202.
29. Soares FZ, Rocha Rde O, Raggio DP, Sadek FT, Cardoso PE. Microtensile Bond strength of different adhesive systems to primary and permanent dentin. *Pediatr Dent.* 2005; 27: 457-62.
30. Spencer P, Wang Y. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions. *J Biomed Mater Res.* 2002; 62: 447-56.
31. Sumikawa DA, Marshall GW, Gee L, Marshall SJ. Microstructure of primary tooth dentin. *Pediatr Dent.* 1999; 21: 439-44.
32. Tay FR, Gwinnett AJ, Wei SH. The overwet phenomenon: an optical, micromorphological study of surface moisture in the acid-conditioned, resin-dentin interface. *Am J Dent.* 1996; 9: 43-8.
33. Tjärderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M, Salo T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *J Dent Res.* 1998; 77: 1622-29.
34. Uekusa S, Yamaguchi K, Miyazaki M, Tsubota K, Kurokawa H, Hosoya Y. Bonding efficacy of single-step self-etch systems to sound primary and permanent tooth dentin. *Oper Dent.* 2006; 31: 569-76.



## **Anexos**





Figura 1.1 Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, de aprovação inicial para a realização dos experimentos 1 e 2.



Figura 1.2 Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, de aprovação inicial para a realização do experimento 3.

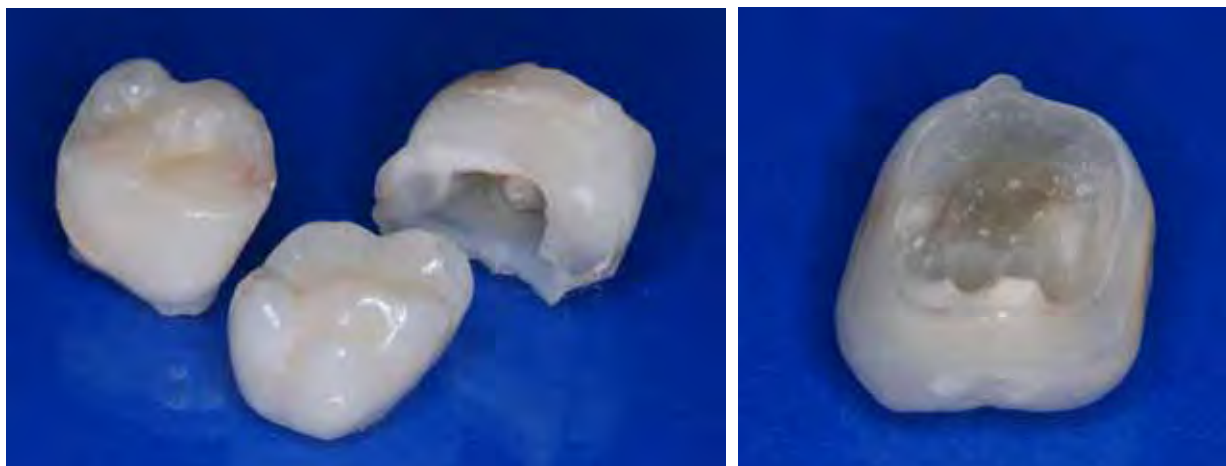


Figura 2.1. (a) Aspecto dos dentes decíduos selecionados para os experimentos 1 e 2; (b) detalhe de um molar decíduo superior evidenciando a acentuada rizólise.



Figura 2.2. Reconstrução da raiz em resina composta. (a) Início da inserção do primeiro incremento de resina de baixa viscosidade acrescida de rodamina B; (b) primeiro incremento completo cobrindo o teto da câmara coronária; e (c) raiz reconstruída em resina composta.

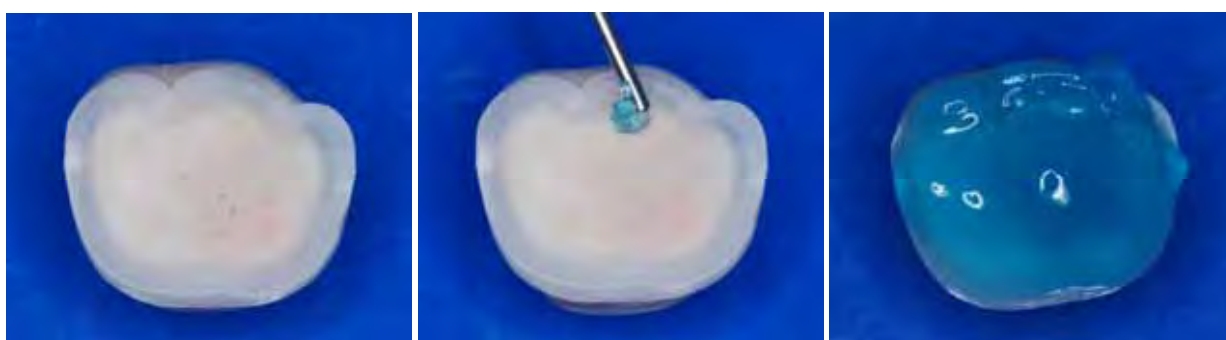


Figura 2.3. Superfície plana em dentina após desgaste da porção oclusal em politriz; (b) início da aplicação do ácido fosfórico; e (c) ácido fosfórico recobrendo toda a superfície exposta de dentina, o qual permaneceu em contato com o substrato por 15 segundos.



Figura 2.4. Secagem da superfície com papel absorvente após lavagem do ácido fosfórico; (b) aplicação de 20 uL de clorexidina 2% para os dentes do grupo experimental ou o mesmo volume de água destilada para os dentes do grupo controle. Esse passo foi realizado apenas no experimento 2; e (c) superfície coberta pela solução de clorexidina, mantida passivamente por 60 segundos.



Figura 2.5. Nova secagem da superfície com papel absorvente para a remoção dos excessos da solução de clorexidina e obtenção de uma superfície úmida; (b) início da aplicação do sistema adesivo, primeira camada; e (c) superfície completamente coberta pelo sistema adesivo. Observar o aspecto brilhante homogêneo.

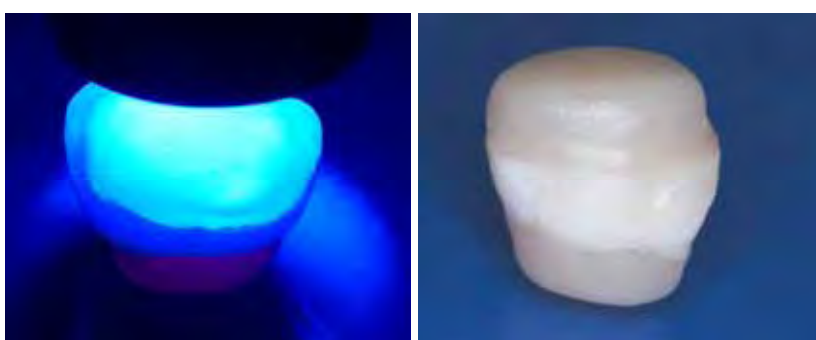


Figura 2.6. (a) Fotoativação do sistema adesivo com luz halógena por 10 segundos após a evaporação do(s) solvente(s); e (b) aspecto final da coroa reconstruída em resina composta.





Figura 3.1. (a) Imagem oclusal do arco superior de uma criança de 9 anos de idade. Molares decíduos contralaterais (círculos) com lesão de cárie oclusal; (b) Segundo molar decíduo superior direito em detalhe.



Figura 3.2. (a) Dente com isolamento absoluto; (b) Preparo cavitário de classe I realizado após profilaxia do campo operatório; (c) condicionamento ácido da dentina por 15 segundos.



Figura 3.3. (a) Aplicação da solução de clorexidina 2% mantida passivamente em contato com as paredes cavitárias por 60 segundos; (b) proteção da dentina com algodão esterilizado para secagem do esmalte e manutenção da superfície de dentina úmida; (c) aspecto clínico imediato da restauração final de resina composta.

Autorizo a reprodução deste trabalho.  
(Direitos de publicação reservados ao autor)

Araraquara, 31 de julho de 2008

HÉRICA ADAD RICCI