
Rodolfo Bruniera Anchieta

Avaliação das propriedades nanomecânicas e do comportamento micromecânico da interface dentina/adesivo antes e após a degradação hidrolítica. Análises através de nanoindentação e método dos elementos finitos tridimensional.

ARAÇATUBA - SP

2013

Rodolfo Bruniera Anchieta

Avaliação das propriedades nanomecânicas e do comportamento micromecânico da interface dentina/adesivo antes e após a degradação hidrolítica. Análises através de nanoindentação e método dos elementos finitos tridimensional.

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – Unesp, para a obtenção do Título de “Doutor em Odontologia” – Área de Concentração em Prótese Dentária.

Orientador: Prof. Adj. Eduardo Passos Rocha

Co-Orientador: Prof. Titular Renato H. Sundfeld

ARAÇATUBA - SP

2013

Catálogo na Publicação (CIP)

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

Anchieta, Rodolfo Bruniera.

A539a Avaliação das propriedades nanomecânicas e do comportamento micromecânico da interface dentina/adesivo antes e após a degradação hidrolítica. Análises laboratorial e computacional/ Rodolfo Bruniera Anchieta. - Araçatuba, 2013

72 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia de Araçatuba

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Passos Rocha

Co-orientador: Prof. Dr. Renato Herman Sundfeld

1. Adesivos dentinários 2. Análise de elementos finitos
3. Dentina 4. Camada híbrida I. T.

Black D3

CDD 617.69

Dados Curriculares

Rodolfo Bruniera Anchieta

Nascimento	19.08.1985 – São José do Rio Preto
Filiação:	Geraldo Alves Anchieta Filho Eugenia Luiza Lucas Bruniera Anchieta
2004-2007	Graduação em Odontologia Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP
2007-2007	Aperfeiçoamento em Periodontia Associação Brasileira de Odontologia – ABO
2008-2010	Mestrado em Odontologia, área de Prótese Dentária Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP
2009-2011	Especialização em Prótese Dentária Conselho Federal de Odontologia
2009-2009	Atualização em Prótese sobre Implante Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP
2009-2011	Especialização em Implantodontia-CIODONTO
2010-2013	Doutorado em Prótese Dentária Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP

Dedicatória

Dedicatória

*Aos meus pais, **Geraldo e Eugênia,***

Pai e Mãe,

Obrigado por estarem sempre presentes em todos os momentos! Obrigado pelo amor, carinho, afeto, pelos ensinamentos e pela dedicação.

Obrigado pelos esforços diários e de uma vida inteira para me proporcionar a mais rica das heranças: o conhecimento e a oportunidade de estudar.

*Às minhas irmãs, **Marina e Letícia,***

Marina e Letícia,

Agradeço a vocês por, na minha ausência, estarem presentes junto aos nossos pais.

Obrigado pelo amor e incentivo.

*À minha namorada, **Naiara Reis Gil,***

Obrigado pelo carinho, compreensão, nosso excelente convívio e pela paciência! Nos momentos mais difíceis, é que vemos o quanto nos amamos! Suas palavras de carinho deram-me forças para superar a distância que nos separava em 2012.

Serei eternamente grato por sua ajuda e carinho! Você é uma pessoa muito especial!

A vocês dedico esta conquista

Amo muito vocês!

A Deus,

Companheiro fiel e inseparável.

Obrigado pela oportunidade de viver.

Obrigado por me mostrar os melhores caminhos.

Obrigado por colocar em meu caminho pessoas maravilhosas.

Agradeço eternamente pela oportunidade de aprender todos os dias.

Agradecimentos

Especiais

Agradecimentos Especiais

Aos meus familiares, nas pessoas dos meus avós,

Werther e Nazira:

A vocês agradeço pelas palavras que me incentivaram em todos os momentos da minha vida. Pelos sábios ensinamentos que apenas os verdadeiros professores da vida podem ensinar!

Obrigado também pela companhia e amor. Vocês contribuíram e estiveram sempre presentes em toda minha formação!

“In Memoriam”

Avós Geraldo e Odete

Serei sempre grato pelo carinho, amor, pelos incomparáveis momentos que passamos juntos, aos sábios ensinamentos transmitidos e aos incentivos nos estudos! Para mim, Vocês sempre serão espelhos de como conduzir a vida!

Ao meu orientador, Prof. Adj. Eduardo Passos Rocha:

Agradeço ao sr. pela oportunidade e confiança em mim depositada durante todos esses anos de convívio. Obrigado pela amizade e dedicação à minha formação como cirurgião dentista e futuro professor.

Ao Dr. Paulo Guilherme Coelho:

Agradeço pela oportunidade, pela confiança em mim depositada. Sou muito grato por tudo que fez durante o Estágio de Doutorado Sanduíche. Os aprendizados, conhecimentos e amizades, feitos durante esse período, serão levados comigo para sempre!

Ao meu co-orientador Prof. Titular. Renato Herman Sundfeld,

Agradeço ao sr. pela amizade, pelo bom convívio e pelas oportunidades compartilhadas. Admiro sua honestidade, sinceridade e dedicação!

Ao Amigo Lucas Silveira Machado

Agradeço pela sua amizade verdadeira e sincera! Obrigado pelo agradável convívio, companheirismo e ajuda nesses últimos anos. Nos momentos difíceis, é que vemos quem são os verdadeiros amigos e, com certeza, você é um deles!

Agradecimentos

A minha sincera gratidão. . .

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” na pessoa da Diretora **Profa. Dra. Ana Maria Pires Soubhia**, pela oportunidade de realização do curso de doutorado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP na pessoa de seu Coordenador **Profa. Dra. Maria José Hitomi Nagata**.

À New York University – College of Dentistry, Department of Biomaterials and Biomimetics” na pessoa do Chair Dr. Van P. Thompson, pela oportunidade de realização do Estágio de Pesquisa no Exterior.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo- FAPESP, pelo apoio ao projeto na forma de bolsa de doutorado (processo # 2010/12926-7 e 201207012-1).

Ao Dr. Nick Tovar, Professor da New York University – College of Dentistry, Department of Biomaterials and Biomimetics, obrigado pelos ensinamentos e oportunidades!

Aos Professores do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, pelos essenciais

ensinamentos durante o curso de graduação e pós-graduação, e agradável convivência. Que Deus os abençoe!

À Fundação para o Desenvolvimento da UNESP – Fundunesp, pelo auxílio financeiro concedido (processo # 90934/13- DFP).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela bolsa de doutorado do Programa de Demanda Social.

Aos Professores, funcionários e pós-graduandos do Departamento de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, pela disponibilidade concedida para utilizar os equipamentos do departamento, também pela ajuda na metodologia e agradável convivência.

Aos amigos: Lucas Machado, Daniel Bernabé, Fernando Guastaldi, Juliana Delben, Heloísa Fonseca Marão, Marcos, Ramiro Murata, Vanessa Pardi, Fábio Lorenzoni, Yamaguchi Satoshi, Stephanie Ishack, Daniel Yoo agradeço a todos não só pela amizade, mas sobretudo pelos ótimos momentos vividos durante o doutorado na cidade de Nova York. Jamais me esquecerei de vocês!

Ao Dr. André Figueiredo Reis e Dr. Marcelo Giannini, obrigado pela atenção e ajuda com a metodologia de nanoinfiltração.

Ao prof. Dr. Paulo Henrique dos Santos, obrigado pela disponibilidade e ajuda no desenvolvimento do doutorado. Agradeço também pela ajuda e incentivos diários na realização do projeto de pesquisa do doutorado.

Aos Professores do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, pelos essenciais ensinamentos durante o curso e agradável convivência. Que Deus os abençoe!

A todos os colegas de Pós-graduação, em especial: Lucas Machado, Ana Paula Martini, Daniel Bernabé, Fernaldo Guastaldi, Igor Marioto Beneti, Amílcar Freitas Junior, Erika Almeida, Juliana Delben, Valentin Barão, Fernanda Oliveira, Vanessa Rahal, Leticia, por tudo o que pude aprender com vocês, companherismo e pelas alegrias e desafios compartilhados.

Aos Funcionários do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, pelo dia a dia compartilhado, pela atenção e ajuda em todos os momentos.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, pela eficiência, atenção e disponibilidade. Minha sincera gratidão!

A todos os meus amigos, em especial: Diego, Gil, Lucas, Murillo, Paulo, Pedro, Thomas, agradeço a vocês pela companhia sempre presente, pelo apoio, e pelos momentos maravilhosos que partilhamos com nossa amizade!

“O mérito é um reconhecimento que devemos a todos”

“MEU MUITO OBRIGADO”

Epígrafe

*Só existem dois dias no ano em que nada pode ser feito.
Um se chama ontem e o outro se chama amanhã,
portanto, hoje é o dia certo para amar, acreditar, fazer e
principalmente viver.*

Dalai Lama.



Resumo

Anchieta RB. Avaliação das propriedades nanomecânicas e do comportamento micromecânico da interface dentina/adesivo antes e após a degradação hidrolítica. Análises através de nanoindentação e método dos elementos finitos tridimensional. [tese]. Araçatuba Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista-UNESP, 2013.

Resumo

OBJETIVO: Avaliar a morfologia, a nanoinfiltração, o módulo de elasticidade e o comportamento micromecânico da interface dentina-adesivo (d-a) de espécimes submetidos à degradação, 24 horas após os procedimentos restauradores (T0), e 12 meses após armazenamento em solução de Hanks (T1). **MATERIAL E MÉTODO:** Cinco sistemas adesivos foram utilizados: SBMU – ScotchBond Multi-Usa; CSEB – Clearfil SE Bond; OUB – One-Up-Bond F; AEO – Adper Easy One; P90 – Adesivo autocondicionante P90. Cinquenta e dois terceiros molares humanos hígidos foram utilizados, 10 para cada grupo (n=10). Dois dentes foram utilizados para a análise da dentina. A espessura da CH e do adesivo, e o comprimento dos tags foram mensurados no microscópio eletrônico de varredura (MEV). A nanoinfiltração na interface d-a foi avaliada em T0 e T1 através do MEV. Quinze indentações foram feitas em cada estrutura da interface d-a para cada tempo de análise, para se obter o módulo de elasticidade. Cinco modelos de um espécime em dentina, restaurado com resina composta (41x41x82 µm), com dimensões e módulo de elasticidade baseados nos testes laboratoriais, foram elaborados utilizando o programa SolidWorks 2010, representando os grupos em uma situação de união ideal, e para os 2 tempos de análise (T0 e T1). Utilizou-se o programa de elementos finitos foi utilizado (AnsysWorkbench 14.0) para obtenção da tensão máxima principal. O teste Anova e post-hoc Teste-T, empregando-se modelos lineares mistos foram usados para verificar a diferença estatística no teste de nanoinfiltração e nanoindentação. O teste de Anova e HolmSidak foi utilizado para análise das dimensões. **RESULTADOS:** A CH mais espessa e os tags mais longos ocorreram para o SBMU ($p<0,05$). Houve redução no módulo de elasticidade da CH e dentina de T0 para T1 em todos os grupos ($p<0,05$). Não houve redução no módulo de elasticidade no adesivo do SBMU e P90 ($p>0,05$). Ocorreu aumento da nanoinfiltração de T0 para T1 em todos os grupos ($p<0,05$), exceto para o CSEB ($p>0,05$). Os níveis de tensão na interface d-a aumentaram de T0 para T1, sendo a CH, em contato com a dentina peritubular, o local em que a máxima tensão ocorreu em todos os modelos. **CONCLUSÃO:** Após 12 meses de armazenagem, ocorreu a degradação na interface d-a em todos os sistemas adesivos, sendo a intensidade da degradação diferente de acordo com o tipo de sistema adesivo utilizado.

Devido a degradação, ocorreram mudanças no módulo de elasticidade e na morfologia da interface d-, o que aumentou a concentração de tensão na base da camada híbrida após os 12 meses, caracterizando essa região como o elo mais frágil e o local mais suscetível à iniciação de falhas na união.

Palavras-Chave: Adesivos dentinários, Método dos elementos finitos, Dentina, Camada híbrida.



Abstract

Anchieta RB. Nanomechanical properties and micromechanical evaluation of dentin/adhesive interface after hydrolytic degradation. A nanoindentation and tridimensional finite element analyses [thesis]. Araçatuba. São Paulo State University-UNESP Araçatuba Dental School, 2013.

Abstract

OBJECTIVE: To evaluate the morphology, nanoleakage, elastic modulus and micromechanical behavior of dentin-adhesive (d-a) interface of specimens subjected to degradation, 24 hours after restorative procedures (T0) and 12 months after storage in Hanks' solution (T1). **MATERIAL AND METHODS:** Five adhesive systems were used (5 groups): SBMP – Scotchbond Multi-Purpose; CSEB – Clearfil SE Bond; OUB – One-Up Bond F-; AEO – Adper Easy One; P90 – Self-etching adhesive P90. Fifty two human sound third molars were used, 10 teeth for each group (n=10). The other two teeth were used to analysis the dentin morphology. At least 4 fragments of d-a interface (specimens) were obtained in mesio-distal direction from each tooth. Fifteen indentations were done for each structure in each time of analysis. Five models of dentin restored with composite resin (41x41x82 mm) were built using the software SolidWorks 2010, representing the groups analyzed in the laboratory tests in an ideal scenario. Other two models per group were built simulating the two times of analysis (T0 and T1). The dimensions and mechanical properties of the models followed the data obtained in the laboratory tests. The numerical analysis was performed using the finite element (AnsysWorkbench 14.0) to obtain the maximum principal stress. Two-way Anova linear mixed models and post-hoc T-test were used to determine the statistical significance from nanoindentation and nanoleakage tests. The test One-way ANOVA and HolmSidak ($p < 0.05$) were used for analysis of the SEM measurements. **RESULTS:** The thickest hybrid layer and bigger tags were found for SBMU ($p < 0.05$). There were decrease in elastic modulus for HL and dentin for all groups ($p < 0.05$). There were no decrease in elastic modulus on adhesive layer for SBMU and P90 ($p > 0.05$). There increase of nanoleakage between T0 and T1 for all groups ($p < 0.05$), except for CSEB ($p > 0.05$). The stress levels increase from T0 to T1, and the HI in contact wirt peritubular dentin was the place for the higher stress levels for all models. **CONCLUSION:** After 12 months of storage, degradation occurred d-a interface of all adhesive systems, and the intensity of degradation differ depending on the type of adhesive system used. The changes in elastic modulus and morphology of the d-a interface over time due to degradation increased stress concentration at the bottom of the hybrid layer after 12 months, being this place the weakest link, and more

prone to initiation of failure at interface . The d-a interface formed by the self-etching primer containing the functional monomer 10-MDP showed the best stability among all adhesive systems after 12 months of storage.

Keywords: Dentin adhesives, Finite element method, Dentin

Listas e Sumário

Lista de Figuras

- Figura 1.** Esquema ilustrando o posicionamento das indentações realizadas nas estruturas da interface d-a. Imagem obtida pelo escaneamento do nanoindentador. No total 15, indentações foram realizadas na camada de adesivo (AD), camada híbrida (CH) e dentina (D). Tags resinosos (RT)..... 39
- Figura 2.** Fotomicrografias de MEV. A – Dentina condicionada com o primer do CSEB, e a mensuração do raio da dentina peritubular; B – Condicionamento com ácido fosfórico por 15 segundos; C. Condicionamento com o primer do CSEB por 20 segundos; D, E – Modelos geométricos da dentina, com o diâmetro dos túbulos dentinários, dentina peritubular e intertubular, simulando as imagens em B e C, respectivamente..... 42
- Figura 3.** A. Macromodelo de dentina, restaurado com resina composta em forma de ampulheta, com área de secção transversal de 1,1 mm²; B – Micromodelo de dentina, restaurado com resina composta, com a malha de elementos finitos, e área de secção transversal (41 µm²) e comprimento de 82 µm, sendo proporcional às dimensões do macro-modelo. Em B, a malha de elementos finitos com elementos tetraédricos é mostrada, sendo o carregamento de 0,03 N em tração aplicada no topo da resina composta..... 43
- Figura 4.** SBMU, CSEB, OUB, AEO, P90 (x4k e 1k). A – Morfologia da interface d-a, em que se observa a espessura da camada híbrida (setas brancas), a camada de adesivo (AD), e os tags resinosos (rt) e ramificações laterais (seta preta). B e C – Observa-se, em T0 (24 h) e T1 (12 meses), a infiltração da interface d-a por partículas de prata. Em todos os grupos, nota-se o aumento da infiltração em T1, quando comparado com T0, exceto para o CSEB. O

	principal local de infiltração ocorreu na base da CH em todos os grupos. Nos grupos OUB e P90, observou-se infiltração de prata na camada de adesivo em alguns espécimes.....	46
Figura 5.	Média e erro padrão da infiltração na interface d-a após 24 h e 12 meses. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre adesivos em cada tempo, e letras minúsculas indicam diferença entre os tempos de análise para o mesmo adesivo.....	48
Figura 6	Níveis de tensão (σ_{max}) em todos os modelos, na camada híbrida (CH), no adesivo e na dentina abaixo da CH, e na dentina peritubular.....	51
Figura 7.	Visualização da tensão principal máxima em um corte paralelo aos túbulos dentinários, em 12 meses (T1). A – visualização do modelo; B – SBMU; C – AEO. Os picos de tensão ocorreram na base da CH em contato com a dentina peritubular. RC (resina composta), AD (adesivo), CH (camada híbrida), rt (tags). A seta preta indica o local da máxima tensão. A seta vermelha indica os defeitos na camada híbrida.....	52

Lista de Tabelas

Tabela 1.	Materiais adesivos utilizados no estudo (grupo, nome comercial e fabricante, classificação de acordo com o tipo de condicionamento e número de etapas para aplicação, e composição química).....	36
Tabela 2.	Descrição das dimensões (μm) dos modelos de elementos finitos.....	40
Tabela 3.	Média e desvio padrão das dimensões da espessura de camada híbrida, camada de adesivo e comprimento dos tags resinosos. Valores em micrometros (μm).....	45
Tabela 4.	Média (μm) e desvio padrão da espessura da base e do final dos tags resinosos.....	47
Tabela 5.	Média do módulo de elasticidade (GPa) e erro padrão para a dentina distante da CH, camada híbrida e camada de adesivo, em T0 e T1.....	49
Tabela 6.	Média do módulo de elasticidade (GPa) e erro padrão para a dentina abaixo da CH, em T0 e T1.....	50

Lista de Abreviaturas

Interface d-a = interface dentina adesivo

SBMU = ScotchBond Multi-Use

CSEB = Clearfil Se Bond

OUB = One Up Bond

AEO = Adper Easy One

P90 = Sistema adesivo Filtek P90

$\sigma_{\max}$ = tensão principal máxima (do inglês “maximum principal stress”)

N = Newton (unidade de medida de força (F) derivada do Sistema Internacional de Unidades-SI)

CH = camada híbrida

Tag = prolongamento resinoso

mm = milímetro (unidade de medida do Sistema Internacional de Unidades-SI)

μm = micrometros (unidade de medida do Sistema Internacional de Unidades-SI)

MPa = Mega Pascal (unidade de medida derivada do Sistema Internacional de Unidades-SI)

GPa = Giga Pascal (unidade de medida derivada do Sistema Internacional de Unidades-SI)

E = módulo de elasticidade

ν = coeficiente de Poisson



Sumário

Sumário

1 Introdução		28
2 Proposição		31
3 Materiais e Métodos		33
4 Resultados		44
5 Discussão		53
6 Conclusão		58
Referências		60
Anexos		65



Introdução

1. Introdução

Apesar de os sistemas adesivos contemporâneos apresentarem boas propriedades mecânicas e de união a curto prazo (Inoue et al., 2001), a estabilidade da interface adesiva em dentina ainda é questionável a longo prazo (Carrilho et al., 2005; De Munck et al., 2005; Hashimoto, 2010; Tay et al., 2005). Basicamente, dois mecanismos de degradação da interface de união podem ocorrer para os sistemas adesivos de condicionamento ácido total (“etch and rinse”) e para os autocondicionantes (“self-etch”): 1 – Hidrólise da rede de fibras colágenas expostas e não infiltrada pela resina adesiva; 2 – Hidrólise dos componentes poliméricos (Hashimoto et al., 2009).

A degradação das fibras colágenas expostas e não infiltradas pelo adesivo tem sido mais frequentemente associada ao uso dos sistemas “etch and rinse” (ER) (Hashimoto, 2010). Nestes sistemas, o condicionamento ácido da dentina é considerado uma das principais razões para a degradação da interface adesiva (Hashimoto, 2010), uma vez que a incompleta infiltração da resina, por entre a dentina condicionada, pode deixar as fibras colágenas expostas a um ambiente desfavorável, aumentando, assim, a degradação hidrolítica do colágeno pelo contato com os fluidos orais (Breschi et al., 2008). Já com os sistemas “self-etch” (SE), esse tipo de degradação também pode ocorrer (Sano et al., 1995), porém em menor frequência devido à suposta homogeneidade entre o potencial de desmineralização da dentina e a infiltração do adesivo, que causaria a menor exposição de colágeno não infiltrado abaixo da camada híbrida (Oliveira et al., 2004; Schulze et al., 2005).

A hidrólise dos componentes poliméricos acontece praticamente em todos os sistemas adesivos, sobretudo na camada híbrida, contudo, tem sido mais relacionada como sendo o principal mecanismo de degradação para os sistemas SE (Breschi et al., 2008; Hashimoto, 2010; Tay and Pashley, 2003). Para tornar possível a simplificação dos S&E, adicionou-se grande volume de monômeros ácidos hidrófilos e água na composição desses sistemas, resultando em interfaces mais hidrófilas e complexas (Breschi et al., 2008) e, ainda, mais susceptíveis à atração e absorção de água (Ito et al., 2005).

A instabilidade na interface dentina-adesivo (d-a), causadas pelo processo de hidrólise, pode ser indentificada pela análise do módulo de elasticidade das estruturas, assim como pela análise das alterações morfológicas, que possam ocorrer ao longo do tempo, que por sua vez podem modificar, diretamente, a distribuição das tensões através da interface adesiva (Hosaka et al., 2010).

Sendo assim, a criação de modelos computacionais por meio do método de elementos finitos, baseado nas características micromecânicas e morfológicas reais da interface d-a, permite analisar o

comportamento desses materiais e identificar fatores que possam contribuir para a falha na restauração ao longo do tempo.

Proposição

2. Proposição

Avaliar o módulo de elasticidade, a morfologia, a nanoinfiltração e o comportamento micromecânico da interface dentina-adesivo de cinco sistemas adesivos, 24 (T0) horas e 12 meses (T1), após a realização dos procedimentos restauradores.

As seguintes hipóteses nulas foram testadas: (1) Não há redução no módulo de elasticidade de T0 para T1 para os adesivos testados; (2) O tempo de armazenagem não aumenta o grau de nanoinfiltração para os sistemas adesivos testados; (3) Não há aumento na concentração de tensão na interface d-a entre T0 e T1.

Material e Métodos

3. Material e Métodos

Delineamento experimental e preparo dos espécimes

Os fatores em estudo foram o “sistema adesivo” em 5 níveis: (Scotchbond Multi-uso, Clearfil SE Bond, One Up Bond F, Adper Easy One e P90) (Tabela 1), assim como o “tempo” (T0 – 24 horas e T1 – 12 meses após a realização das restaurações). As variáveis de resposta foram o módulo de elasticidade, micromorfologia (dimensões e infiltração) e níveis de tensão ($\sigma_{\max}$).

Após a aprovação do projeto pelo comitê de ética em pesquisa e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, 52 terceiros molares hígidos com indicação de extração foram utilizados (# 2009-02142). Os dentes foram limpos e imediatamente armazenados em solução de soro fisiológico (0,09%) e timol 0,1% a 37° C, por no máximo 3 meses após as extrações.

Valendo-se de uma cortadeira metalográfica (Isomet 2000 – Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA), foi realizada a exposição da dentina por meio da secção da coroa, tomando-se como referência a junção amelocementaria (JAC) (3 mm acima da JAC). Foi criado, nos espécimes, a smear layer padronizada mediante a fricção dos mesmos em lixa d’água #600 por 1 minuto (Tay and Pashley, 2001).

Utilizaram-se 10 espécimes para cada um dos cinco sistemas adesivos usados (n =10) (Tabela 1). Dois espécimes extras foram utilizados para observação da dentina em corte perpendicular aos túbulos dentinários. A aplicação dos sistemas adesivos no tecido dentinário seguiu as orientações dos respectivos fabricantes. Em sequência, foi inserido, no tecido dentinário hibridizado, 2 mm de resina composta em 2 incrementos de 1 mm cada, que foram imediatamente após as suas inserções fotopolimerizados pelo tempo de 40 segundos (Radii Cal, SDI Dental Limited, Bayswater, VIC, Australia) sob intensidade de 1200mW/cm². A resina composta empregada foi a Z350 XT (3M ESPE, St. Paul, EUA), com exceção do sistema adesivo P90 que recebeu a resina específica P90 silorano (3M ESPE, Seefeld, Alemanha). A seguir, cada espécime foi seccionado no sentido mesio-distal, utilizando uma cortadeira metalográfica (Isomet 2000 – Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, USA), obtendo-se em média, para cada espécime, 4 fragmentos de 2 mm de espessura da interface adesiva.

Os fragmentos da interface d-a foram envelhecidos e armazenados em solução balanceada de Hanks, com trocas semanais, para não desmineralizar a dentina (Habelitz et al., 2002).

3.2 Morfologia da interface dentina-adesivo

Convém esclarecer que para a análise da morfologia da interface d-a, foi preparado um fragmento de cada espécime. Os fragmentos foram imersos em solução de glutaraldeído a 2,5% em tampão de 0,1 M sódio cacodilato, pH 7,4 (Electron Microscopy Science, Hatfield, PA, EUA) por 12 horas a 4° C. Após foram lavados em solução tampão 0,2 M de sódio cacodilato pH 7,4 (Electron Microscopy Science, Hatfield, PA, EUA) por 1 h, com 3 trocas realizadas, seguido de água destilada por 1 min. A desidratação foi realizada em concentração ascendente de etanol (25% por 20 min, 50% por 20 min, 75% por 20 min, 95% por 30 min, e imersão em 100% por 60 min). Em sequência, foram imersos em 100% hexametildisilazane (HMDS, Electron Microscopy Science, Hatfield, PA, EUA) por 10 min, e depois, colocados em papel filtro, dentro de um recipiente de vidro com tampa, em temperatura ambiente. Os fragmentos foram, então, embebidos em resina epóxi (Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA) e armazenados em temperatura ambiente por 24 h (Kaaden et al., 2003).

Após a cura da resina epóxi, os fragmentos foram polidos em lixas d'água (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) em ordem decrescente de abrasividade (600, 800 e 1200), seguido do polimento com feltro (MicroCloth, Buehler Inc., Lake Bluff, IL, EUA) e solução diamantada de 9, 6, 3, 1 e 0,5 µm (Metadi, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA).

Em uma cuba ultrassônica, os fragmentos foram lavados em etanol a 100% por 5 min, e depois, secados, desmineralizados em 6N HCl por 30 seg, e desproteinizados em 2% NaOCl por 10 min (Duarte et al., 2009; Frankenberger et al., 2001). Após serem secos, foram montados em dispositivos de alumínio e cobertos por um filme de ouro (Emitech K650, Emitech Products Inc., Houston, TX, USA) a 10 mA por 4 min. Foram, então, observados em MEV (Hitachi S-3500N, Hitachi Science System Ltd., Osaka, Japão) em aceleração de voltagem de 5kV e distância de trabalho de 10 mm (x500, x1000, x2000 e x 4000). Três imagens igualmente espaçadas e de mesma magnificação (esquerda, centro e direita) foram obtidas de cada fragmento, e mensurações lineares foram feitas pelo software PCI Quartz 5.5. O teste de Anova 1 fator e Holm-Sidak ($p < 0,05$) foram aplicados para verificar a diferença entre os grupos.

Tabela 1 – Materiais adesivos utilizados no estudo (grupo, nome comercial e fabricante, classificação de acordo com o tipo de condicionamento e número de etapas para aplicação, e composição química).

Grupo	Produto e Fabricante	Classificação	Composição Química
SBMU	Scotchbond Multi-Usó, 3M/ESPE, St Louis, EUA	ER 3 passos	Primer: water, HEMA, Copolymer of acrylic and itaconic acids. Bond: BisGMA, HEMA
CSEB	Clearfil SE Bond, Kuraray Medical, Tokio, Japão	SE 2 passos	Primer: HEMA, 10-MPD, Hydrophilic aliphatic dimethacrylate, dl-Camphorquinone, Water, Accelerators, Dyes, Others. Bond: BisGMA, HEMA, 10-MDP, Hydrophobic aliphatic dimethacrylate, Colloidal silica, DL-Camphorquinone, Water, Accelerators, Initiators, Others
OUB	One Up Bond F Tokuyama Dental, Tokio, Japao	SE 1 passo	Agent A: MAC-10, bisphenol A polyethoxy dimethacrylate, dubutylhydroxy toluene, methacryloxyalkyl acid phosphate (phosphoric acid monomer)m methyl methacrylate. Agent B: 2-dimethylminoethyl methacrylate, 2-hydroxyethyl methacrylate, dibutyl hydroxy toluene, MMA, water
AEO	Adper Easy One, 3M/ESPE, St Louis, EUA	SE 1 passo	BisGMA, HEMA, Ethanol, water, phosphoric acid-6-methacryloxy-hexylesters, Silane treated silica, 1,6-Hexanediol dimethacrylate, copolymer of acrylic and itaconic acid, ethyl metacrylate, camphorquinonem 2,46-trimethylbenzoyldiphenylphosphine oxide
P90	Adesivo P90, 3M ESPE, Seefeld, Alemanha	SE 2 passos	Primer: BisGMA, HEMA, phosphoric acid-6-methacryloxy-hexylesters, Ethanol, water, silane treated silica, ,6-Hexanediol dimethacrylate, ethyl metacrylate, copolymer of acrylic and itaconic acid, phosphine oxide, DL-camphorquinone, Ethy 4-dimethyl Aminobenzoate, Methyl alcohol. Bond: Substituted dimethacrylate, silane treated silica, TEGDMA, phosphoric acid methacryloxy-hextlesters, DL-camphorquinone, 1,6-Hexanediol dimethacrylate.

BisGMA (Bisphenol A Diglycidyl Ether Dimethacrylate); HEMA (2- Hydroxymethyl methacrylate); 10-MDP (2- Hydroxymethyl methacrylate); MAC-10 (11-Methacryloxy-1,1-undecanedicarboxylic acid); TEGDMA (Trethylene glycol dimethacrylate); MMA (methyl methacrylate).

3.3 Nanoinfiltração

Para averiguar a nanoinfiltração, dois fragmentos de cada espécime foram utilizados: um, 24 horas após os procedimentos de união; e o outro, após 12 meses de armazenagem em solução de hanks (HBSS). Esses fragmentos foram cobertos com duas camadas de verniz de unha, deixando 1 mm abaixo e acima da interface d-a expostas, re-hidratados em água destilada por 10 minutos, e então imersos em solução de nitrato de prata amoniacal por 24 horas, sendo armazenados em estufa a 37°C e protegidos da luz. A solução de nitrato de prata amoniacal foi preparada, conforme descrito por Tay e colaboradores (Tay et al., 2002).

Após 24 horas, cada fragmento foi lavado em água corrente e, em seguida, colocado em solução reveladora (Kodak Professional D76 Developer, Eastman Kodak Company, EUA) sob luz fluorescente por 8 horas. Após, os espécimes foram lavados em água corrente, e o verniz foi removido utilizando lixa d'água granulação #600.

Os fragmentos foram, então, imersos em solução de glutaraldeído a 2,5%, em tampão de 0,1 M de sódio cacodilato, pH 7,4 (Electron Microscopy Science, Hatfield, PA, EUA) por 12 h a 4° C, sendo depois lavados em solução tampão 0,2 M de cacodilato de sódio em pH 7,4 (Electron Microscopy Science, Hatfield, PA, EUA) por 1 h, com 3 trocas, seguido de lavagem em água destilada por 1 min.

A desidratação foi feita em concentração ascendente de etanol (25% por 20 min, 50% por 20 min, 75% por 20 min, 95% por 30 min, e por dupla imersão em 100% por 60 min) e, em seguida, embebidos por resina em base epóxi (Epo-thin resin, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) e armazenados em temperatura ambiente por 24 h. Em seguimento, foram polidos em lixas d'água (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) em ordem decrescente de abrasividade (600, 800 e 1200), e polidos em seguida com feltro (MicroCloth, Buehler Inc., Lake Bluff, IL, EUA) e solução diamantada 9, 6, 3, 1, 0,5 µm (Metadi, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA). Após o polimento, foram imersos em EDTA 10% por 5 segundos, seguido de lavagem em água destilada. Com auxílio de uma cuba ultrassônica, foram lavados com etanol 100% por 5 minutos e secos. Foram, então, montados em dispositivos de alumínio e cobertos por um filme de ouro (Emitech K650, Emitech Products Inc., Houston, TX, EUA) a 10 mA por 1 minuto. Os fragmentos foram observados em MEV (Hitachi S-3500N, Hitachi Science System Ltd., Osaka, Japão) em aceleração de voltagem de 15kV e distância de trabalho de 10 mm (x500, x1000, x2000 e x 4000) em modo “backscattered”. Três imagens igualmente espaçadas e de mesma magnificação (esquerda, centro e direita) foram obtidas de cada espécime. A área total da interface d-a foi padronizada para todos os grupos, e depois a área infiltrada pela prata foi adquirida com um software, sendo obtida a porcentagem da área infiltrada (ImageJ; NIH,

Bethesda, MD). O teste Anova a 2 fatores, valendo-se de modelos lineares mistos, foi utilizado para determinar a diferença na nanoinfiltração na interface d-a, apresentando como fatores fixos: os adesivos e o tempo; e variáveis aleatórias: os espécimes e as repetições. A média ajustada foi comparada pelo pos-hoc Teste-T (SPSS, IBM, Armonk, NY, EUA).

3.4 Módulo de elasticidade da interface dentina-adesivo

Um fragmento de cada dente foi embebido por resina em base epóxi (Epo-thin resin, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) e armazenado em temperatura ambiente por 24 horas. Após a polimerização, os espécimes foram cortados com disco de aço diamantado, sob refrigeração em baixa velocidade (Isomet, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA), para expor a interface d-a. Então, foram abrasionados com lixas d'água (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA), em ordem decrescente de abrasividade (600, 800 e 1200) por 3 minutos em cada granulação. Em seguida, foram polidos com feltro (MicroCloth, Buehler Inc., Lake Bluff, IL, EUA) e solução de diamante de 9, 6, 3, 1 e 0,5 µm (Metadi, Buehler Inc., Lake Bluff, IL, USA) por mais 3 minutos em cada solução. Entre cada etapa do polimento, os fragmentos foram lavados em cuba ultrassônica e água destilada por 1 minuto e, após a última etapa, por 5 minutos.

Os fragmentos foram testados após 24 horas dos procedimentos restauradores, e depois de armazenados em solução de hanks por 12 meses (Habelitz et al., 2002). O escaneamento da topografia e o teste foram realizados usando uma ponta longa piramidal diamantada de 3 faces do tipo Berkovich (100 nm de raio) em um nanoindentador (Hysitron 950TI, Minneapolis, MN, EUA). O teste foi realizado em condições úmidas (HBSS, com pH neutro de 7,1). Previamente, o equipamento foi calibrado em espécime padrão de quartzo para verificar os valores das propriedades mecânicas desse material (Ryou et al., 2011).

Um perfil de carga trapezoidal (5-10-5 seg) foi desenvolvido com pico máximo de carga de 300 µN para a dentina e 100 µN para a CH e camada de adesivo e tags, em proporção de 60 µN/s e 20 µN/s, respectivamente. O período estendido de exploração permite o relaxamento do material em torno do indentador, e uma resposta de descarga mais linear concomitantemente, de modo que qualquer influência do material ocorra na parte de descarga do perfil (ISO). Portanto, com base em cada mensuração, uma curva de carga-deslocamento foi obtida.

Das curvas de carga-deslocamento analisadas, os dados do módulo de elasticidade reduzido E_r (em GPa) foram computados no software do Hysitron TriboScan, seguindo as seguintes fórmulas,

respectivamente: $E_r = \frac{\sqrt{\pi}}{2\sqrt{A(h_c)}} \times S$ e $H = \frac{P_{max}}{A(h_c)}$; onde S é a rigidez, h_c é a profundidade de contato,

P_{max} é a carga máxima aplicada (300 ou 100 μ N) e A (h_c) é a área de contato computado, levando em consideração a função da área e a profundidade de penetração (Oliver and Pharr, 1992). Sabendo o módulo de elasticidade reduzido E_r , o módulo de elasticidade correspondente E_b (GPa) foi calculado: $\frac{1}{E_r} = \frac{1-\nu_b^2}{E_b} + \frac{1-\nu_i^2}{E_i}$, em que ν_b é o coeficiente de Poisson para a estrutura da interface d-a (0,3 para dentina e resina composta; 0,28 para CH, camada de adesivo, e tags) (Le et al., 2001), E_i (1140 GPa) e ν_i (0,07) são o módulo de elasticidade e coeficiente de Poisson do indentedor.

Antes de testar a região de interesse, a interface foi escaneada para verificar a correta posição. Quinze penetrações foram realizadas horizontalmente na CH e na camada de adesivo. Na dentina, as primeiras dez penetrações começaram abaixo da CH, afastando-se em linha reta a uma distância de aproximadamente 1 μ m entre cada indentação. As outras 5 penetrações foram realizadas, horizontalmente ao final das 10 primeiras indentações, a uma distância aproximada de 10 μ m da interface (Fig. 1).

O teste Anova a 2 fatores, valendo-se de modelos lineares mistos, foi utilizado para determinar a diferença no módulo de elasticidade de cada estrutura da interface d-a tendo como fatores fixos: os adesivos e o tempo; e variáveis aleatórias os espécimes e as repetições. A média ajustada foi comparada pelo pos-hoc Teste-T (SPSS, IBM, Armonk, NY, EUA).

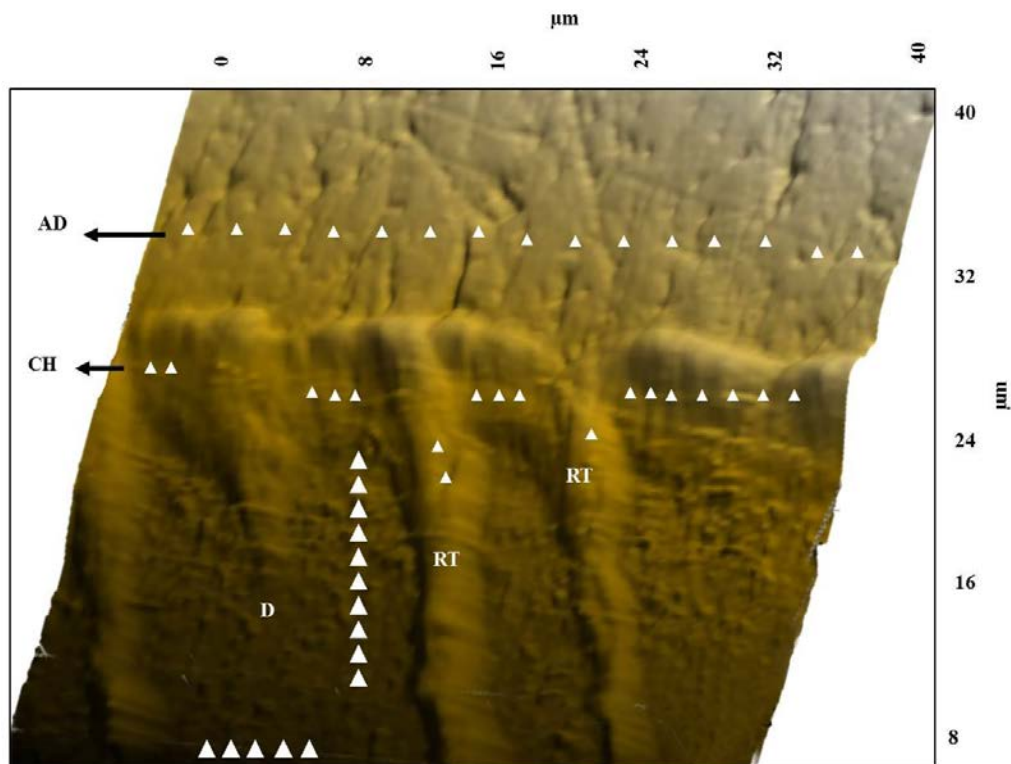


Figura 1 – Esquema ilustrando o posicionamento das indentações realizadas nas estruturas da interface d-a. Imagem obtida pelo escaneamento do nanoindentador. No total 15, indentações foram realizadas na camada de adesivo (AD), camada híbrida (CH) e dentina (D). Tags resinosos (RT).

3.4 Análise com elementos finitos

Um micromodelo, com base em dentina (Fig. 2) e restaurado com resina composta com dimensões de 41x41x82 μm , foi elaborado usando um programa de modelagem de sólidos (SolidWorks 2009 SolidWorks Corporation, Concord, MA, EUA). Esse micromodelo fundamentou-se em estudos prévios para o estabelecimento da área de secção da interface adesiva, a respectiva carga de tração e as condições de contorno, sendo as dimensões e carregamento proporcionais aos espécimes utilizados nos ensaios de microtração (Anchieta et al., 2007; Anchieta et al., 2011; Junior et al., 2012; Martini et al., 2009).

As características morfológicas e as dimensões das estruturas da interface d-a de todos os sistemas adesivos foram obtidas através do MEV e estão dispostas na Tabela 2. Os materiais foram considerados lineares, isotrópicos e homogêneos. A média do módulo de elasticidade (E) das estruturas da interface d-a foram usadas, conforme descrito nas Tabelas 5 e 6. O módulo de elasticidade da dentina peritubular, obtido no teste de nanoindentação, foi de 30.0 (± 3.6) GPa, e o da resina composta a base de metacrilato 19,33(± 3.3) (Z350 XT, 3M ESPE, St. Paul, EUA), e a base de silorano 17,33($\pm 1,9$) (P90 silorano, 3M ESPE, Seefeld, Alemanha). O coeficiente de Poisson das estruturas da interface d-a foi definido, conforme o estabelecido por (Le et al., 2001): dentina intertubular e peritubular (0.3), resina composta (0.3), CH, tags e camada de adesivo (0.28). Baseado nos dados obtidos das mensurações lineares no MEV, 5 modelos ideais foram elaborados, seguindo as características da interface d-a de cada sistema adesivo utilizado, conforme a tabela 2.

Tabela 2 – Descrição das dimensões (μm) dos modelos de elementos finitos.

	CH	Adesivo	Tags	Base do tag	Final do tag
SBMU	4,0	9,5	30	3,5	1,7
CSEB	0,85	11	17	2,65	1,4
OUB	1,3	7,5	23	2,35	2
AEO	1,65	8,75	15	2	1,1
P90	2,4	6,65 e 7,2	14	1,9	1,7

Para avaliar os tempos de análise, mais 2 modelos de cada grupo foram elaborados (T0 e T1), seguindo as mesmas características dos modelos acima, porém incorporando áreas de vazios na base da camada híbrida correspondendo à área infiltrada, observada no teste de nanoinfiltração para T0 e T1, e seguindo o módulo de elasticidade observado em T0 e T1.

Para a determinação da malha de elementos finitos, realizou-se a convergência da análise a 6%. Os modelos apresentaram até 1.148.776 elementos parabólicos tetraédricos e 5.077.374 nós. A base dos modelos foi fixada nos eixos x, y, z.

Para a definição da carga, um macroespécime em dentina na forma de ampulheta, restaurado com resina composta e área de secção adesiva de interface de $1,1 \text{ mm}^2$, foi elaborado de modo a gerar a tensão igual a 19 Mpa, após o carregamento em tração, com magnitude de 20 N no topo da resina composta (Junior et al., 2012; Phrukkanon et al., 1998). Levando-se em consideração a proporção da área de secção, da carga aplicada e da tensão gerada entre o macromodelo e o micromodelo do presente estudo, uma carga distribuída em tração com intensidade de 0,03 N foi aplicada no topo da resina composta dos micromodelos (Fig. 3). Para a análise numérica, o software de elementos finitos ANSYSWorkbench 14.0 (Swanson Analysis System, Canonsburg, PA, USA) foi usado para o cálculo da tensão principal máxima ($\sigma_{\max}$).

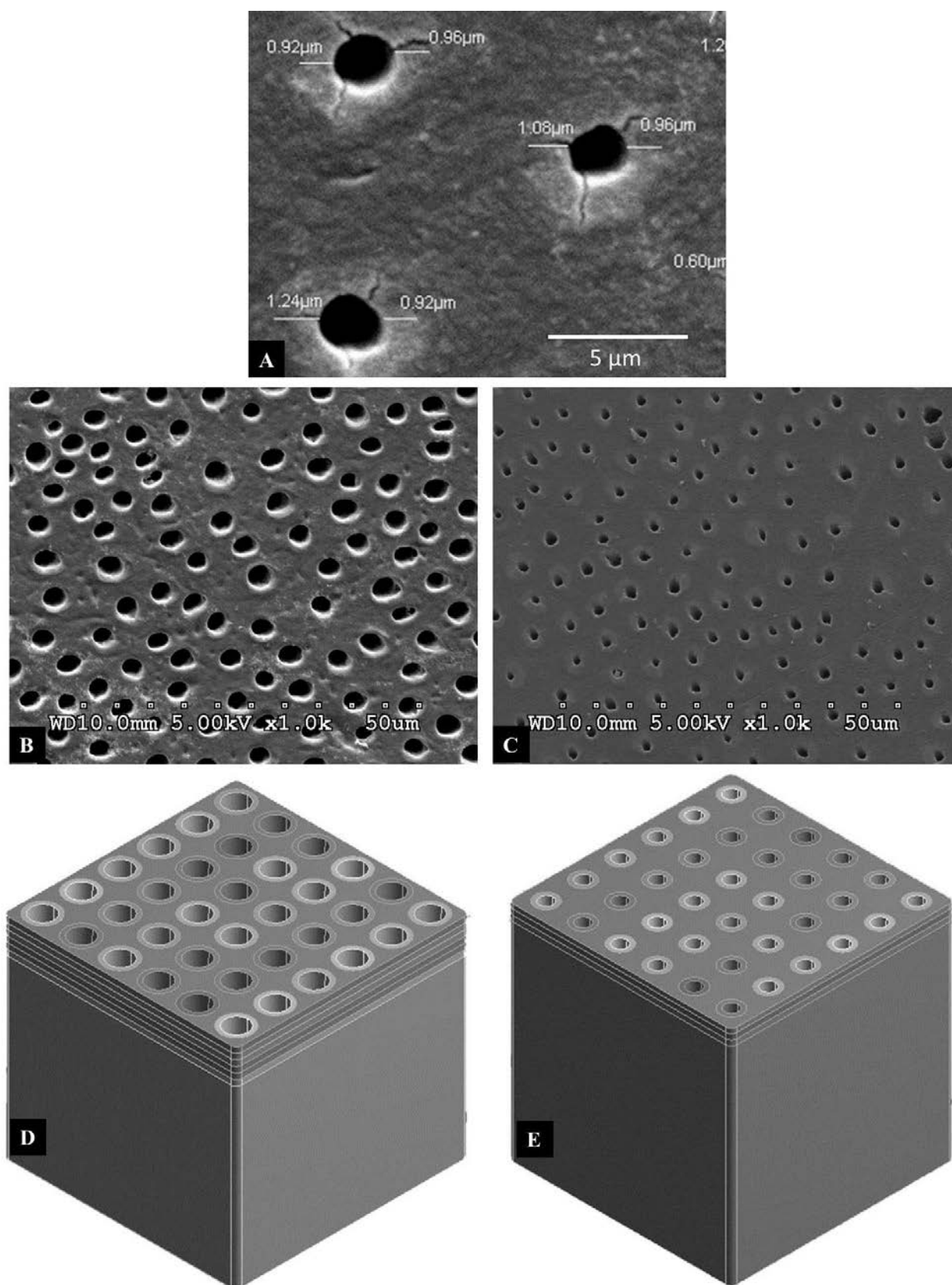


Figura 2 – Fotomicrografias de MEV. A – Dentina condicionada com o primer do CSEB, e a mensuração do raio da dentina peritubular; B – Condicionamento com ácido fosfórico por 15 segundos; C. Condicionamento com o primer do CSEB por 20 segundos; D, E – Modelos geométricos da dentina, com o diâmetro dos túbulos dentinários, dentina peritubular e intertubular, simulando as imagens em B e C, respectivamente.

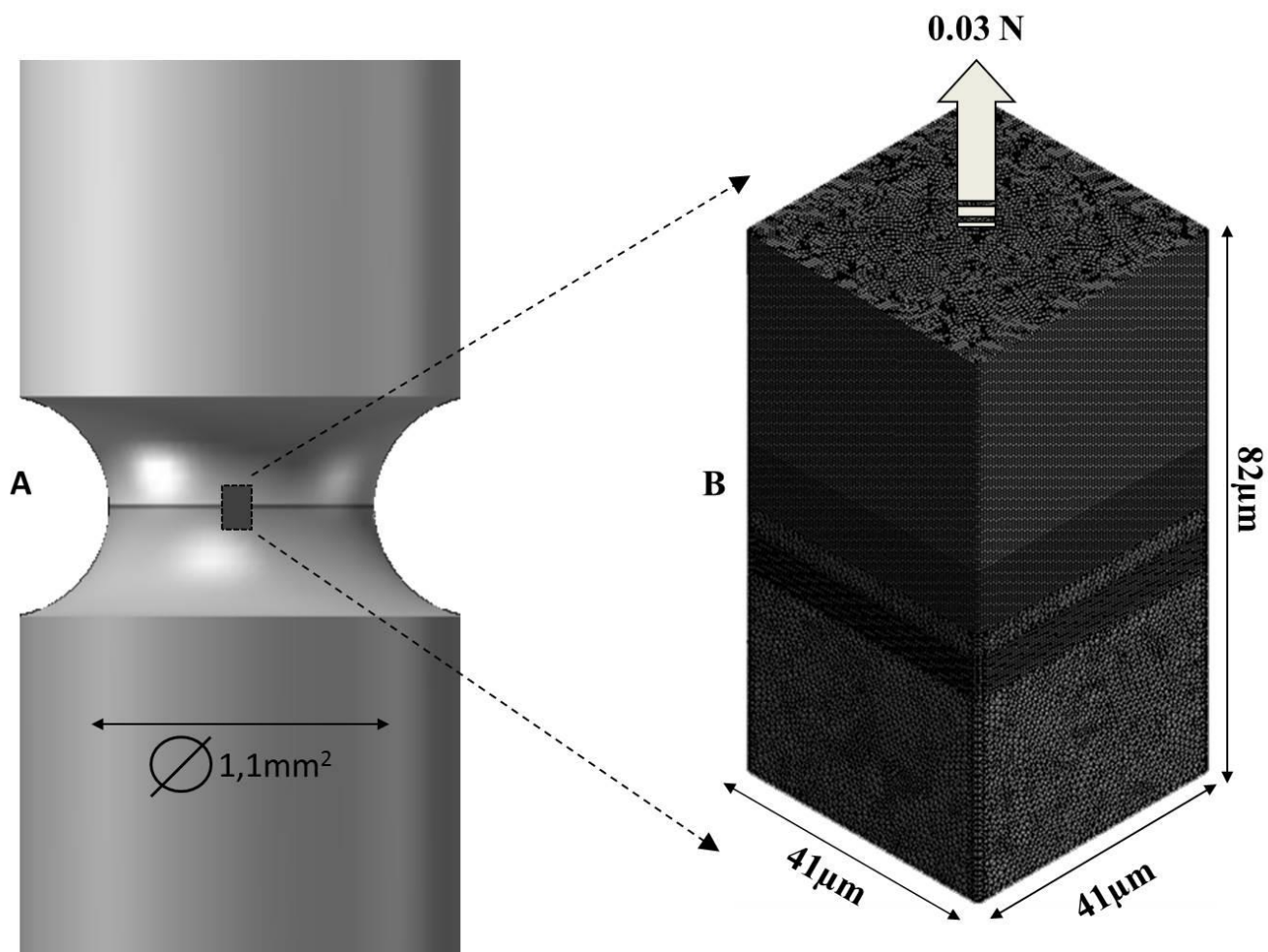


Figura 3 – A. Macromodelo de dentina, restaurado com resina composta em forma de ampulheta, com área de secção transversal de $1,1\text{ mm}^2$; B – Micromodelo de dentina, restaurado com resina composta, com a malha de elementos finitos, e área de secção transversal ($41\text{ }\mu\text{m}^2$) e comprimento de $82\text{ }\mu\text{m}$, sendo proporcional às dimensões do macro-modelo. Em B, a malha de elementos finitos com elementos tetraédricos é mostrada, sendo o carregamento de $0,03\text{ N}$ em tração aplicada no topo da resina composta.

Resultados

4. Resultados

4.1 Morfologia da interface d-a

Em uma área de $41 \mu\text{m}^2$, aproximadamente $38,5 (\pm 1,3)$ túbulos dentinários foram calculados. O diâmetro da luz dos túbulos variou conforme a técnica de aplicação do sistema adesivo utilizado, sendo de $3,5 \pm 0,1 \mu\text{m}$, quando houve a aplicação prévia do ácido fosfórico (SBMU), e de $1,5 \pm 0,08 \mu\text{m}$, quando os sistemas adesivos autocondicionantes foram utilizados (CSEB, OUB, AEO e P90). O raio da dentina peritubular foi de $\sim 0,95 \mu\text{m}$ (Fig. 2).

De acordo com a tabela 3, o sistema adesivo SBMU apresentou a CH mais espessa ($p < 0,05$), enquanto que o CSEB a menos espessa e semelhante, estatisticamente ao OUB, ficando os demais sistemas adesivos em posição intermediária. O sistema adesivo P90 possibilitou a obtenção de uma camada de adesivo mais espessa, considerando que esse sistema adesivo apresenta duas camadas de resina, que são fotoativadas (A – primer e B – resina adesiva), a menos espessa ocorreu para o sistema adesivo OUB ($p < 0,05$). A maior média de comprimento de tags ($p < 0,05$) foi para o sistema adesivo SBMU e também para o OUB, enquanto o menor foi para os sistemas adesivos P90, não sendo diferente do AEO e CSEB ($p > 0,05$).

Tabela 3 – Média e desvio padrão das dimensões da espessura de camada híbrida, camada de adesivo e comprimento dos tags resinosos. Valores em micrometros (μm).

	Camada híbrida	Adesivo	Tags
SBMU	4,04(0,69)A	9,7(2,04)A,B	30,8(10,7)A
CSEB	0,87(0,16)B	11,3(4,5) A	17,6(6,8)B,C
OUB	1,31(0,31) B,C	7,51(2,44)B,C	23,26(6,7)A,C
AEO	1,64(0,44)C	8,76(4,98) B,D	15,41(4,9)B
P90	2,43(0,72)D	A - 6,65(1,11)C,D,E B - 7,23(1,4)B,E	14,34(9,52)B

*Letras diferentes indicam diferença estatística entre grupos para a mesma estrutura.

A, B indicam as camadas de adesivo do grupo P90 (A próximo da CH, e B próximo da resina composta).

A camada híbrida dos grupos SBMU e CSEB apresentou-se uniforme e homogênea, sem alteração estrutural ao longo da interface (Fig. 4). Observou-se que os tags resinosos do

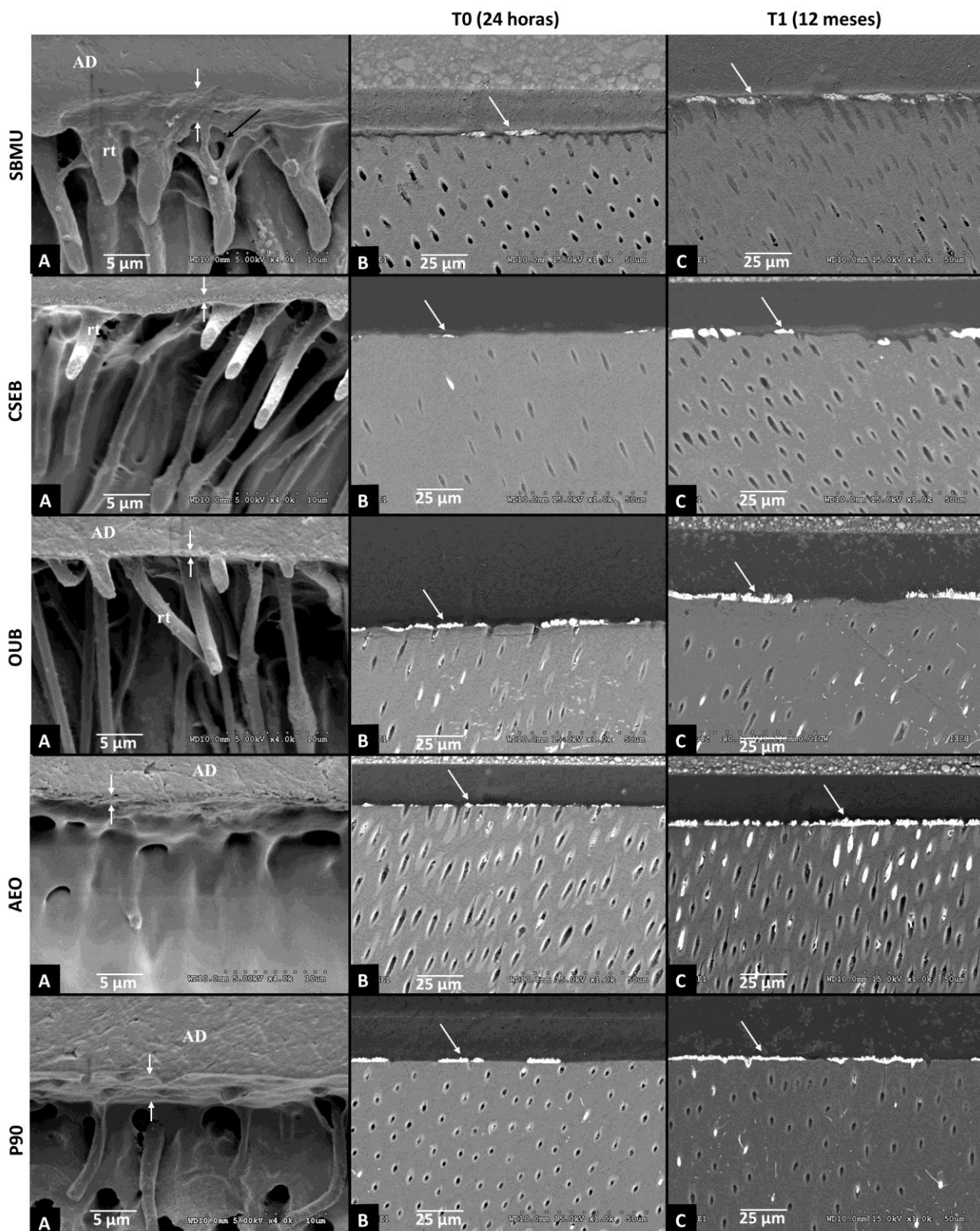


Figure 4 – Imagens de microscópio eletrônico de varredura da interface d-a dos grupos SBMU, CSEB, OUB, AEO, P90 (x4k e 1k). A – Morfologia da interface d-a, em que-se observa a espessura da camada híbrida (setas brancas), a camada de adesivo (AD), e os tags resinosos (rt) e ramificações laterais (seta preta). B e C – Observa-se, em T0 (24 h) e T1 (12 meses), a infiltração da interface d-a por partículas de prata. Em todos os grupos, nota-se o aumento da infiltração em T1, quando comparado com T0, exceto para o CSEB. O principal local de infiltração ocorreu na base da CH em todos os grupos. Nos grupos OUB e P90, observou-se infiltração de prata na camada de adesivo em alguns espécimes.

constantes e numerosos em toda extensão da interface d-a, com formato de funil com a base larga, além de ramificações laterais (Fig. 4).

No grupo CSEB, os tags ocorreram em menor número que no SBMU, mas constantes ao longo de toda a interface e em formato de funil (Fig. 4). Nos outros grupos, os tags resinosos foram menos constantes, seguindo a sequência OUB, AEO, P90, sendo que, nos dois últimos grupos, os tags apresentaram-se delgados e em menor quantidade (Fig. 4). Na Tabela 3, encontram-se os valores de espessura dos tags na sua base (inicial) e ao final.

Tabela 4 – Média (μm) e desvio padrão da espessura da base e do final dos tags resinosos.

	SBMU	CSEB	OUB	AEO	P90
Base	$3,5 \pm 0,63$	$2,65 \pm 0,6$	$2,35 \pm 0,55$	$1,99 \pm 0,5$	$1,9 \pm 0,33$
Final	$1,71 \pm 0,39$	$1,4 \pm 0,29$	$2,01 \pm 3,1$	$1,1 \pm 0,39$	$1,7 \pm 0,37$

4.2 Nanoinfiltração na interface d-a

Em 24 horas (T0), o OUB apresentou o maior nível de infiltração, sendo diferente dos demais grupos ($p < 0,05$), com exceção do P90 (Fig. 4 e 5). Ao comparar a infiltração para cada sistema adesivo entre T0 e T1, observou-se que houve aumento da infiltração em T1 para todos os grupos ($p < 0,05$), com exceção do CSEB em que o aumento não foi significativo ($p > 0,05$) (Fig. 4 e 5). A maior diferença de T0 para T1 ocorreu para o grupo AEO, sendo a infiltração para esse adesivo em T1 igual ao P90 ($p > 0,05$) e, estatisticamente, maior que todos os outros adesivos ($p < 0,05$). Destaca-se que a base da CH foi infiltrada em todos os adesivos, e que, no OUB e P90, ocorreu infiltração, também, na camada de adesivo (Fig. 4 e 5).

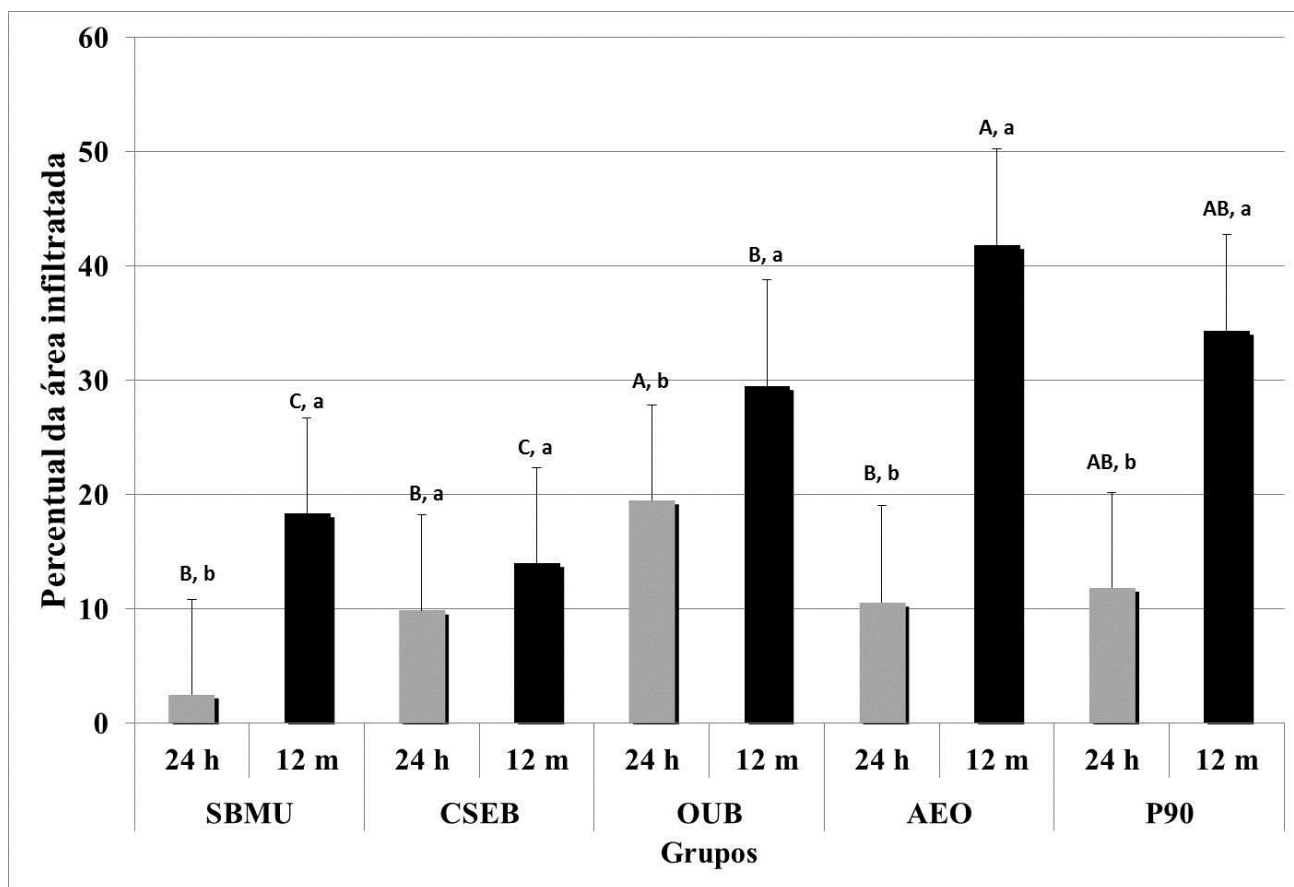


Figura 5 – Média e erro padrão da infiltração na interface d-a após 24 h e 12 meses. Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre adesivos em cada tempo, e letras minúsculas indicam diferença entre os tempos de análise para o mesmo adesivo.

4.3 Módulo de elasticidade da interface dentina-adesivo

Não houve diferença para o módulo de elasticidade da dentina intertubular a distância da CH em T0 para os sistemas adesivos ($p > 0,05$). De T0 para T1, houve redução, no módulo de elasticidade da dentina, de aproximadamente em 20% para todos os adesivos ($p < 0,05$) (Tabela 5).

Em T0 o módulo de elasticidade da camada híbrida para o CSEB foi maior entre todos os sistemas adesivos ($p < 0,05$) (Tabela 5). Houve redução no E da CH de T0 para T1 em todos os sistemas adesivos ($p < 0,05$), sendo a maior redução observada para o SBMU. Após 12 meses, o módulo de elasticidade da CH do CSEB, ainda, foi maior entre todos os sistemas adesivos ($p < 0,05$), e o AEO o menor módulo, porém não diferente estatisticamente do SBMU e OUB (Tabela 5).

A camada de adesivo apresentou comportamento diferente entre os grupos analisados. O maior módulo em T0 foi observado para o P90-B entre todos os grupos ($p < 0,05$), e o menor módulo foi observado para o OUB, não sendo diferente do AEO ($p > 0,05$). Houve manutenção do E de T0 para T1 para o SBMU ($p > 0,05$), enquanto para o P90-B houve aumento do E ($p < 0,05$). Para os outros sistemas adesivos, ocorreu redução do E entre T0 e T1 ($p < 0,05$) (Tabela 5).

A dentina parcialmente desmineralizada abaixo da CH (PDD), ocorreu para todos os sistemas adesivos (Tabela 6). A maior extensão dessa camada ocorreu para o SBMU (~5 μm), havendo redução do E, entre T0 e T1, até a sexta indentação à distância da interface ($p<0,05$) (Tabela 6). Após a sexta indentação, os valores do E foram comparados à dentina a distância da CH. Para os SE, a espessura da PDD variou de aproximadamente 1 a 2 μm , havendo redução do E na primeira indentação de T0 para T1, para todos os sistemas autocondicionantes ($p<0,05$), com exceção do P90 o qual não foi estatisticamente diferente. Para os SE, a partir da terceira indentação, o E obtido foi comparado ao E da dentina a distância da CH.

Tabela 5 - Média do módulo de elasticidade (GPa) e erro padrão para a dentina distante da CH, camada híbrida e camada de adesivo, em T0 e T1.

Dentina	SBMU	CSEB	OUB	AEO	P90	
T0	18,12(0,75)Aa	18,323(0,74)Aa	17,43(0,76)Aa	17,92(0,76)Aa	17,36(0,76)Aa	
T1	15,66(0,76)Ab	15,89(0,76)Ab	14,14(0,75)Bb	15,48(0,8)Ab	15,82(0,75)Ab	
CH	SBMU	CSEB	OUB	AEO	P90	
T0	2,75(0,16)Ba	3,73(0,16)Aa	2,13(0,16)Ca	2,0(0,16)Ca	2,07(0,15)Ca	
T1	1,03(0,15)Cb	2,45(0,15)Ab	1,11(0,15)BCb	0,95(0,16)Cb	1,37(0,15)Bb	
Adesivo	SBMU	CSEB	OUB	AEO	P90-A	P90-B
T0	3,64(0,08)Ba	3,73(0,7)Ba	1,54(0,08)Da	1,65(0,08)Da	1,90(0,08)Ca	4,46(0,09)Ab
T1	3,74(0,08)Ba	2,96(0,08)Cb	1,33(0,08)Db	0,85(0,08)Eb	1,26(0,08)Db	4,72(0,09)Aa

*Letras diferentes indicam diferença estatística, maiúscula entre linha e minúscula entre coluna.

Tabela 6 – Média do módulo de elasticidade (GPa) e erro padrão para a dentina abaixo da CH , em T0 e T1.

Indentações	1	2	3	4	5	6
SBMU-T0	7,67(0,8)A	9,64(0,45)A	9,92(0,72)A	9,91(0,9)A	12,32(1,32)A	14,72(0,17)A
SBMU-T1	5,8(1,69)B	4,15(1,0)B	6,27(1,9)B	5,6(2,34)B	5,5(1,50)B	9,41(3,22)B
CSEB-T0	10,60(0,7)A	10,76(0,34)B	16,62(0,54)A	17,91(0,8)A	18,25(0,4)A	
CSEB-T1	8,44(2,9)A	13,63(2,3)A	16,1(2,22)A	17,94(1,79)A	16,0(2,3)A	
OUB-T0	12,75(0,97)A	13,08(1,04)A	15,95(1,52)A	19,0 (0,91)A	20,17 (0,72)A	
OUB-T1	7,3(0,87)B	14,0(1,47)A	15,25(1,75)A	16,34(1,39)B	19,8(1.1)A	
AEO-T0	13,5(1,37)A	16,71(0,34)A	15,24(1,01)A	15,85(0,86)A	16,2(0,65)B	
AEO-T1	10,45 (0,5)B	11,53(0,64)B	15,64(0,95)A	14,6(0,12)B	19,35(1,16)A	
P90-T0	10,65(0,59)A	23,87(1,09)A	18,05(0,2)A	20,18(0.15)A	18,92(1,8)A	
P90-T1	11,46(0,76)A	13,85(0,47)B	17,1(1,1)A	17,65(2.04)B	17,5(0,5)B	

*Letras diferentes indicam diferença estatística entre os tempos de análise para o mesmo sistema adesivo.

4.3 Análise numérica com elementos finitos da interface d-a

Nos modelos com a camada híbrida “ideal”, foram encontrados os menores níveis de tensão na CH, camada de adesivo e dentina (Fig. 6). Houve aumento da $\sigma_{\max}$ na interface d-a, nos modelos em T0, comparados com os modelos ideais (Fig. 6). Os níveis de tensão também aumentaram de T0 para T1, sendo em T1 os picos de tensão para todos os modelos, em todas as estruturas da interface d-a (Fig. 6).

Os valores mais elevados de tensão em T0 ocorreram no P90-T0, seguido do AEO-T0, CSEB-T0, SBMU-T0 e OUB-T0. Em T1, os valores de tensão, também, foram mais elevados para P90-T1, seguido do AEO-T1, SBMU-T1, OUB-T1 e CSEB-T1.

A base da CH, em contato com a dentina peritubular e a dentina parcialmente desmineralizada, foi o local em que a máxima tensão ocorreu para quase todos os modelos em T0 e T1 (Fig. 7), com exceção do SBMU e P90 em T0, em que a máxima tensão ocorreu entre a camada híbrida e a camada de adesivo.

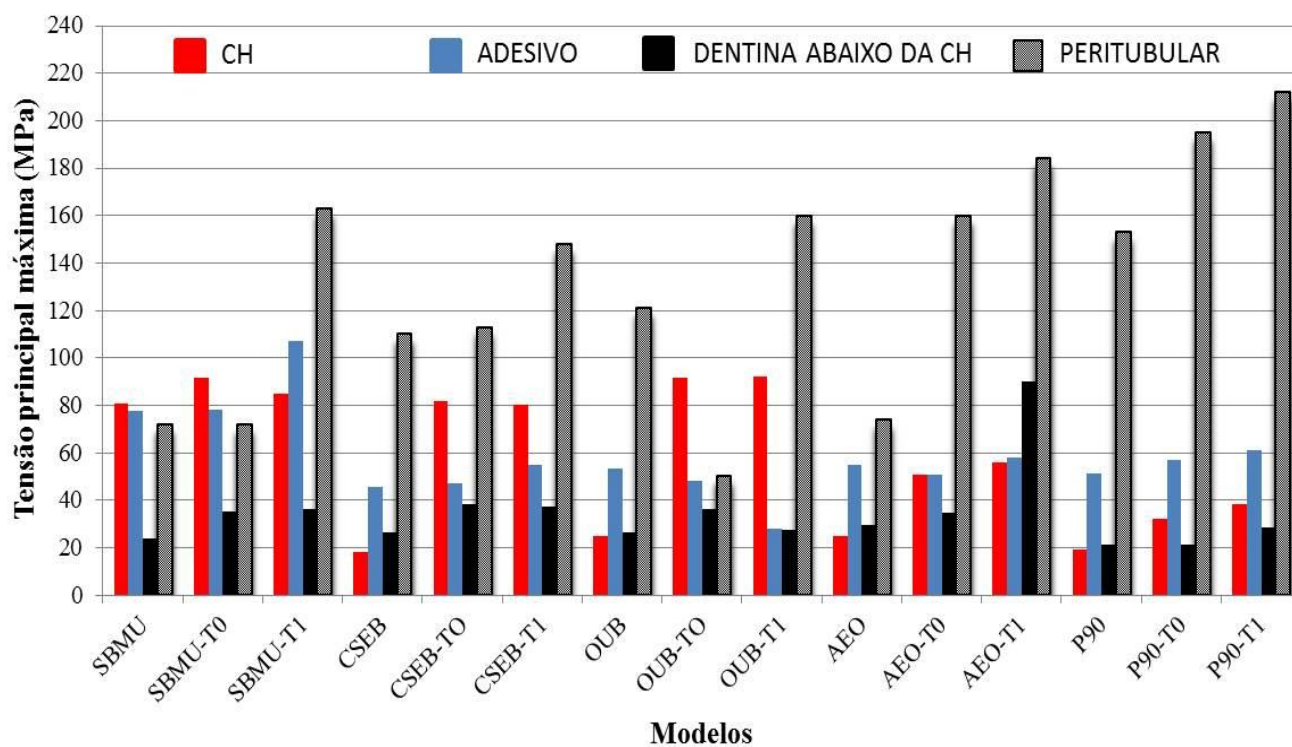


Figura 6 – Níveis de tensão ($\sigma_{\max}$) em todos os modelos, na camada híbrida (CH), no adesivo e na dentina abaixo da CH, e na dentina peritubular.

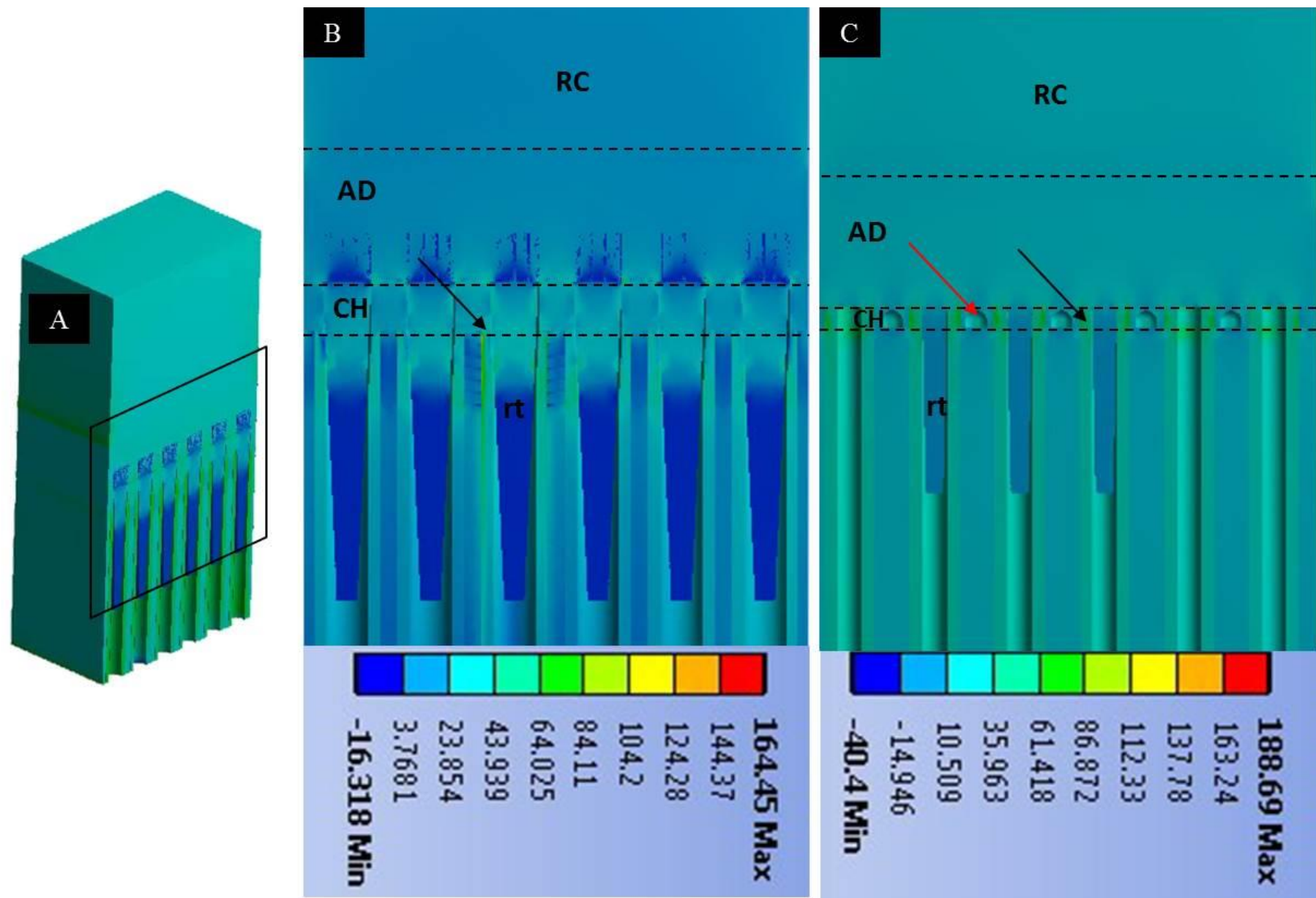


Figura 7 – Visualização da tensão principal máxima em um corte paralelo aos túbulos dentinários, em 12 meses (T1). A – visualização do modelo; B – SBMU; C – AEO. Os picos de tensão ocorreram na base da CH em contato com a dentina peritubular. RC (resina composta), AD (adesivo), CH (camada híbrida), rt (tags). A seta preta indica o local da máxima tensão. A seta vermelha indica os defeitos na camada híbrida.

Discussão

5. Discussão

A primeira e a segunda hipóteses do estudo foram parcialmente rejeitadas, visto que houve aumento na nanoinfiltração para todos os sistemas adesivos, com exceção do CSEB, e diminuição do módulo de elasticidade das estruturas da interface d-a em todos os sistemas adesivos, com exceção da camada de adesivo do SBMU e da resina adesiva do P90.

A degradação hidrolítica da interface d-a pode ocorrer pela hidrólise da rede de fibras colágenas expostas e não infiltradas pela resina adesiva, assim como pela hidrólise do polímero formado (Hashimoto et al., 2009). Esses dois tipos de degradação da interface d-a parecem ter ocorrido tanto para o SBMU quanto para os SE, conforme descrito por outros autores (Carvalho et al., 2005; Oliveira et al., 2004), uma vez que se observou a redução do módulo de elasticidade da CH e da dentina abaixo da CH. Os valores observados para a dentina abaixo da CH foram menores que os valores para a dentina intertubular intacta, sugerindo que a dentina abaixo da CH foi parcialmente desmineralizada e não infiltrada pelo adesivo (a distância da interface d-a) (Kinney et al., 2003).

A degradação hidrolítica da resina é um processo químico no qual ocorre a quebra das ligações covalentes e pontes de hidrogênio nas moléculas do polímero, alterando a sua estrutura e aumentando a mobilidade dos segmentos dos anéis poliméricos (Nogueira et al., 2001). A hidrólise da resina ocorre, sobretudo, pela absorção e adição de moléculas de água entre as ligações ester dos polímeros (Tay et al., 2005). Como a degradação hidrolítica, apenas, ocorre na presença de água, a acidez e a hidrofilia do adesivo, a absorção de água, e a subsequente degradação hidrolítica são geralmente correlacionadas (Breschi et al., 2008).

O aumento da afinidade pela água nos SE ocorre pela presença de grupos funcionais hidroxil, carboxilato ou grupos fosfato necessários para promover a desmineralização (Ito et al., 2005; Nunes et al., 2006). Sinergicamente, o grande volume de água presente nesses sistemas, responsável pela ionização dos ácidos, os torna ainda mais hidrófilos (Tay and Pashley, 2003). Consequentemente, o excesso de água na interface leva ao menor grau de conversão das resinas, aumentando a permeabilidade e o movimento de água através da interface (Hashimoto, 2010; Hass et al., 2012). Além disso, a combinação dos monômeros funcionais com a água residual na interface parece formar monômeros ácidos não polimerizáveis, que continuam a desmineralizar a dentina, justificando o valor mais baixo do E encontrado na dentina abaixo da CH para os sistemas SE, tornando essa região, também, susceptível à degradação (Carvalho et al., 2005; Oliveira et al., 2004).

O que se pode observar é que a simplificação dos sistemas adesivos SE os tornaram, ainda, mais complexos para a hibridização da interface d-a; provavelmente, devido aos componentes químicos estarem todos presentes em apenas um frasco, o que justificaria os maiores valores de

infiltração e menores valores do módulo de elasticidade da CH, de acordo com o que foi observado para os adesivos OUB, AEO e P90 (Hashimoto, 2010; Hass et al., 2012). Embora o sistema P90 seja classificado pelo fabricante como um sistema autocondicionante de 2 etapas, ressalta-se que primeiro, um primer hidrofílico é aplicado sobre a dentina; e depois, polimerizado, formando, assim, a CH (Van Ende et al., 2010). Em seguida, a resina hidrófoba bifuncional de baixa viscosidade é aplicada sobre o primer polimerizado, fazendo-o melhor caracterizado como adesivo autocondicionante de um passo clínico (Santini and Miletic, 2008).

Já o CSEB é classificado como um primer autocondicionante de duas etapas, visto que apresenta um *primer* e uma resina adesiva hidrófoba, que são utilizados em etapas clínicas diferentes. Isso explicaria a melhor estabilidade da interface d-a do CSEB após 12 meses, comparado-se aos outros sistemas adesivos analisados. Nesse adesivo, não houve diferença estatisticamente significativa na nanoinfiltração da interface de T0 para T1. Além disso, apesar de se ter observado a redução do E aos 12 meses, ainda assim, a CH e a camada de adesivo apresentaram módulo de elasticidade mais alto comparado aos outros grupos. Provavelmente, a estabilidade apresentada pelo CSEB se deve à sua composição química e à característica hidrófoba da resina adesiva. Agentes de ligação cruzada, como o Bis-GMA e o monômero funcional 10-MDP, são responsáveis pela formação de uma rede polimérica densamente entrelaçada, conferindo a dureza mecânica ao polímero (Van Landuyt et al., 2007). Além disso, destaca-se que o monômero funcional 10-MDP é menos hidrófilo, devido à sua longa cadeia molecular, sendo considerado levemente hidrofóbico (Hashimoto, 2010; Van Landuyt et al., 2007; Yoshida et al., 2004). Recentemente, a interação entre o 10-MDP e a hidroxiapatita tem sido relacionado à formação de nano-camadas, sendo mais estável hidroliticamente quando comparadas aos outros monômeros funcionais (Yoshihara et al., 2010; Yoshihara et al., 2011).

Apesar de ser considerado como padrão ouro em termos de estabilidade de união (Sadek et al., 2010), o SBMU apresentou a maior redução no E para a camada híbrida, comparado aos outros adesivos. Alguns autores relataram que o copolímero ácido polialquenoico, presente no primer, não se dissolve completamente, levando à separação de fase dos componentes resinosos, sendo este copolímero depositado na forma de um gel na superfície da dentina, dificultando, dessa forma a hibridização (Sadek et al., 2010). Além disso, a separação de fase entre o BisGMA/HEMA dificulta a difusão do BisGMA (alto peso molecular), fazendo com que a CH seja formada basicamente por moléculas de baixo peso molecular como o HEMA (Sadek et al., 2010). O polímero formado por moléculas de HEMA (poli-HEMA), tem características hidrófilas e com alta afinidade pela água, além de baixas propriedades mecânicas (Tay and Pashley, 2001; Van Landuyt et al., 2007). À conta disso, provavelmente as fibras colágenas expostas, durante o condicionamento com ácido fosfórico,

não foram totalmente infiltradas pelo agente adesivo (Dos Santos et al., 2011; Hashimoto, 2010), e a CH foi formada com deficiência de agentes de ligação cruzada (Sadek et al., 2010). Isto pode ser evidenciado ao se comparar o módulo de elasticidade da CH e da camada de adesivo em T1 com o SBMU e P90. A presença de componentes hidrófobos e agentes de ligação cruzada como o BisGMA resultaram em um polímero com alta resistência mecânica, evidenciado pela estabilidade do módulo de elasticidade da camada de adesivo desses grupos entre T0 e T1 (Van Landuyt et al., 2007).

Na simulação computacional com elementos finitos, houve aumento nos níveis de tensão na interface d-a, ao comparar os modelo “ideais” com T0, assim como houve aumento de T0 para T1. Desta forma, a terceira hipótese do estudo foi rejeitada.

Se a resina adesiva torna-se menos rígida ou frágil ao decorrer do tempo, a transmissão das tensões ao longo da interface d-a poderá ser deficiente, resultando, possivelmente, em deformação plástica ou fratura sob cargas de menor intensidade (Hosaka et al., 2010). Além disso, destaca-se que a CH não homogênea e com defeitos ao longo dela, seja pela hibridização deficiente, ou pela degradação do polímero, é capaz de induzir áreas com altos níveis de tensão, sendo assim considerados como locais predisponíveis à iniciação de falhas na união (Ito et al., 2005; Martini et al., 2009).

A deficiência na distribuição das tensões mediante a interface de união foi, possivelmente, uma resultante da redução do módulo de elasticidade dos materiais utilizados. Ainda, os níveis de tensão, na região da CH em contato com a dentina, foram potencializados com o aumento do volume de defeitos estruturais, sendo esse o local em que ocorreram as máximas tensões nos modelos (Martini et al., 2009; Misra et al., 2004). Em T1, os dois fatores juntos (aumento nos defeitos na CH e redução do módulo de elasticidade) resultaram em maiores níveis de tensão no P90, seguido pelo AEO, SBMU e OUB. Em T1, o CSEB foi o que apresentou o menor pico de tensão.

O comportamento micromecânico dos grupos, baseado em modelos com dimensões e módulo de elasticidade reais para as estruturas da interface d-a, estão em concordes com os resultados de outros estudos que destacam: (1) a pior estabilidade da interface d-a em longo prazo para os sistemas autocondicionantes simplificados de um passo clínico; (2) a melhor estabilidade do primer autocondicionante de 2 passos clínicos (CSEB) (Catelan et al., 2013; Hashimoto, 2010; Van Landuyt et al., 2009). Apesar dos bons resultados em T0 para o SBMU justificarem o conceito de padrão ouro, em longo prazo, a interface d-a para esse adesivo parece ser menos estável, possivelmente pela degradação hidrolítica da CH e fibras colágenas desnudas (Hashimoto, 2010).

Dentre as limitações deste estudo, pode-se observar que a efetividade dos sistemas adesivos autocondicionantes parece estar relacionada à sua composição química e à técnica de aplicação. Além disso, o conceito de condicionamento prévio da superfície dentinária com ácido fosfórico pode

ser considerado agressivo para a manutenção da estabilidade da interface d-a, sendo o uso de primers autocondicionantes que possuam uma camada de resina adesiva com características hidrofóbas e o monômero funcional 10-MDP a alternativa mais viável para a adesão em dentina.

Conclusão

6. Conclusão

Após 12 meses de armazenagem, ocorreu a degradação na interface d-a em todos os sistemas adesivos, sendo a intensidade da degradação diferente de acordo com o tipo de sistema adesivo utilizado. Devido a degradação, ocorreram mudanças no módulo de elasticidade e na morfologia da interface d-, o que aumentou a concentração de tensão na base da camada híbrida após os 12 meses, caracterizando essa região como o elo mais frágil e o local mais suscetível à iniciação de falhas na união. A interface d-a formada pelo primer autocondicionante contendo o monômero funcional 10-MDP apresentou a melhor estabilidade dentre todos os sistemas adesivos após 12 meses de armazenagem.

Referências

Referências

- Anchieta RB, Rocha EP, Ko CC, Sundfeld RH, Martin Junior M, Archangelo CM (2007). Localized mechanics of dentin self-etching adhesive system. *J Appl Oral Sci* 15(4):321-326.
- Anchieta RB, Rocha EP, Sundfeld RH, Martin Jr M, Giannini M, Reis AF (2011). Micromechanics of dentin/adhesive interface in function of dentin depth: 3d finite element analysis. *Int J Clin Dent* 4(2):199-210.
- Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E (2008). Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater* 24(1):90-101.
- Carrilho MR, Carvalho RM, Tay FR, Yiu C, Pashley DH (2005). Durability of resin-dentin bonds related to water and oil storage. *Am J Dent* 18(6):315-319.
- Carvalho RM, Chersoni S, Frankenberger R, Pashley DH, Prati C, Tay FR (2005). A challenge to the conventional wisdom that simultaneous etching and resin infiltration always occurs in self-etch adhesives. *Biomaterials* 26(9):1035-1042.
- Catelan A, Pollard T, Bedran-Russo AK, dos Santos PH, Ambrosano GM, Aguiar FH (2013). Light-curing time and aging effects on the nanomechanical properties of methacrylate- and silorane-based restorations. *Oper Dent* (In press)
- De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M *et al.* (2005). A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res* 84(2):118-132.
- Dos Santos PH, Karol S, Bedran-Russo AK (2011). Long-term nano-mechanical properties of biomodified dentin-resin interface components. *J Biomech* 44(9):1691-1694.
- Duarte S, Jr., Phark JH, Varjao FM, Sadan A (2009). Nanoleakage, ultramorphological characteristics, and microtensile bond strengths of a new low-shrinkage composite to dentin after artificial aging. *Dent Mater* 25(5):589-600.
- Frankenberger R, Perdigao J, Rosa BT, Lopes M (2001). "No-bottle" vs "multi-bottle" dentin adhesives--a microtensile bond strength and morphological study. *Dent Mater* 17(5):373-380.
- Habelitz S, Marshall GW Jr., Balooch M, Marshall SJ (2002). Nanoindentation and storage of teeth. *J Biomech* 35(7):995-998.
- Hashimoto M, Fujita S, Endo K, Ohno H (2009). In vitro degradation of resin-dentin bonds with one-bottle self-etching adhesives. *Eur J Oral Sci* 117(5):611-617.
- Hashimoto M (2010). A review--micromorphological evidence of degradation in resin-dentin bonds and potential preventional solutions. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 92(1):268-280.
- Hass V, Luque-Martinez I, Sabino NB, Loguercio AD, Reis A (2012). Prolonged exposure times of one-step self-etch adhesives on adhesive properties and durability of dentine bonds. *J Dent* 40(12):1090-1102.

- Hosaka K, Nakajima M, Takahashi M, Itoh S, Ikeda M, Tagami J *et al.* (2010). Relationship between mechanical properties of one-step self-etch adhesives and water sorption. *Dent Mater* 26(4):360-367.
- Inoue S, Vargas MA, Abe Y, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherle G *et al.* (2001). Microtensile bond strength of eleven contemporary adhesives to dentin. *J Adhe Dent* 3(3):237-245.
- ISO E 14577-4: 2007. *Metallic materials—instrumented indentation test for hardness and materials parameters Part 4.*
- Ito S, Hashimoto M, Wadgaonkar B, Svizero N, Carvalho RM, Yiu C *et al.* (2005). Effects of resin hydrophilicity on water sorption and changes in modulus of elasticity. *Biomaterials* 26(33):6449-6459.
- Junior MM, Rocha EP, Anchieta RB, Archangelo CM, Luersen MA (2012). Etch and rinse versus self-etching adhesives systems: Tridimensional micromechanical analysis of dentin/adhesive interface. *Int J Adhes Adhes* 35(114-119).
- Kaaden C, Schmalz G, Powers JM (2003). Morphological characterization of the resin-dentin interface in primary teeth. *Clin Oral Investig* 7(4):235-240.
- Kinney JH, Marshall SJ, Marshall GW (2003). The mechanical properties of human dentin: a critical review and re-evaluation of the dental literature. *Crit Rev Oral Biol Med* 14(1):13-29.
- Le SY, Chiang HC, Huang HM, Shih YH, Chen HC, Dong DR *et al.* (2001). Thermo-debonding mechanisms in dentin bonding systems using finite element analysis. *Biomaterials* 22(2):113-123.
- Martini AP, Anchieta RB, Rocha EP, Freitas Junior AC, Almeida EO, Sundfeld RH *et al.* (2009). Influence of voids in the hybrid layer based on self-etching adhesive systems: a 3-D FE analysis. *J Appl Oral Sci* 17 Suppl(19-26).
- Misra A, Spencer P, Marangos O, Wang Y, Katz JL (2004). Micromechanical analysis of dentin/adhesive interface by the finite element method. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 70(1):56-65.
- Nogueira P, Ramirez C, Torres A, Abad M, Cano J, Lopez J *et al.* (2001). Effect of water sorption on the structure and mechanical properties of an epoxy resin system. *J Applied Poly Sci* 80(1):71-80.
- Nunes TG, Garcia FC, Osorio R, Carvalho R, Toledano M (2006). Polymerization efficacy of simplified adhesive systems studied by NMR and MRI techniques. *Dent Mater* 22(10):963-972.
- Oliveira SS, Marshall SJ, Habelitz S, Gansky SA, Wilson RS, Marshall GW, Jr. (2004). The effect of a self-etching primer on the continuous demineralization of dentin. *Eur J Oral Sci* 112(4):376-383.
- Oliver WC, Pharr GM (1992). An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *J Mater Res* 7(06):1564-1583.
- Phrukkanon S, Burrow MF, Tyas MJ (1998). The influence of cross-sectional shape and surface area on the microtensile bond test. *Dent Mater* 14(3):212-221.

- Ryou H, Niu LN, Dai L, Pucci CR, Arola DD, Pashley DH *et al.* (2011). Effect of biomimetic remineralization on the dynamic nanomechanical properties of dentin hybrid layers. *J Dent Res* 90(9):1122-1128.
- Sadek FT, Castellan CS, Braga RR, Mai S, Tjaderhane L, Pashley DH *et al.* (2010). One-year stability of resin-dentin bonds created with a hydrophobic ethanol-wet bonding technique. *Dent Mater* 26(4):380-386.
- Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH (1995). Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. *Oper Dent* 20(1):18-25.
- Santini A, Miletic V (2008). Comparison of the hybrid layer formed by Silorane adhesive, one-step self-etch and etch and rinse systems using confocal micro-Raman spectroscopy and SEM. *J Dent* 36(9):683-691.
- Schulze KA, Oliveira SA, Wilson RS, Gansky SA, Marshall GW, Marshall SJ (2005). Effect of hydration variability on hybrid layer properties of a self-etching versus an acid-etching system. *Biomaterials* 26(9):1011-1018.
- Tay FR, Pashley DH (2001). Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. *Dent Mater* 17(4):296-308.
- Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M (2002). Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. *J Dent Res* 81(7):472-476.
- Tay FR, Pashley DH (2003). Have dentin adhesives become too hydrophilic? *J Can Dent Assoc* 69(11):726-731.
- Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Hiraishi N, Yiu CK (2005). Water treeing in simplified dentin adhesives--deja vu? *Oper Dent* 30(5):561-579.
- Van Ende A, De Munck J, Mine A, Lambrechts P, Van Meerbeek B (2010). Does a low-shrinking composite induce less stress at the adhesive interface? *Dent Mater* 26(3):215-222.
- Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A *et al.* (2007). Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials* 28(26):3757-3785.
- Van Landuyt KL, Mine A, De Munck J, Jaecques S, Peumans M, Lambrechts P *et al.* (2009). Are one-step adhesives easier to use and better performing? Multifactorial assessment of contemporary one-step self-etching adhesives. *J Adhes Dent* 11(3):175-190.
- Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H *et al.* (2004). Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res* 83(6):454-458.
- Yoshihara K, Yoshida Y, Nagaoka N, Fukegawa D, Hayakawa S, Mine A *et al.* (2010). Nano-controlled molecular interaction at adhesive interfaces for hard tissue reconstruction. *Acta Biomater* 6(9):3573-3582.

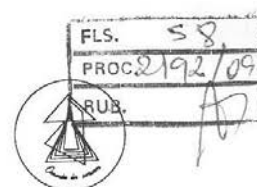
Yoshihara K, Yoshida Y, Hayakawa S, Nagaoka N, Irie M, Ogawa T *et al.* (2011). Nanolayering of phosphoric acid ester monomer on enamel and dentin. *Acta Biomater* 7(8):3187-3195.

Anexo

Anexo A (Comite de ética)



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

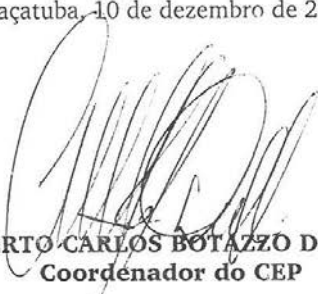


COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto **“Análise das propriedades mecânicas da interface dentina/adesivo em função da utilização de diferentes sistemas adesivos na dentina”**, sob a responsabilidade de EDUARDO PASSOS ROCHA, está de acordo com os Princípios Éticos em Pesquisa e foi aprovado em 10/12/09, de acordo com o Processo FOA-2142/09.

Araçatuba, 10 de dezembro de 2009.


ALBERTO CARLOS BOTAZZO DELBEM
Coordenador do CEP

Anexo B (normas da revista)

Dental Materials

Authors are requested to submit their original manuscript and figures via the online submission and editorial system for Dental Materials. Using this online system, authors may submit manuscripts and track their progress through the system to publication. Reviewers can download manuscripts and submit their opinions to the editor. Editors can manage the whole submission/review/revise/publish process. Please register at: <http://ees.elsevier.com/dema>.

Dental Materials now only accepts online submissions.

The Artwork Quality Control Tool is now available to users of the online submission system. To help authors submit high-quality artwork early in the process, this tool checks the submitted artwork and other file types against the artwork requirements outlined in the Artwork Instructions to Authors on www.elsevier.com/artworkinstructions. The Artwork Quality Control Tool automatically checks all artwork files when they are first uploaded. Each figure/file is checked only once, so further along in the process only new uploaded files will be checked.

Manuscripts

The journal is principally for publication of **Original Research Reports**, which should preferably investigate a defined hypothesis. Maximum length 6 journal pages (approximately 20 double-spaced typescript pages) including illustrations and tables.

Systematic Reviews will however be considered. Intending authors should communicate with the Editor beforehand, *by email*, outlining the proposed scope of the review. Maximum length 10 journal pages (approximately 33 double-spaced typescript pages) including figures and tables.

Three copies of the manuscript should be submitted: each accompanied by a set of illustrations. The requirements for submission are in accordance with the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals", *Annals of Internal Medicine*, 1997,126, 36-47. All manuscripts must be written in American English. Authors are urged to write as concisely as possible.

The Editor and Publisher reserve the right to make minimal literary corrections for the sake of clarity. Authors for whom English is not the first language should have their manuscripts read by colleagues fluent in English. If extensive English corrections are needed, authors may be charged for the cost of editing. For additional reference, consult issues of *Dental Materials* published after January 1999 or the Council of Biology Editors Style Manual (1995 ed.).

All manuscripts should be accompanied by a **letter of transmittal**, signed by each author, and stating that the manuscript is not concurrently under consideration for publication in another journal, that all of the named authors were involved in the work leading to the publication of the paper, and that all the named authors have read the paper before it is submitted for publication.

Always keep a backup copy of the electronic file for reference and safety.

Manuscripts not conforming to the journal style will be returned. In addition, manuscripts which are not written in fluent English will be rejected automatically without refereeing.

Format

General

- number all pages consecutively.
- type double-spaced on A4 or 8.5 x 11-inch bond paper, with margins of 30 mm.
- double-space references.
- indent or space paragraphs.
- arrange article in the following order: Title, Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusion, Acknowledgements, References, Tables, Figures, Captions.
- start each section on a separate page.

Title page

- Title (capitalize the first letter of the first word) e.g. Comparison of the color stability of ten new composites.
- Authors (first name, middle initial, surname) e.g. Kenneth J. Anusavice 1, Victoria Marker 2
- Authors' addresses (abbreviated) e.g.
1 Department of Biomaterials, University of Florida, Gainesville, Florida, USA
2 Department of Biomaterials Science, Baylor College of Dentistry, Dallas, Texas, USA
- Short Title (45 characters) e.g Color stability of composites
- **Corresponding Author details (essential): Name, complete address, phone, fax, and E-mail numbers**

Abstract (structured format)

- 250 words or less.
- subheadings should appear in the text of the abstract as follows: Objectives, Methods, Results, Significance. (For Systematic Reviews: Objectives, Data, Sources, Study selection, Conclusions). The Results section may incorporate small tabulations of data, normally 3 rows maximum.

Keywords

Up to 10 keywords should be supplied e.g. dental material, composite resin, adhesion.

Introduction

This must be presented in a structured format, covering the following subjects, although actual subheadings should not be included:

- succinct statements of the issue in question;
- the essence of existing knowledge and understanding pertinent to the issue (reference);
- the aims and objectives of the research being reported relating the research to dentistry, where not obvious.

Materials and methods

- describe the procedures and analytical techniques.
- only cite references to published methods.
- include at least general composition details and batch numbers for all materials.
- identify names and sources of all commercial products e.g.

"The composite (Silar, 3M Co., St. Paul, MN, USA)..."

"... an Au-Pd alloy (Estheticor Opal, Cendres et Metaux, Switzerland)."

- specify statistical significance test methods.

Results

- refer to appropriate tables and figures.
- refrain from subjective comments.
- make no reference to previous literature.
- report statistical findings.

Discussion

- explain and interpret data.
- state implications of the results, relate to composition.
- indicate limitations of findings.
- relate to other relevant research.
- suggest directions for future research.

Conclusion (if included)

- must NOT repeat Results or Discussion
- must concisely state inference, significance, or consequences

Acknowledgements

As appropriate, e.g.:

"Based on a thesis submitted to the graduate faculty, University of Virginia, in partial fulfilment of the requirements for the M.S. degree."

"This investigation was supported in part by Research Grant DE 00000 from the National Institute of Dental Research, Bethesda, MD 20892."

References - must now be given **according to the following numeric system**:

Cite references in text in numerical order. Use square brackets: in-line, not superscript e.g. [23]. All references must be listed at the end of the paper, double-spaced, without indents. For example:

1. Moulin P, Picard B and Degrange M. Water resistance of resin-bonded joints with time related to alloy surface treatments. J Dent, 1999; 27:79-87.
2. Taylor DF, Bayne SC, Sturdevant JR and Wilder AD. Comparison of direct and indirect methods for analyzing wear of posterior composite restorations. Dent Mater, 1989; 5:157-160.

Avoid referencing abstracts if possible. If unavoidable, reference as follows:

3. Demarest VA and Greener EH . Storage moduli and interaction parameters of experimental dental composites. J Dent Res, 1996; 67:221, Abstr. No. 868.

Tables and figures

All tables and figures must be thoroughly discussed in the text of the manuscript.

Tables

- one table to a page, each with a title.
- number tables in order of mention using Arabic numerals.
- must be able to "stand alone" apart from text.
- when appropriate, standard deviations of values should be indicated in parentheses; (do NOT use $\pm$ notation).
- results of statistical analysis must be included, use superscript letters to indicate significant differences.
- for explanatory footnotes, use symbols (*, #, **, ##).

Figures

- Do not import the figures into the text file but, instead, indicate their approximate locations directly in the electronic text. Images to be supplied separately in jpg, gif or other graphics file.
- only black and white photographs for print publication.
- omit titles and other information contained in the figure caption.

- maximum of 6 figures per manuscript.
- figures grouped together should have similar dimensions and be labelled "a, b, c", etc.
- place magnification markers directly on the micrographs.
- authors should consider that the majority of figures will be reduced to the width of a single column (approximately 85 mm). Preferably figures should exactly match, or be no more than 1.5 times that width.
- authors can indicate if they feel a figure should be full page width.

Dental Materials has been selected for inclusion in a new 'colourful e-products' workflow. Figures that appear in black and white in the printed version of the journal can be IN COLOUR, online, in ScienceDirect. Authors wishing to make use of this facility should ensure that 1. the artwork is in an acceptable format (TIFF, EPS or MS Office files) and at the correct resolution 2. RGB colourspace is used and 3. for colour online and black and white in print, both colour and black and white artwork (file and/or hardcopy) is provided. **There will be no charges to the authors for colour figures online.**

Graphs

- unique, concise axis labels; do not repeat the Figure caption.
- uniform size for graphs of similar type.
- type size that will be easily read when the graph is reduced to one column width.
- lines that are thick and solid (100% black).

Captions to tables and figures

- list together on a separate page.
- should be complete and understandable apart from the text.
- include key for symbols or abbreviations used in Figures.
- individual teeth should be identified using the FDI two-digit system.

General Notes on Text

Abbreviations and acronyms: terms and names to be referred to in the form of abbreviations or acronyms must be given in full when first mentioned.

Correct Usage

- use S.I. units (International System of Units). If non-SI units must be quoted, the SI equivalent must immediately follow in parentheses.
- use correct symbols for μ g, L (as in μ m, mL, etc.)
- put leading zeros in all numbers less than 1.0

- write out number of ten or fewer (ten rats) except when indicating inanimate quantities (10 mL)
- always use digits for dates, dimensions, degrees, doses, time, percentages, ratios, statistical results, measurements, culture cells, and teeth.
- the complete names of individual teeth must be given in the text.

General Policy

- receipt of manuscripts will be acknowledged.
- after initial review, authors will be notified of status.
- every effort is made to obtain timely reviews; please remember that the referees and the editor are volunteers.
- a list of revisions and responses to reviewers' critiques must accompany resubmitted revised manuscripts.

On Submission: Agreement, by the act of ticking a box, to the statement, "This paper has been compiled with the knowledge, input and approval of all the named authors."

On acceptance, authors will be required to sign a **transfer of copyright agreement**. If figures, tables, or other excerpts, are included from copyrighted works the author is responsible for obtaining written permission from the copyright holder prior to submitting the final version of the paper. Full credit must be given to such sources.

Offprints and page charges: no page charges are levied on articles published in *Dental Materials*. Each corresponding author receives 25 offprints of their article free of charge after it has been published; they will also have the opportunity to order additional copies.

Submission Package Checklist:

- *letter of transmittal* signed by all authors.
- One electronic copy of the manuscript.
- One electronic copy of each image and table, all labelled.

For further guidance on electronic submission, please contact Author Services, Log-In Department, Elsevier Ltd, The Boulevard, Langford Lane, Kidlington, Oxford, OX5 1GB, UK. E-mail: authors@elsevier.co.uk, fax: +44 (0)1865 843905, tel: +44 (0)1865 843900.