

ANDRESSA DA SILVA KUWANA

**INFLUÊNCIA DO LASER Nd:YAG NA QUALIDADE DA HIBRIDIZAÇÃO
DA DENTINA BOVINA EMPREGANDO SISTEMA ADESIVO
CONVENCIONAL OU AUTOCONDICIONANTE: análise em MEV**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos,
Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para a obtenção
do título de DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação em
ODONTOLOGIA RESTAURADORA, Especialidade em Dentística.

Orientador: Prof. Adj. Sérgio Eduardo de Paiva Gonçalves

São José dos Campos

2008

FOLHA DE APROVAÇÃO

Kuwana AS. Influência do laser Nd:YAG na qualidade da hibridização da dentina bovina empregando sistema adesivo convencional ou autocondicionante: análise em MEV [tese]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista - UNESP, São José dos Campos, 2008.

São José dos Campos, 23 de junho de 2008.

Banca examinadora

1. Prof. Adj. Sérgio Eduardo de Paiva Gonçalves
Faculdade de Odontologia de São José dos Campos
Universidade Estadual Paulista – UNESP
2. Prof . Dr. Carlos Alberto Adde
Faculdade de Odontologia da USP
Universidade de São Paulo – USP
3. Profa. Dra. Andréa Anido Anido
Curso de Odontologia do Instituto de Ciências da Saúde
Universidade Bandeirantes - UNIBAN
4. Prof. Adj. Clovis Pagani
Faculdade de Odontologia de São José dos Campos
Universidade Estadual Paulista – UNESP
5. Profa. Adj. Ana Paula Martins Gomes
Faculdade de Odontologia de São José dos Campos
Universidade Estadual Paulista – UNESP

Dedico este trabalho

À Deus

“O Senhor é meu pastor e nada me faltará”

Salmo 23 (1)

A quem certamente devemos não só a existência, mas também tudo que alcançamos em nossas vidas. Sem a Sua presença não seria possível ter encontrado inspiração, ter vencido as dificuldades do caminho e galgado mais este degrau.

Meu imenso respeito e gratidão por mais esta conquista.

Aos meus pais

Eziqueu e Vera Lúcia,

Que com muito amor e dedicação possibilitaram a minha formação pessoal e profissional, sempre me encorajando nas horas difíceis.

A vocês todo meu amor, respeito e principalmente, eterna gratidão por contribuírem tanto para concretização do meu ideal.

Compartilho inteiramente com vocês, mais esta vitória.

Ao meu marido André,

Pelo seu amor, paciência e principalmente pelas horas e horas de muita ajuda e companheirismo. Sem você certamente seria muito mais difícil.

Meu amor e agradecimento não só por todo apoio, mas também porque sem o seu amor, as horas difíceis se tornariam impossíveis .

Aos meus irmãos**Marcelo, Fabiane e Juliana,**

Pelo amor e pelo carinho dedicado a mim, pelo companheirismo em cada etapa da minha, pelo apoio oferecido para que eu realmente fosse em busca dos meus sonhos, encontrando minhas vitórias.

Aos meus sobrinhos**Fabício, Vinícius, Ricardinho, Gabriela, Yaritza e Nicolas**

Por vocês serem os tesouros da minha vida, sempre só me trazendo alegria e momentos bons.

Ao meu orientador**Prof. Dr. Sérgio Eduardo de Paiva Gonçalves,**

Por me orientar com tanta dedicação e paciência. Pelos conhecimentos transmitidos. Pelo incentivo e colaboração para a construção deste trabalho.

Meu agradecimento, respeito e admiração.

Ao amigo Prof. Dr. Clovis Pagani

Pelo seu carinho e sua amizade, sempre disposto a aconselhar, apoiar e ajudar. Por ser para mim um exemplo de pessoa, de professor e de profissional, que felizmente eu tive o privilégio de conhecer, durante minha caminhada acadêmica.

Minha admiração, respeito, carinho, e eterna gratidão.

Ao amigo Carlos Alberto Dotto,

Minha admiração e respeito por me apoiar e incentivar, sempre me transmitindo seu conhecimento e experiência.

Obrigada pelas oportunidades, por acreditar em minha capacidade e principalmente por toda colaboração.

Aos amigos ,

Prof. Dr. Carlos Alberto Adde e José Scarso Filho

Por vocês fazerem parte da minha vida e sempre oferecendo carinho, amizade e apoio.

Obrigada pelas oportunidades. Dedico a vocês minha admiração e gratidão.

À amiga Andréa Anido Anido,

Pela amizade e contribuição para a realização deste trabalho.

Às amigas,

Leily Macedo Firoozmand e Lia Alves da Cunha

Pelo companheirismo, motivação, carinho, amizade e principalmente pela infinita disposição em ajudar.

Foram muitos momentos bons, que certamente guardarei sempre em minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, pela oportunidade de realizar minha Graduação e o curso de Pós Graduação.

Ao Prof. Adj. Clóvis Pagani, Coordenador do programa de Pós Graduação em Odontologia Restauradora.

À grande amiga Rosehelene Marotta Araújo, pelo incentivo constante.

Aos Professores do curso de Pós Graduação.

A Profa. Dra. Nadir Gasparoto Mancini, pela importante colaboração.

Ao Prof. Ivan Balducci pela colaboração na análise estatística, pela paciência e disposição em ajudar.

Aos amigos do curso de Doutorado: Maristela, Caio e Rodrigo, pelo respeito e pela agradável convivência.

Aos amigos Eron e Ana Carolina Botta, pelo companheirismo e pela agradável convivência.

À Maria Lucia do INPE pela colaboração na realização da Microscopia Eletrônica de Varredura.

Aos meus sogros Yoshiko e Tochimi, cunhadas Ana Paula e Andressa e cunhado Ricardo, pelo carinho e incentivo.

Às amigas, Margarete, Juliana, pelo auxílio nas horas difíceis, incentivo e amizade.

Aos amigos Amauri Favoretto, Carmen Rodrigues, João Arioli, Márcia Dalmolin, Eduardo Nakamura, Flávia Miranda, Marina Conde, Ísis Encarnação, Márcia Silvestre, Jhosué Carlesso, Débora Eimrich, Mara Rodrigues, Alice Kano, Mary Lessa, Maria Emília Issa, Heloísa Prata, e Delgado Tomas, pela colaboração e por todo incentivo.

Às secretárias do Departamento de Odontologia Restauradora.

Às técnicas de laboratório Josiane e Clélia, por sempre estarem prontas a ajudar.

Às secretárias do curso de Pós Graduação Erena, Rosemary, Lilian e Cida, pela colaboração durante o curso.

Ao Carlos Guedes sempre muito atencioso e prestativo.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE QUADROS	13
LISTA DE TABELAS	14
LISTA DE ABREVIATURAS	15
RESUMO	17
1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO DA LITERATURA	23
2.1 Adesão	23
2.2 Laser Nd:YAG	83
3 PROPOSIÇÃO	102
4 MATERIAL E MÉTODO	103
4.1 Materiais empregados	103
4.2 Preparo das amostras	104
4.3 Divisão dos grupos	108
4.4 Preparo das amostras para análise da hibridização	109
4.5 Preparo das amostras para análise em MEV	115
4.5.1 Análise da interface adesiva	115
4.5.2 Fixação	115
4.5.3 Desidratação	116
4.5.4 Secagem	116
4.5.5 Colagem das amostras nos stubs e metalização	116
4.6 Análise dos resultados	117
4.7 Análise estatística	120
5 RESULTADOS	121
5.1 Análise estatística	121

5.1.1 Parte I – Espessura da camada híbrida	122
5.1.2 Parte II – Escores	127
5.2 Análise morfológica descritiva da hibridização da dentina	133
6 DISCUSSÃO	143
6.1 Metodologia	143
6.2 Resultados	154
6.2.1 Espessura de hibridização	154
7 CONCLUSÃO	169
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*	170
APÊNDICE	185
<i>ABSTRACT</i>	189

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ácido fosfórico a 37% em gel - Condicionador Dental Gel (Dentsply, Brasil) e adesivo Adper Single Bond (3M ESPE, Dental Products).....	107
Figura 2 - Sistema adesivo <i>Clearfil SE Bond</i> (Kuraray Medical Inc).....	107
Figura 3 - Resina composta Filtek Z350, cor A2 (3M ESPE, Dental Products).....	107
Figura 4 - Laser de Nd:YAG Pulse Master 600 IQ (American Dental Technology-USA)	108
Figura 5 – Representação da distribuição das amostras de acordo com o Grupo.	111
Figura 6 – Preparo das amostras: a) dente bovino com a raiz seccionada; b) dente bovino após primeiro embutimento.	112
Figura 7 – Preparo das amostras: a) desgaste incisal dos dentes em recortador de gesso; b) dente bovino com a incisal desgastada.	112
Figura 8 – Preparo das amostras: a e b) secção da coroa do dente bovino no sentido inciso-cervical com disco diamantado em Labcut.....	112
Figura 9 – Preparo das amostras: a) secção na região cervical com disco de carborundum em peça-de-mão; b) perfil das hemi-coroas obtidas.....	113
Figura 10 – Preparo das amostras: a) selamento das hemi-coroas com cera utilidade para posterior embutimento em resina acrílica; b) padronização da espessura de dentina com auxílio de um espessímetro.....	113
Figura 11 – Divisão dos grupos: a) hemi-coroas após padronização da <i>smear layer</i> em Politriz ; b) delimitação da dentina por meio de fita adesiva <i>teflon</i> , dividindo as hemi-coroas em porções incisal e cervical, para posterior aplicação dos sistemas adesivos	

convencional e autocondicionante, respectivamente e divisão das amostras nos três grupos de estudo.	113
Figura 12 - Preparo das amostras para análise da hibridização: a) confecção de blocos de resina composta, em dois incrementos ; b) perfil das hemi-coroas com os blocos de resina composta.....	114
Figura 13 - Preparo das amostras para análise da hibridização: no perfil da hemi-coroa, as áreas a serem preparadas e analisadas em MEV.	114
Figura 14 – Representação dos escores atribuídos para presença de fendas e porosidades na camada híbrida, aumento de 2000X: A) 0: ausência de fendas e porosidades, camada homogênea; B) 1: presença de porosidades (setas) e ausência de fendas; C) 2: ausência de porosidades e presença de fendas (toda a extensão entre camada híbrida e dentina - setas); D) 3: presença de porosidades (seta) e fendas (círculo).....	118
Figura 15 - Representação dos escores atribuídos para presença de fendas e porosidades na camada híbrida, aumento de 2000X: A) 0: ausência de <i>tags</i> e <i>microtags</i> ; B) 1: presença de <i>tags</i> e ausência de <i>microtags</i> ; C) 2: presença de <i>tags</i> e ausência de <i>microtags</i> (círculo).	119
Figura 16 - Gráfico de colunas (média±desvio padrão) dos dados de espessura da camada híbrida obtidos, para as seis condições experimentais.	123
Figura 17 - Efeito Sistema Adesivo. Gráfico de médias dos valores de espessura obtidos segundo as condições experimentais estabelecidas pelas duas variáveis: Adesivo e Laser.	125
Figura 18 - Efeito Aplicação do Laser. Gráfico de médias dos valores de espessura obtidos segundo as condições experimentais estabelecidas pelas duas variáveis: Adesivo e Laser.	125
Figura 19 - Gráfico de colunas da distribuição de frequência relativa (%), segundo presença de falhas e o tipo de sistema adesivo.	129
Figura 20 - Gráfico de colunas da distribuição de frequência relativa (%), segundo presença de <i>tags</i> e o tipo de sistema adesivo.....	132
Figura 21 - Grupo Controle. Interfaces adesivas submetidas ao sistema adesivo <i>Adper Single Bond</i> : A- <i>Tags</i> com formato típico de funil,	

	presença de <i>microtags</i> , evidenciados por setas. Camada híbrida não homogênea, apresentando fenda e porosidades (círculo). B- Espessura de hibridização de 1,79µm e de <i>tag</i> de 2,82µm, presença de <i>microtags</i> (seta).	134
Figura 22 - Grupo Controle. Interfaces adesivas submetidas ao sistema adesivo <i>Clearfil SE Bond</i> : A- Camada híbrida homogênea e delgada, <i>tags</i> escassos e curtos, ausência de <i>microtags</i> . B- Espessura de <i>tag</i> de 1,80µm e comprimento de 4,88µm, ausência de <i>microtags</i>		135
Figura 23 - Grupo 1. Interfaces adesivas submetidas ao sistema adesivo <i>Adper Single Bond</i> : A- Camada híbrida bem evidente, presença de <i>tags</i> curtos, <i>microtags</i> (seta) e porosidades (círculo). B- Espessura de hibridização de 1,45µm e comprimento do <i>tag</i> de 8,16µm, porosidades (círculo).		137
Figura 24 - Grupo 1. Interfaces adesivas submetidas ao sistema adesivo <i>Clearfil SE Bond</i> : A- Camada híbrida homogênea sem falhas, <i>tags</i> escassos e curtos, ausência de <i>microtags</i> . B- Espessura de hibridização de 2,27µm.		138
Figura 25 - Grupo 2. Interfaces adesivas submetidas ao sistema adesivo <i>Adper Single Bond</i> : A- Camada híbrida apresentando fendas e porosidades (círculo), presença de <i>tags</i> e <i>microtags</i> (seta) e porosidades. B- Vemos um artefato de técnica (círculo).....		140
Figura 26 - Grupo 2. Interfaces adesivas submetidas ao sistema adesivo <i>Clearfil SE Bond</i> : A- Espessura de hibridização de 1,93µm, presença de muitos <i>tags</i> , porosidades evidenciadas pelo círculo. B- Ausência de <i>tags</i> e <i>microtags</i> . Camada híbrida homogênea e bem evidente com espessura de 1,64µm.		141

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Materiais empregados, fabricantes, características do produto e composição	104
Quadro 2 – Grupos de estudo.....	110
Quadro 3 – Escore para falhas (Rauscher, 2003)	118
Quadro 4 – Escores para <i>tags</i> e <i>microtags</i>	119

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média ($\pm$ desvio padrão) dos dados de espessura da camada híbrida (μm) obtidos nas imagens de microscopia eletrônica de varredura sob dois tipos de sistema adesivo em três tipos de tratamento.	122
Tabela 2 - ANOVA para os dados de espessura da camada híbrida (μm) obtidos.	124
Tabela 3 - Resultado da comparação de médias das seis condições experimentais, após a aplicação do teste de Tukey (5%).	126
Tabela 4 - Grupo Controle. Distribuição de frequência absoluta (n) e relativa (%), segundo presença de falhas na camada híbrida e o tipo de sistema adesivo.	127
Tabela 5 - Grupo 1. Distribuição de frequência absoluta (n) e relativa (%), segundo presença de falhas na camada híbrida e o tipo de sistema adesivo.	128
Tabela 6 - Grupo 2. Distribuição de frequência absoluta (n) e relativa (%), segundo presença de falhas na camada híbrida e o tipo de sistema adesivo.	128
Tabela 7 - Resultado da comparação múltipla das proporções entre os sistemas adesivos, segundo os grupos de estudo.	130
Tabela 8 - Grupo Controle. Distribuição de frequência absoluta (n) e relativa (%), segundo presença de <i>tags</i> e o tipo de sistema adesivo.	130
Tabela 9 - Grupo 1. Distribuição de frequência absoluta (n) e relativa (%), segundo presença de <i>tags</i> e o tipo de sistema adesivo.	131
Tabela 10 - Grupo 2. Distribuição de frequência absoluta (n) e relativa (%), segundo presença de <i>tags</i> e o tipo de sistema adesivo.	131
Tabela 11 - Resultado da comparação múltipla das proporções entre os sistemas adesivos, segundo os grupos de estudo.	132

LISTA DE ABREVIATURAS

4-META = 4-metacriloxietil trimelitato anidrido
ANOVA = análise de variância
Er:YAG = laser de érbio:ítrio-alumínio-granada
FTIR = Fourier Transform Infrared (Espectroscopia de Infravermelho de Transformada de Fourier)
HEMA = hidroxí etil metacrilato
MET = microscopia eletrônica de transmissão
MEV = microscopia eletrônica de varredura
MEV-EC = microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo
MFA = microscopia de força atômica
MMA/TBB = metil metacrilato/tri-n-nbutil burano
MTRX = Microscópico Tomográfico Raio X
NaOCl = hipoclorito de sódio
Nd:YAG = laser de neodímio: ítrio-alumínio-granada
 μ = micro (10^{-6})
 μm = micrometro
 μs = microssegundo
Ca = cálcio
 cmH_2O = centímetro de água
 CO_2 = dióxido de carbono
G = giga (10^9)
GPa = giga Pascal
h = hora
HCl = ácido clorídrico
Hz = hertz
 J/cm^2 = joule por centímetro quadrado

K= quilo (10^3)

Kg = quilograma

Kgf /cm² = quilograma força por centímetro quadrado

KV = quilo volt

m = mili (10^{-3})

M= mega (10^6)

min = minuto

mJ = milijoule

mJ/min = mili joule por minuto

ml = mililitro

ml/s = mililitro por segundo

mm = milímetro

mM = milimol

mm/min = milímetro por minuto

mm² = milímetro quadrado

mmHg = milímetro de mercúrio

MN/m² = mega Newton por metro quadrado

mol/L = mol por litro

MPa = mega Pascal

mW/cm² = miliwatt por centímetro quadrado

N = Newton

N = normal

nm = nanômetro

°C = grau Celsius

p = pico(10^{-12})

ps = picossegundos

rpm = rotações por minuto

s = segundo

W = watt

η = nano (10^{-9})

λ = comprimento de onda

KUWANA AS. Influência do laser Nd:YAG na qualidade da hibridização da dentina bovina empregando sistema adesivo convencional ou autocondicionante: análise em MEV [tese]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista; 2008.

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi avaliar em MEV a influência da irradiação com laser Nd:YAG na qualidade da hibridização da dentina bovina, empregando-se sistema adesivo convencional *Adper Single Bond* – 3M ESPE (*SB*) ou autocondicionante *Clearfil SE Bond* – Kuraray (*CSEB*). Para tanto, foram utilizados 12 incisivos bovinos, extraídos e congelados. Os dentes foram seccionados em duas hemi-coroas e incluídos em resina acrílica. Em seguida, a superfície vestibular foi desgastada até a obtenção da dentina de profundidade média. Cada hemi-coroa do mesmo dente, foi submetida em sua porção incisal ao *SB* e em sua porção cervical ao *CSEB*, sendo divididas em 3 grupos, de 6 hemi-coroas cada: Controle - após a aplicação dos sistemas adesivos foi realizada a fotopolimerização ; G1 – após a aplicação dos sistemas adesivos a amostra foi irradiada com laser Nd:YAG com 60mJ de energia/pulso previamente à fotopolimerização e G2 – após a aplicação dos sistemas adesivos a amostra foi irradiada com laser Nd:YAG com 140mJ de energia/pulso previamente à fotopolimerização. Todas as amostras receberam a aplicação de dois incrementos de resina composta *Filtek Z350* – 3M ESPE e fotopolimerização de acordo com as orientações do fabricante. Após 24h de armazenagem em água destilada a 37°C, os perfis de adesão foram polidos, submetidos a um desafio ácido-base, e processados para análise em MEV da espessura da camada híbrida, presença de falhas e de *tags* e *microtags*. Foram obtidas quatro medidas e a média para cada amostra. Os resultados foram submetidos aos testes estatísticos de Análise de Variância (ANOVA) e de Tukey ($p<0,05$), segundo os quais, independente do sistema adesivo o G2 apresentou a maior média de espessura da camada híbrida ($1,89\pm0,15$) e o Controle com o *Clearfil SE Bond* apresentou a menor média de espessura de camada híbrida, diferindo estatisticamente dos outros grupos. Escores (0-3) foram atribuídos para

presença de falhas e (0-2) para presença de *tags* e *microtags*. O teste de comparação múltipla de proporções demonstrou que a menor prevalência de falhas foi no G2 com o *CSEB* e que o melhor desempenho para presença de *tags* e *microtags* foi no G1 com o *SB*. Independente do sistema adesivo utilizado o laser Nd:YAG influenciou positivamente a qualidade de hibridização.

PALAVRAS-CHAVE: Laser Nd:YAG; dentina; adesivos dentinários; hibridização; *in vitro*;

1 INTRODUÇÃO

A adesão, há muito estudada, teve seu início com Buonocore¹² em 1955, que propôs a realização de microrretenções no esmalte dental pela técnica de condicionamento ácido da superfície. Em seguida, outros autores introduziram o condicionamento ácido da dentina e o conceito de hibridização (FUSAYAMA et al.³¹, 1979; NAKABAYASHI et al.⁶³, 1982; NAKABAYASHI et al.⁶⁴, 1991). O condicionamento ácido total da dentina causa remoção da *smear layer*, abertura dos túbulos dentinários e desmineralização superficial da matriz peri e intertubular, expondo uma densa trama de fibras colágenas (MARSHALL JR⁵⁴, 1993). A interação desta trama colágena com monômeros resinosos forma a camada híbrida, descrita por Nakabayashi et al.⁶³ em 1982.

A adesão à dentina difere do esmalte que apresenta poucas modificações na técnica inicial, desde o seu surgimento. O tecido dentinário é estruturalmente complexo, devido à quantidade de componentes orgânicos e à variação das suas estruturas químicas e morfológicas (MARSHALL JR⁵⁴, 1993). Além disso, um outro fator que também pode interferir no processo de adesão à dentina é a *smear layer* resultante da instrumentação do tecido dentinário (PASHLEY⁷², 1984). Assim, a morfologia da interface adesiva, bem como a resistência de união ao tecido dentinário estão susceptíveis à variações inerentes ao tecido que podem ser determinadas pela profundidade cavitária, presença ou não de *smear layer*, tipo e intensidade de injúrias, direção e disposição dos túbulos dentinários. (PERDIGÃO et al.⁸¹, 1994; GONÇALVES et al.³⁶, 1999).

A formação de uma boa qualidade de camada híbrida é importante não somente para o aumento da resistência adesiva, bem como para o vedamento de túbulos dentinários, prevenindo a microinfiltração e aumentando a longevidade das restaurações (SANO et al.⁹⁶, 1999). Alguns estudos relatam a importância da espessura da camada híbrida e da formação de *tags* na resistência adesiva (TAY e PASHLEY¹⁰⁷, 2001; TOLEDANO et al.¹¹¹, 2001; LUZ et al.⁵², 2005).

A qualidade da camada híbrida formada depende de uma série de fatores, inerentes não somente às características do substrato dentinário e aos tratamentos à este empregado, bem como aos tipos de sistemas adesivos utilizados. O emprego dos sistemas adesivos convencionais sugere o condicionamento dentinário com ácido fosfórico que promove a remoção total da *smear layer* e exposição de fibras colágenas com subsequente interpenetração do *primer* e adesivo (NAKABAYASHI et al.⁶³, 1982). Os sistemas que têm esse mecanismo de ação geram camadas híbridas espessas (ARRAIS e GIANNINI⁸, 2002; SUSIN et al.¹⁰², 2003), porém, com maior probabilidade de falhas em função da hidrólise das fibras colágenas que não foram infiltradas pelo adesivo (NAKABAYASHI e PASHLEY⁶⁵, 1998; SUSIN et al.¹⁰², 2003). O surgimento dos sistemas adesivos autocondicionantes permite simultânea desmineralização e infiltração do monômero adesivo na dentina (KWONG et al.⁵⁰, 2000) aumentando a probabilidade de penetração entre as fibras colágenas (WATANABE et al.¹²³, 1994). Este mecanismo de ação elimina a necessidade de remoção da *smear layer*, incorporando-a a camada híbrida e interagindo com a dentina subjacente de diferentes maneiras, dependendo principalmente do seu potencial ácido (TAY et al.¹⁰⁶, 2000; BOUILLAGUET et al.⁹, 2001; PEUMANS et al.⁸⁶, 2005). Esta estratégia de adesão gera camadas híbridas mais delgadas e com *tags* e *microtags* escassos, curtos e estreitos, porém apresentam-se mais homogêneas (YOSHIYAMA et al.¹³⁰, 1998; SANO et al.⁹⁶, 1999; TAY e PASHLEY¹⁰⁷, 2001).

Apesar da evolução dos sistemas adesivos, falhas ainda ocorrem na interface adesiva seja pela técnica empregada ou pelo mecanismo de ação dos mesmos. Assim, os pesquisadores têm procurado alternativas para a solução dessas falhas. Uma dessas alternativas é o uso dos lasers. Muitas pesquisas têm se voltado a esclarecer dúvidas ainda existentes, buscando elucidar os efeitos da interação da luz laser com os tecidos duros dentais e permitir o seu emprego de forma mais ampla e eficiente na Odontologia. A forma como tal interação pode interferir na adesão às estruturas dentais, especialmente na formação e qualidade da camada híbrida, ainda merece maiores esclarecimentos.

Wigdor et al.¹²⁸ em 1992, analisando o efeito do tratamento com laser Nd:YAG na morfologia da dentina, verificou a fusão da dentina intertubular e a variação na abertura dos túbulos dentinários. A recristalização da dentina, com conseqüente obliteração de alguns túbulos também foi relatada (DEDERICH et al.²⁴, 1984; MATSUMOTO et al.⁵⁸, 2001).

A aplicação de laser Nd:YAG na dentina com energia de 50 a 100mJ por pulso resulta na formação de estrutura fundida, com fendas e irregularidades (KAWABATA et al.⁴⁵, 1999).

Oda et al.⁷⁰ em 2001, verificaram que a morfologia da dentina irradiada com laser Nd:YAG e submetida à aplicação de sistema adesivo, apresentava túbulos dentinários fechados, impedindo a penetração do adesivo, não havendo formação de *tags* de resina e mesmo com a realização do condicionamento ácido, esta situação não era revertida.

Estas observações da morfologia após irradiação com laser Nd:YAG levaram Gonçalves³⁵, e Gonçalves et al.³⁶ em 1997 e posteriormente em 1999, a acreditar que a aplicação do laser sobre a dentina na presença do sistema adesivo pudesse provocar uma fusão de ambos formando uma camada híbrida mais resistente, e

conseqüentemente aumentando a união adesiva. Os resultados obtidos pelo autor mostraram significativo aumento da resistência adesiva e comprovaram a recristalização da dentina.

Matos et al.^{55e56} em 1999 e também em 2000, comprovaram as observações de Gonçalves³⁵ em 1997, mostrando que o laser Nd:YAG aplicado após o sistema adesivo ainda não polimerizado aumenta a resistência adesiva da resina composta.

Apesar dos resultados positivos na resistência adesiva de resinas compostas à dentina com a associação do laser Nd:YAG, desconhecemos ainda se essa associação promove mudanças efetivas na camada híbrida. Assim, a avaliação em microscopia eletrônica de varredura é de grande valia nesta investigação da superfície tratada pelo adesivo/ laser Nd:YAG.

Para análise ultraestrutural da interface adesiva a microscopia eletrônica de varredura é largamente empregada (NAKAJIMA et al.⁶⁷, 1995; PRATI et al.⁸⁸, 1999; KWONG et al.⁵⁰, 2000; PERDIGÃO et al.⁸⁵, 2000; VAN MEERBEEK et al.¹¹⁹, 2000; RAUSCHER⁹¹, 2003; SUSIN et al.¹⁰², 2003; ANIDO³, 2005). O Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) possui grande resolução, profundidade de foco, facilidade de preparação e interpretação da imagem de superfícies não-planas (ESTRELA²⁸, 2001). A combinação dessas propriedades tornou o MEV especialmente indicado para o estudo micromorfológico, sendo uma ferramenta indispensável em pesquisas e desenvolvimento científico no campo de estudo dos materiais (GABRIEL³², 1985).

Embasados pelo aumento real da resistência adesiva pela técnica associada do Laser Nd:YAG ao sistema adesivo e motivados pelas possibilidades de recursos visuais do MEV, acreditamos que este estudo poderá oferecer contribuição para compreensão da relação laser/adesivo/dentina.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Adesão

Buonocore¹² em 1955, apresentou um método para aumentar a adesão da resina acrílica às estruturas dentárias. Para tanto, utilizou substâncias químicas, dentre elas o ácido fosfórico a 85%, sobre a superfície do esmalte vestibular de incisivos humanos, *in vitro*, com o intuito de que um processo de descalcificação pudesse remover sua estrutura superficial, produzindo uma superfície mais reativa. Foi realizada a avaliação da resistência à remoção da resina acrílica, influenciada também pela armazenagem em água. O autor constatou um aumento da retenção de discos de resina acrílica aderidos ao esmalte quando da realização prévia do condicionamento com ácido fosfórico, utilizando como explicação para o fato, o grande aumento de área superficial reativa aliado ao aumento do umedecimento superficial, os quais contribuíram fisicamente para um melhor contato entre os substratos.

Garberoglio e Brannstrom³³, em 1976, com objetivo de examinar em microscopia eletrônica de varredura (MEV) a estrutura da dentina coronária de dentes humanos hígidos, utilizaram diferentes grupos de idade e com variações na distância da polpa. Os autores observaram que, o número de túbulos por mm², nas proximidades da polpa foi de 45.000, e diâmetro de 2,5µm, na porção mediana da coroa foram encontrados 29.500 túbulos por mm² e diâmetro de 1,2µm e na região periférica encontraram 20.000 túbulos por mm², com 0,9µm de

diâmetro. Concluíram os autores que o número e diâmetro dos túbulos dentinários aumentam quanto maior for a proximidade com a polpa.

Fusayama et al.³¹, em 1979, introduziram uma nova metodologia para avaliar a resistência adesiva. O novo sistema adesivo, Clearfil Bond System F (Kuraray), foi empregado sobre o esmalte e dentina hígida e cariada, submetidos ou não ao condicionamento ácido. A comparação foi realizada com os sistemas Adaptic Total System (Johnson & Johnson), Concise Enamel Bond (3M) e Palakan (Kulzer). As superfícies vestibulares de incisivos e oclusais de molares foram desgastadas, condicionadas ou não, recebendo em seguida os sistemas adesivos, seguindo as recomendações dos fabricantes e as respectivas resinas compostas foram aplicadas por meio de uma matriz de teflon de 5mm de diâmetro, contendo uma alça que possibilitou a ligação com a máquina de tração. Os autores concluíram que o novo sistema adesivo foi superior aos demais oferecendo maior resistência adesiva; o condicionamento ácido de esmalte e dentina aumentou significativamente a resistência adesiva em ambos os tecidos e que o sistema adesivo Clearfil Bond System F (Kuraray) mostrou forte adesão a todos os substratos.

Na busca pela efetividade adesiva entre resina e estrutura dental Nakabayashi et al.⁶³, em 1982, avaliaram a efetividade do 4-metacriloxietil trimelitato anidrido (4-META), na adesão ao esmalte e à dentina condicionados por ácidos. Foram utilizados neste estudo dentes humanos e bovinos, preparados com lixas de granulação 800 para criar uma superfície onde seria realizada a adesão. A área de adesão foi delimitada por meio de uma fita adesiva com uma perfuração de 5mm de diâmetro aplicada à superfície. As amostras foram divididas em dois grupos, submetidos aos seguintes tratamentos superficiais: ácido cítrico 1% e cloreto férrico 1% (1:1) ou nas concentrações, respectivas dos mesmos ácidos, de 10% e 3% (10:3). Após lavagem das superfícies, aplicou-se o sistema 4-META-metil-metacrilato/tri-n-butilburano oxidizado

(MMA/TBB-O) e seguiu-se a armazenagem em água destilada a 37°C por 24h para realização do teste de resistência à tração. Para a análise da estabilidade da adesão foi realizada a termociclagem dos espécimes. Os resultados revelaram uma efetividade adesiva significativa no grupo 10:3, tanto para esmalte como para dentina. Observou-se a presença do monômero polimerizado na dentina condicionada peri e intertubular e nos túbulos, justificando este aumento da força de união. Os autores concluíram que a penetração e polimerização de monômero no interior do substrato dental reforçam a estrutura dental.

Com o intuito de achar um substituto para dentes humanos em testes de adesão, Nakamichi et al.⁶⁹, em 1983, compararam a força adesiva em dentes bovinos, com dentes humanos, usando três cimentos de policarboxilato, um cimento de ionômero de vidro, um cimento de fosfato de zinco e duas resinas compostas na dentina profunda e superficial. O esmalte dos dentes humanos foi preparado lixando as superfícies vestibulares de incisivos centrais superiores e a superfície oclusal de primeiros molares superiores. As superfícies vestibulares de esmalte e dentina de dentes inferiores de bovinos foram preparadas da mesma forma com espessura de dentina residual de 0,2 - 0,9mm para a camada profunda e 1.4 - 2.1mm de espessura de dentina residual para a camada superficial. (medidas para humano e bovino, respectivamente). Os espécimes foram comparados para investigar a influência da profundidade e do tempo de armazenamento na adesão. Foram realizadas cavidades na face vestibular dos dentes, em seguida, a resina ou mistura de cimento foi inserida na cavidade, sem pressão com uma seringa, e um gancho foi inserido na superfície da resina para a prova de ruptura por tração. Os espécimes foram armazenados primeiro em estufa a 37° C por 10min. E então, em água a 37°C por uma semana até a realização do teste de tração. A morfologia do substrato de esmalte e dentina dos dentes, humano e bovino, foi analisada por MEV. Os autores concluíram que a adesão no esmalte e na dentina superficial não

mostrou nenhuma diferença estatisticamente significativa, entre os dentes humano e bovino, embora os valores médios sempre fossem ligeiramente menores para dentes bovinos; a adesão à dentina bovina diminuiu consideravelmente com a profundidade; os dentes que ficaram mais tempo estocados apresentaram valores de adesão ligeiramente mais altos; e que os dentes bovinos foram úteis no teste de adesão como substitutos para dentes humanos para testes no esmalte e camada superficial de dentina.

Em 1984, durante um simpósio sobre a importância do *smear layer* e observando suas características morfológicas, Pashley⁷² concluiu que tal camada ocupa uma posição estratégica na Odontologia Restauradora, sendo que ela se encontra na interface da maioria dos materiais com a matriz dentinária. Segundo o autor, a *smear layer* é uma camada muito fina e solúvel em ácido, não aparente em microscopia óptica comum, fator pelo qual muitas vezes foi negligenciada. Verificou que existem duas situações distintas em relação a esta estrutura, a ação prejudicial da manutenção da camada de *smear layer* no selamento marginal e seu benefício com relação à proteção do tecido pulpar com a presença de *smear plug* vedando os canalículos dentinários. A partir destes resultados o autor sugeriu que mais estudos fossem realizados para a manutenção de *smear plug* e remoção ou diminuição da camada de *smear layer* na superfície de adesão.

Saunders⁹⁷, em 1988, comparou a resistência adesiva de quatro sistemas adesivos à dentina humana e bovina. As superfícies de esmalte vestibular foram desgastadas e a dentina exposta. Os dentes foram incluídos em resina autopolimerizável e divididos em quatro grupos, que receberam os sistemas adesivos Scotchbond (3M Dental Products), Topaz (Davis), Gluma (Bayer Dental) e 3M Experimental sob orientações dos fabricantes. Após a aplicação do adesivo, os espécimes receberam a resina composta Prisma-Fil (Dentsply) e foram submetidos à termociclagem por 24h, em temperaturas de 5°C e 37°C, por 2.400 ciclos,

aproximadamente. O autor observou diferença significativa entre os sistemas adesivos em cada substrato, porém não observou diferença significativa entre os dois tipos de substrato. Concluiu que a dentina bovina pode ser considerada como substituta da dentina humana para estudos em laboratório.

Para estabelecer a correlação existente entre permeabilidade dentinária, profundidade da dentina e a resistência de materiais adesivos, Tagami et al.¹⁰³, em 1990, empregaram dentes bovinos e realizaram testes de resistência ao cisalhamento. A superfície vestibular dos dentes foi desgastada no terço cervical até a exposição da dentina, em várias profundidades. Foi realizada a simulação da pressão hidráulica pulpar e o fluxo do fluido dentinário, através da conexão de um aparelho na região radicular. Após a aplicação dos sistemas adesivos Scotchbond (3M Dental Products), Clearfil New Bond (Kuraray) e Superbond C&B (Sun Medical), as amostras foram submetidas ao teste de cisalhamento. Os autores observaram que à medida que a profundidade aumentava, principalmente após a remoção da *smear layer*, havia um aumento na permeabilidade e uma redução significativa da resistência adesiva para todos os materiais avaliados. Os maiores valores de resistência adesiva foram verificados com a utilização do Superbond C&B, em qualquer profundidade dentinária. Puderam os autores concluir que as variações na resistência adesiva, em função da permeabilidade dentinária, podem explicar a grande variação encontrada nos estudos de adesão à dentina.

Em 1991, Eick et al.²⁶, estudando a superfície dentinária e sua influência em adesão à dentina, propuseram três categorias de adesivos dentinários: na categoria I incluem-se adesivos com força de resistência ao cisalhamento com valores entre 5 e 7MPa; na categoria II incluem-se adesivos dentinários com forças de resistência ao cisalhamento com valores entre 8 e 14MPa; e na categoria III, incluem-se adesivos com força de resistência ao cisalhamento com valores até

20MPa. Na primeira parte deste estudo, os autores utilizaram MEV e microscopia eletrônica de transmissão (MET), através das fotomicrografias da *smear layer* e da interface de três adesivos da primeira geração: Scotchbond (3M Dental Products), Dentin Adhesit (Vivadent) e Gluma (MiJes Inc.). As fotomicrografias mostraram que o umedecimento e penetração dos adesivos dentinários de primeira geração nos túbulos, não eram adequados para produzir forças de união altas. Foram realizados testes de resistência ao cisalhamento e os fracassos aconteceram na interface ou no adesivo.

Nakabayashi et al.⁶⁴ em 1991, observaram a formação da chamada "camada híbrida" em dentina e esmalte em MEV, após a utilização de adesivos contendo 4-META em sua composição. A microscopia do esmalte revelou que o prévio tratamento com ácido fosfórico criou retenções mecânicas devido à dissolução do material interprismático, onde o adesivo penetra resultando em união mecânica. Os autores observaram uma penetração do adesivo ao redor dos prismas que os mantinham encapsulados. Uma análise química desta interface mostrou que os *tags* são formados puramente por resina e que em sua porção final há a presença de uma fina camada onde a resina impregnou o material aprismático, formando uma mistura de resina e esmalte. Eles denominaram esta zona de transição de "camada híbrida" em esmalte, muito resistente à dissolução com ácido clorídrico, e talvez, denotando uma certa resistência à cárie. Os autores estudaram também a ação do 4-META em dentina que, inicialmente, mostrou-se ineficaz pela desnaturação do colágeno dentinário com o uso do ácido fosfórico em esmalte e dentina. Resolveram realizar o condicionamento com a solução 10:3 (ácido cítrico a 10% e oxalato férrico a 3%), que resultou em um aumento de 200% na resistência de união. Houve uma formação de *tags* idêntica sendo usado o ácido fosfórico ou a solução 10:3. Com o uso da solução 10:3, observou-se a formação de uma camada intermediária formada por resina e dentina, denominada "camada híbrida". Os autores

concluíram que quando ocorre hibridização, a resistência de união aumenta significativamente em esmalte e dentina, além do que há a formação de um selamento da dentina e esmalte, prevenindo a hipersensibilidade e cárie secundária.

Kanca Jr. III⁴⁴, em 1992, avaliou o efeito da umidade dentinária pós condicionamento ácido, nas concentrações de 10 e 37% de ácido fosfórico, sobre a resistência adesiva. Sessenta dentes humanos foram lixados para exposição da dentina e divisão dos grupos. Os resultados mostraram que a dentina úmida exibiu valores significativamente maiores quanto à resistência adesiva do que a dentina seca. O autor sugere a realização de mais estudos para esclarecimentos dos mecanismos que levaram aos seus resultados.

Nakabayashi et al.⁶², em 1992, estudaram *in vivo* a adesão do 4-META/MMA/TBB e a influência do pré-tratamento da dentina íntegra e afetada por cárie com a solução 10:3 (ácido nítrico a 10% e cloreto férrico a 3%). Foram analisados três dentes, dos quais, um era cariado e dois íntegros. A solução 10:3 foi aplicada por 10s e 30s. Com base nos resultados, os autores concluíram que, uma pequena intensidade de desmineralização da dentina, desde que não remova quantidade excessiva de hidroxiapatita, irá resultar em aumento da estabilidade e durabilidade da união adesiva ao dente. Segundo os autores, a explicação se deve ao fato de que uma pequena diminuição da quantidade de mineral da dentina retém mais hidroxiapatita que, por sua vez, protege os peptídeos dentinários, incluindo o colágeno. O envolvimento e impregnação do colágeno e da hidroxiapatita pela resina 4-META/MMA/TBB cria uma camada que diminui a hidrólise dos peptídeos do colágeno com o passar do tempo, melhorando, desta forma, a durabilidade da união adesiva da resina à dentina.

Nakabayashi e Takarada⁶⁶, em 1992, investigaram a efetividade do tratamento da dentina com o HEMA (2-hidroxi etilmetacrilato) antes da aplicação de um adesivo resinoso com 5% de

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

Pashley et al.⁷⁴, em 1992, realizaram um estudo em que buscaram evidenciar a necessidade de se conceituar agentes condicionadores e *primers*, confusão geralmente feita pela tentativa de se reduzir os passos técnicos requeridos para a adesão, onde *primers* e condicionadores estão combinados em uma única solução. Os autores discutiram sobre as possíveis desvantagens causadas pelo condicionamento ácido, como o aumento da permeabilidade dentinária, da umidade superficial, do potencial de irritação pulpar, da desnaturação do colágeno e de uma discrepância entre profundidade de desmineralização e capacidade de penetração do agente adesivo. Assim, concluíram que seria vantajosa a combinação de agentes

condicionadores e *primers* na redução da concentração ácida e no tempo de aplicação, além da redução da microinfiltração.

Van Meerbeek et al.¹¹⁷ em 1992, publicaram uma revisão de literatura sobre os fatores que afetam a adesão aos tecidos mineralizados. Um dos fatores está relacionado a constituição peculiar do tecido dentinário, composto de 70% de hidroxiapatita, 18% de material orgânico e 12% de água, em peso. A dentina apresenta ainda muitos túbulos que aumentam de diâmetro e de número à medida que se aproximam da polpa. Na dentina superficial, 96% da área é ocupada pela dentina intertubular, 3% pela dentina peritubular e apenas 1% pelo fluido dentinário. Próximo à polpa, essa situação inverte-se, pois a dentina peritubular passa a ocupar 66% dessa área, a dentina intertubular 12% e 22% de fluido dentinário. Concluíram os autores que, frente à essa composição e estrutura peculiares, não seria possível uma união micromecânica nos mesmos padrões à encontrada para o esmalte.

A organização estrutural e as variações microestruturais da dentina refletem influências formativas, como tamanho e forma do dente e alterações causadas por idade, estímulos e doença. Porém, detalhes das relações de estrutura, composição química e propriedades da dentina estão limitados. Assim, Marshall Jr⁵⁴, em 1993, realizou um estudo para analisar a microestrutura da dentina. O autor relatou as variações estruturais e a dependência na preparação de espécime, tipo de dente, localização, condições de armazenamento e modificações químicas e físicas. Segundo o autor, estudos deveriam conduzir aos refinamentos principais em modelos de estrutura e propriedade da dentina, necessários para contínuo avanço das resinas compostas e dos adesivos dentais. São citadas as estratégias para a união dentinária tais como: união química à fase mineral, ao colágeno, ou precipitados com modificação química; uma variedade de união micromecânica por formação de *tags* nos túbulos ; modificação de áreas intertubulares por desmineralização parcial e formação de uma estrutura híbrida dentina-

polímero por impregnação e polimerização de monômeros na dentina parcialmente desmineralizada; e penetração na dentina modificada por laser. De acordo com o autor, a dentina pode ser considerada como um complexo hidratado, formado pela combinação de quatro elementos: túbulos cercados por uma área peritubular altamente mineralizada, embutida em matriz intertubular que consiste em grande parte de colágeno com cristais de apatita, além do fluido dentinário. Outras proteínas não colágenas estão presentes em quantidades menores e têm funções específicas. Estes componentes básicos são bem conhecidos, sua composição em volume é 50% de minerais, 30% de matriz orgânica (dos quais , 90%, são colágenos) e 20% de fluido. A permeabilidade da dentina é altamente variável e depende da localização no dente; é maior perto da polpa; existem irregularidades tubulares associadas com depósitos minerais, componentes orgânicos dos processos de odontoblastos, ou depósitos de colágeno intratubular. Estes fatores fazem com que o tamanho funcional do túbulo seja menor do que o tamanho aparente. Há fluxo externo dentinário que acontece por causa de uma pequena, mas positiva pressão pulpar, calculada em aproximadamente 10mmHg ou 15cmH₂O. A umidade da dentina e variabilidade em suas características de permeabilidade causa dificuldades significativas que foram dependentes da localização na dentina. A menos que o agente de união possa deslocar ou possa se misturar no fluido, em áreas onde a dentina é muito permeável, foi difícil alcançar uma união estável e duradoura. Para a realização de testes de resistência com a dentina, devemos considerar que ela estará afastada de seu ambiente natural; um período de seis meses após a extração é indicado, embora os efeitos do tempo parecem ser relativamente secundários; a substituição por dentina animal pode apresentar vantagens, mas sua estrutura pode diferir da humana; três soluções de armazenamento parecem ser as mais comuns: água em várias formas (destilada, deionizada, com ou sem agentes antibacterianos), solução salina e formalina; foi sugerido que o teste seja

realizado depois que o dente fosse seccionado 1,0mm acima da polpa ou 1,0mm abaixo da junção esmalte-dentina para controle das variáveis para a prova comparativa. O autor concluiu, com este trabalho, que detalhes na estrutura e composição da dentina são vitais para o sucesso dos sistemas de união.

Pashley et al.⁷⁸ em 1993 compararam a resistência ao cisalhamento de quatro sistemas adesivos dentinários em função da profundidade da dentina. Os autores realizaram um estudo *in vivo*, em dentes de cães, cujo dentina vestibular foi exposto por pontas diamantadas. Um micrômetro digital foi utilizado para controlar a exposição da dentina e padronizar sua espessura. Os sistemas adesivos testados removiam ou modificavam a *smear layer*, sendo eles: Clearfil Liner Bond System (Kuraray), Superbond C&B (Sun Medical Co.), Scotchbond 2 (3M Dental Products) e Tenure (Den-Mat). Uma matriz cilíndrica de 3X3mm foi utilizada para inserção de resinas compostas dos mesmos fabricantes dos sistemas adesivos. Os dentes foram extraídos e o teste de cisalhamento foi realizado. Os autores puderam observar, com a análise dos dados obtidos, que a resistência adesiva à dentina superficial foi maior do que a apresentada pela dentina profunda; os maiores valores de resistência (MPa) à dentina superficial, média e profunda, respectivamente, foram apresentados pelo Clearfil Liner Bond System (16,3; 14,7; 11,7), seguido pelo Superbond C&B (12,3; 11,2; 11,3) Scotchbond 2 (10,0; 7,3; 3,9) e Tenure (6,4; 6,2; 4,8).

Van Meerbeek et al.¹²¹, em 1993, examinaram ao MEV e MET a zona de interdifusão resina/dentina formada após a aplicação de um sistema adesivo que remove a *smear layer* e descalcifica a dentina superficial. Foram utilizados terceiros molares humanos extraídos, armazenados em solução aquosa contendo 5% de cloramina, por até quatro semanas. O esmalte da superfície oclusal foi desgastado até a exposição da dentina; foram obtidos discos de 1,0 a 1,5mm de espessura de dentina; as fatias de dentina foram lixadas com lixas de papel

granulação 600. O condicionamento foi realizado com ácido cítrico a 10% e cloreto de cálcio a 20% (10:20), aplicou-se o sistema adesivo Clearfil Liner Bond System (Kuraray) e resina composta de baixa viscosidade Clearfil Protect Liner (Kuraray). Para o processamento das amostras para o MEV, os discos de dentina foram seccionados perpendicularmente à interface de adesão com disco diamantado em baixa rotação embutidos em resina epóxica. Após 14h, os moldes de resina foram desgastados e polidos em politriz automática com lixas de papel e discos macios com pastas diamantadas de 3 e 1 μ m. Em seguida as interfaces foram condicionadas com uma corrente de íon argônio, por 30s, montadas em stubs de alumínio, metalizadas com ouro e observadas ao MEV. A MEV revelou uma camada de baixa resistência ao íon argônio denominada zona de interdifusão resina-dentina que mediu cerca de 2 μ m limitada à dentina intertubular e nenhuma interdifusão entre dentina-resina foi detectada na dentina peritubular. Uma abrupta transição da dentina peritubular para o *tag* resinoso pôde ser observada. Na abertura do túbulo, uma pequena zona triangular de dentina impregnada por resina foi criada na zona de interdifusão e os *tags* resinosos apresentavam-se afunilados. Esta análise promoveu informações bem definidas sobre a ultra-estrutura da zona de interdifusão, em que foram observadas três subcamadas: a) superior, desprovida de arranjo ultra-estrutural definido; b) intermediária com fibras colágenas paralelas à superfície de dentina e perpendiculares aos túbulos dentinários, e entremeadas por espaços e cristais de hidroxiapatita; c) base, limite entre a dentina desmineralizada e intacta, com cristais de apatita parcialmente desmineralizados, ácido resistentes, o que indica que foram envoltos por resina adesiva. Os autores concluíram que: MEV e MET foram eficientes em evidenciar a zona de interdifusão resina/dentina; a difusão dos monômeros resinosos no interior da dentina descalcificada diminuiu com a profundidade, envolvendo os cristais de hidroxiapatita até a subcamada de base; e que

o pré-tratamento da dentina com ácidos causou a desnaturação do colágeno.

Estudos prévios relatando a importância do grau de umidade dentinária para o sucesso do procedimento adesivo levaram Perdigão e Swift Junior⁸⁰ em 1994 a estudarem em MEV os efeitos de vários condicionadores ácidos na dentina humana, além de avaliarem a interface adesiva formada entre a dentina e cinco sistemas adesivos: All Bond 2, Amalgambond, Gluma 2000, Optibond e ScotchBond MultiPurpose. Para tanto, foram utilizados molares humanos livres de cárie que permaneceram congelados momentos antes do uso. Anteriormente ao procedimento adesivo, os dentes foram lavados e mantidos em água destilada por 24h, em temperatura ambiente. Cavidades classe V de 3X2X1,5mm foram confeccionadas nas superfícies vestibular e lingual de 25 dentes, sendo variada a umidade superficial em ressecada ou visivelmente úmida, conforme a face do dente (n=5 dentes; dez cavidades). A margem gengival dos preparos limitou-se à superfície radicular dos dentes. Após o procedimento adesivo, os dentes foram armazenados por 24h em temperatura ambiente. Secções longitudinais de aproximadamente 300µm de espessura foram realizadas por um micrótomo para a análise da interface de adesão. Estas secções foram submersas em ácido clorídrico 6N por 30s e em hipoclorito de sódio 1% por 12h, para parcial desproteinização e descalcificação das estruturas dentárias. Secções transversais de 25 dentes adicionais foram realizadas para o estudo da ação dos agentes condicionantes sobre a superfície dentinária. A *smear layer* obtida após o corte foi mantida intacta e foi tratada com ácido fosfórico dos diversos sistemas adesivos estudados (n=5). Em seguida, várias secções foram fraturadas para permitir a visualização lateral e oclusal. Os espécimes foram seqüencialmente fixados em glutaraldeído 2,5% em cacodilato de sódio (pH=7,2) por 2h. Após a lavagem com cacodilato de sódio 0,02M os espécimes foram pós-fixados em tetróxido de ósmio, desidratados em concentrações

ascendentes de álcool (25 a 100%) e secos em solução de hexametildisilazano (HMDS) por 15min. Os espécimes foram montados em stubs, dessecados em vácuo, metalizados com ouro-paládio e analisados em microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo (MEV-EC). O condicionamento ácido removeu a *smear layer*, abriu e alargou a entrada dos túbulos e desmineralizou a superfície dentinária, o efeito do ácido fosfórico a 10% visto na lateral dos túbulos revelou um formato afunilado e a desmineralização de dentina peritubular próxima à superfície. Fibras colágenas também foram evidenciadas na dentina desmineralizada. O Amalgamabond utiliza ácido cítrico a 10% e cloreto férrico a 3% (10:3) por 10s, sendo notada sua restrita ação desmineralizadora sobre a dentina. O condicionador do Gluma 2000 consiste de nitrato de alumínio 2,6% e 2,7% de glicina em água, deixou a superfície dentinária coberta com smear e não foi capaz de abrir a embocadura dos túbulos dentinários. All-Bond 2 e ScotchBond MultiPurpose formaram longos *tags* de aparência irregular e rugosa dentro dos túbulos dentinários. A camada híbrida obtida com este sistema adesivo na dentina úmida revelou-se ácido-resistente ao desafio químico. Em dentina ressecada a formação de camada híbrida não foi consistente e os *tags* resinosos eram de curta extensão. Da mesma forma, o Amalgamabond produziu interfaces adesivas com *tags* longos e camada híbrida ácido-resistente em dentina úmida; quando em dentina ressecada, notou-se a presença de *gaps* entre a dentina e a resina composta. O resultado mais desfavorável foi obtido para o Gluma 2000 em dentina úmida, onde alguns espécimes não resistiram ao processo de seccionamento em micrótomo. Quando aplicado à dentina seca, os espécimes resistiram melhor ao processo de seccionamento, mas na análise ao MEV foram observados *gaps* entre resina e dentina em vários espécimes. Assim, com exceção do Gluma 2000, todos os sistemas adesivos agiram de forma mais eficaz em dentina úmida. Este comportamento, possivelmente, deve-se à presença de HEMA, monômero

altamente hidrofílico, que necessita de água para a substituição pelos monômeros nos espaços perifibrilares, formando a união micromecânica. Os autores sugeriram a realização de estudos posteriores com MET para avaliar as diferenças nas profundidades de desmineralização ácida e de penetração resinosa dentro da dentina condicionada.

Para avaliar a resistência ao cisalhamento de sistemas adesivos a diferentes substratos dentinários, Perdigão et al.⁸¹, em 1994, utilizaram o All-bond 2 (Bisco), o Amalgambond Plus (Parkell), o Prisma Universal Bond 3 (Caulk/Dentsply) e o Scotchbond Multi-Purpose (3M) em dentina normal, hipermineralizada e desmineralizada, simulando dentina hígida, esclerótica e cariada, respectivamente. Para tanto, 120 molares humanos, livres de cáries foram selecionados, desgastados com lixas 240, 400 e 600 até a exposição de dentina, a qual foi condicionada com ácido fosfórico por 5s para remoção da *smear layer* obtida com o desgaste. Posteriormente, o primeiro grupo foi imerso em solução mineralizante, contendo 1,5mM de cálcio, 0,9mM de fosfato e 0,15M de cloreto de potássio, por 14 dias, em trocas diárias. O segundo grupo foi imerso em solução desmineralizante, contendo 0,1mol/L de ácido acético, que remove mineral, mas não dissolve o colágeno, por sete dias. Os demais dentes, pertencentes ao terceiro grupo, foram imersos em água destilada. Depois de completado o período de armazenamento, procedeu-se à obtenção padronizada da camada de *smear layer*, aplicação do sistema adesivo, resina composta e testes laboratoriais de resistência ao cisalhamento e exame da interface em MEV. Para todos os sistemas adesivos, a média de resistência em dentina normal foi significativamente maior em relação aos outros substratos. A resistência em dentina hipermineralizada foi significativamente maior do que a desmineralizada para todos os sistemas, com exceção do Prisma Universal Bond 3. A avaliação morfológica possibilitou concluir que a dentina hipermineralizada, pela alta concentração mineral da dentina peri e intertubular, não permite um condicionamento ideal para que haja uma

penetração efetiva dos sistemas adesivos, afetando significativamente a adesão, sendo sugerido, portanto que se confeccione, nestes casos, retenções adicionais.

Sano et al.⁹⁵, em 1994, realizaram um trabalho com o objetivo de estudar as propriedades elásticas da dentina humana e bovina, mineralizada e desmineralizada, e testar a hipótese de que a matriz de dentina desmineralizada (colágeno), tem pouca contribuição na resistência à tração da dentina mineralizada. Empregaram fatias pequenas de dentina bovina e humana (0,5mm de espessura) obtidas na porção média da dentina dos dentes coletados. Os espécimes foram imersos em 0,5M de EDTA (pH 7,4) em um banho ativado magneticamente por quatro dias, seguido da lavagem com água. As amostras foram testadas, ainda úmidas, em um dispositivo de microtração Bencor Multi-T modificado. Os dados coletados foram submetidos aos testes Barlett (homogeneidade de discrepância), teste de análise de variância e comparações múltiplas pelo teste de Duncan. A dentina coronária humana mineralizada apresentou uma média de resistência a tração (UTS) de 104MPa; a dentina coronária de incisivos bovinos exibiu UTS de 91MPa e a radicular fraturou a 129MPa. Os módulos de elasticidade de dentina humana e bovina mineralizada variaram de 13 a 15MPa. Quando as amostras de dentina bovina e humana foram desmineralizadas em EDTA a UTS e módulo de elasticidade caíram a 26-32MPa e 0,25 a 0,26GPa, respectivamente, aproximadamente um quinquagésimo dos valores encontrados para dentina mineralizada. Com base nestes resultados, os autores concluíram que o colágeno contribui em 30% da UTS da dentina mineralizada e que a hipótese de que o colágeno tem pouca contribuição na máxima resistência à tração de dentina deve ser rejeitada.

Van Meerbeek et al.¹¹⁶, em 1994, avaliaram retroativamente a efetividade clínica de dez sistemas adesivos: Scotchbond (3M); Gluma (Bayer); Clearfil Liner Bond (Kuraray);

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

Grande parte dos estudos laboratoriais sobre sistemas adesivos utiliza dentes hígidos. No entanto, a condição clínica de exposição da superfície dentinária ao meio bucal desencadeia diferenças na composição e na morfologia destas superfícies e, sobretudo revela um substrato de maior dificuldade na adesão. Nesse sentido Van Meerbeek et al.¹¹⁸ em 1994, objetivaram neste estudo caracterizar a morfologia da interface adesiva em dentina cervical normal e esclerótica. Para tanto, foram utilizados dez dentes humanos, incisivos, caninos e pré-molares, com lesão não-cariosa cervical sobre os quais foi aplicado o sistema adesivo Clearfil Liner Bond (Kuraray). Após a secção das interfaces,

realizaram um condicionamento com corrente de íon-argônio antes da análise em MEV, sendo revelada uma camada híbrida de menor extensão e poucos *tags* (por vezes ausentes) em dentina esclerótica. Estas observações foram associadas às obliterações tubulares devido à aposição de dentina peritubular e deposição irregular de minerais dentro dos túbulos, formando trajetos tubulares escleróticos. Segundo os autores, torna-se aceitável predizer um resultado menos efetivo em dentina esclerótica comparada à normal, considerando que a principal estratégia de adesão envolve o entrelaçamento micromecânico entre usados para obter a resistência de união, com cinco espécimes em cada subgrupo que variou a concentração de Phenyl-P (0 a 40%) em 30% de HEMA. Os espécimes do Grupo II foram destinados à MET, subdivididos em a) três espécimes de dentina fraturada e, b) dentina coberta com *smear layer* em duas situações distintas; c) superfície com *smear* delicado obtido com lixa abrasiva de granulação 180; d) superfície com *smear* espesso obtido com lixas de granulação 180, 400 e 600, por 10s cada uma, sob refrigeração com água. Os autores observaram que a solução desmineralizou a *smear layer* e a camada superficial de dentina, criando uma camada híbrida com a *smear layer* original. Os resultados de resistência adesiva foram expressos em MPa, as médias e desvio-padrão foram submetidos à análise de variância, seguido de comparações múltiplas usando os testes Student e Newman-Keuls ($p < 0,05$). Para o grupo submetido ao MET os autores observaram que os espécimes de dentina fraturada revelaram ausência de *smear layer*. Quando este espécime recebeu o tratamento com 20% de Phenyl-P em 30% de HEMA por 1 min antes da aplicação da resina de união, esta penetrou por 4-51Jm na dentina fraturada. Os autores concluíram que este sistema apresenta vantagens sobre os convencionais, pois não desmineraliza excessivamente a dentina, evita a criação de uma zona de fragilidade, com a diferença entre a desmineralização pelo ácido e a penetração do adesivo, mantendo baixa permeabilidade com a manutenção do *smear*

plug, sendo um sistema de um único passo de condicionador e *primer*, evitando o colapso do colágeno devido à remoção dos minerais e secagem após o condicionamento ácido que pode ocorrer em outros sistemas.

Watanabe et al.¹²³, em 1994, realizaram um estudo no qual grandes concentrações de Phenil-P (20%) foram usadas, associadas a 30% de hidróxi etil metacrilato (HEMA) e empregadas sobre a dentina bovina fraturada, coberta por *smear layer*. Os resultados demonstraram que esta solução desmineralizou a *smear layer* e a camada superficial de dentina, criando uma camada híbrida que contém a *smear layer* original. Os autores concluíram que este sistema apresentou vantagens por não desmineralizar excessivamente a dentina, evitando a criação da zona de fragilidade pela discrepância entre desmineralização ácida e penetração do adesivo, além de manter baixa a permeabilidade e constituir-se de um único passo de condicionamento e *primer*, garantindo de forma mais efetiva o não-colapso do colágeno frente à remoção dos minerais e secagem pós-condicionamento ácido. A permeabilidade manteve-se baixa pela preservação dos *smear plugs*.

Nakajima et al.⁶⁷, em 1995 julgando ser a adesão à dentina afetada por cárie, ainda, um assunto não esclarecido, realizaram um estudo com o objetivo de testar a hipótese de que a adesão à dentina afetada por cárie é inferior àquela conseguida para dentina normal e que a qualidade da camada híbrida desempenha papel principal numa boa adesão. Foram utilizados 47 terceiros molares humanos com lesões de cárie na superfície oclusal da coroa, os quais foram armazenados em solução salina a 4°C. A superfície oclusal dos dentes foi desgastada com lixa d'água de granulação 320 sob refrigeração, para expor e aplainar a lesão de cárie. Para obter dentina afetada por cárie, foi realizado o desgaste usando o critério combinado de exame visual, dureza da superfície e solução detectora de cárie (CDS, Kuraray, Japão). Usando estes procedimentos, foi removido o tecido amolecido e a dentina cariada

corada, ficando de um lado do dente dentina afetada por cárie e do outro, dentina normal. Em seguida, a dentina foi polida com lixa d'água de granulação 600 e cada dente foi aleatoriamente designado para um dos 3 sistemas adesivos testados: G1: All Bond 2 (Bisco Inc, Itália); G2: Scotchbond Multi-Purpose (3M Dental Products, St. Paul); G3: Clearfil Liner Bond II System (Kuraray Co, Ltda, Japão). G1: sendo a dentina mantida úmida após o condicionamento ácido; G2: usando dentina seca seguindo indicação do fabricante e G3: não houve lavagem com água após condicionamento da dentina com o *primer* autocondicionante. Em G1, G2 e G3, o adesivo foi fotopolimerizado de acordo com as instruções do fabricante, em seguida foi feita a restauração em resina composta inserida incrementalmente em quatro camadas com Silux Plus (3M Dental Products, St. Paul) com 3 a 5mm de altura. Cada incremento foi polimerizado por 20s. As amostras foram armazenadas em água a 37°C por 24h. De cada dente foram obtidas de 4 a 6 fatias verticais perpendiculares à superfície aderida, de aproximadamente 1mm de espessura das duas porções: normal e com cárie. Estas fatias foram cortadas e desgastadas por meio de uma broca diamantada super fina (c-16ff, GC Ltda, Japão). As amostras foram fixadas em um dispositivo Bencor-Multi-T (Danirle Engineering Co, Danirle) por meio de adesivo cianoacrilato (Zapit, DVA, Anaheim). Em seguida foram levadas a máquina universal (AG 500B, Shimadzu, Japão) para teste de microresistência adesiva com velocidade de 1mm/min. Após o teste, as interfaces adesivas foram polidas, preparadas e avaliadas em MEV (JXA-840, JEOL, Tóquio, Japão) para observar a qualidade da camada híbrida. Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA). A adesão à dentina normal com All Bond 2 ($26,9 \pm 8,8\text{MPa}$) ou Clearfil Liner Bond II ($29,5 \pm 10,9\text{MPa}$) foi maior do que a obtida em dentina afetada por cárie ($13,0 \pm 3,6\text{MPa}$ e $14,0 \pm 4,3\text{MPa}$) respectivamente. As resistências adesivas obtidas com Scotchbond Multi-Purpose foram similares em dentina normal e afetada por cárie ($20,3 \pm 5,5\text{MPa}$ e $18,5 \pm 4,0\text{MPa}$).

respectivamente. Os autores concluíram que a resistência adesiva à dentina depende tanto do sistema adesivo usado como do tipo de dentina. e que a qualidade da camada híbrida pode nem sempre contribuir significativamente para a resistência adesiva.

Pashley et al.⁷⁵, em 1995, realizaram um estudo na busca pelo estabelecimento de melhores condições para os testes *in vitro*, a fim de fornecerem resultados mais precisos e padronizados. Os autores discutiram inúmeras variáveis, tais como: o substrato para a adesão, a estocagem dos espécimes, a técnica de uso do *primer*, condicionamento e adesivo, a pressão do fluido pulpar simulado, os métodos de teste (cisalhamento, tração e microtensão), o modo de fratura e a estabilidade da adesão. Os autores acreditam que os trabalhos recentes refletem o desenvolvimento dos atuais sistemas adesivos, que apresentam resultados de resistência adesiva à dentina da ordem de 20-30MPa, quase sempre com fratura coesiva do substrato. Concluíram, porém, que esses resultados não refletem a realidade, já que a resistência da dentina é três vezes maior que esses valores, além do que o que realmente interessa é a resistência da interface de adesão. Logo, propuseram a mudança do método de teste de cisalhamento para a microtensão, que oferece maiores vantagens e fidelidade dos resultados, apesar da dificuldade técnica e aparelhagem especializada sofisticada.

A secagem ao ponto crítico (Critical-Point Drying- CPD) é um passo considerado fundamental na preparação de espécimes biológicos a serem avaliados em MEV já que a preservação da malha de colágeno após o condicionamento ácido contribui para o estudo do mecanismo de interação entre dentina e resina. Várias tentativas têm sido realizadas com o intuito de apresentar técnicas alternativas para a secagem. Para tanto, Perdigão et al.⁸² em 1995, realizaram um estudo para avaliar três diferentes técnicas alternativas a CPD: secagem com hexametildisilazano (HMDS), secagem com Peldri II e secagem ao ar ambiente. Utilizaram 24 discos dentinários de molares humanos hígidos,

obtidos em cortes da região mediana da coroa, paralelos ao plano oclusal. A base dos discos foi recoberta por duas camadas de verniz e foi realizada sobre ela uma ranhura transversal para otimizar a fratura após a preparação do espécime. Na superfície tratada foi realizada a *smear layer* com lixa de silicone 600grit por 60s. Estas superfícies foram então condicionadas com ácido fosfórico a 10% semigel, silica-free por 15s, lavadas com jato de água por 10s e secas com jato de ar por 2s. Em seguida, os espécimes foram imediatamente fixados em glutaraldeído a 2,5% em solução tampão cacodilato a 0,1 M (pH 7,4 em 4°C por 12h), lavados em três banhos de solução cacodilato por 1h seguido de banho com água destilada por 1min. Foram então desidratados em soluções ascendentes de álcool (25% por 20min, 50% por 20min, 75% por 20min, 95% por 30min e 100% por 60min) e finalmente divididos em quatro grupos (n=6) conforme o modo de secagem. Os espécimes foram avaliados em dois planos: longitudinal e transversal, aos túbulos dentinários, por meio de um MEV-EC. A técnica mais eficiente em preservar detalhes foi a que utilizou HMDS. Observou-se que a dentina intertubular desmineralizada, vista em seu perfil, obteve uma composição de três camadas distintas: uma primeira camada de colágeno desnaturado e de resíduos de *smear layer*, com fibrilas colágenas seccionadas, além da presença de alguns poros; a segunda, composta de feixes de fibras; e a terceira e mais profunda camada foi composta de espaços vazios, cristais de hidroxiapatita difusos e fibras colágenas escassas. O método de secagem com HMDS foi o mais eficiente na secagem por preservar a malha de colágeno e a microporosidade da superfície de dentina desmineralizada. Além disso, este método é simples e rápido de se realizar. A CPD também reserva certo grau de eficiência na manutenção da estrutura estudada, no entanto, apresenta como principais desvantagens o custo de aquisição e manutenção do equipamento, além do tempo necessário para realização (cerca de 1,5h), sob supervisão. O método Peldri II assemelha-se ao resultado obtido com a CPD, com a

vantagem de requerer cerca de 30min de monitoramento, embora todo seu processo dure de 3,5h a 12h. A secagem ao ar ambiente causou alguns artefatos, como o colapso superficial e espessamento da camada de colágeno desnaturada, sendo descartada como metodologia de secagem de amostras para MEV.

Após a desmineralização da dentina o colágeno perde seu suporte mineral que é substituído pela água proveniente do passo clínico de lavagem do ácido condicionante. Em seguida, a secagem deve ser cuidadosa para que não ocorra total evaporação desta água, colapsando, desta forma, a rede de colágeno. Se isto ocorrer, o espaço interfibrilar diminui, dificulta a penetração de monômeros resinosos e, conseqüentemente, forma uma camada híbrida de baixa qualidade. A importância deste passo clínico levou Carvalho et al.¹⁴, em 1996 a pesquisarem a habilidade do HEMA em evitar a contração dentinária e em reexpandir o colágeno colapsado durante a secagem da dentina. Para tanto, quarenta discos dentinários (0,7 x 0,7 x 5,0mm) provenientes de terceiros molares humanos foram desmineralizados em solução 10:3 por 8h, padronizando-se a quantidade de colágeno desmineralizado a ser estudado, e foram, então, divididos em quatro grupos (n=10). Os grupos A e B foram destinados para o tratamento com água e 50% de HEMA e 100% de HEMA após o ressecamento da dentina. Os grupos C e D destinaram-se para o estudo da ação de 100% de HEMA e de 100% de etileno glicol antes da exposição ao ar por 24h, para secagem dentinária. Os resultados revelaram uma ação eficiente destas duas últimas substâncias em prevenir o colapso do colágeno durante a secagem da dentina. O ressecamento dos espécimes gerou uma contração volumétrica da ordem de 65,6%. Nos grupos A e S, tanto HEMA a 50% quanto HEMA a 100% não foram capazes de reexpandir totalmente o colágeno. HEMA a 50% restituiu 50% do volume inicial enquanto HEMA a 100% não foi capaz de reexpandi-lo. Somente a imersão em água por 24h foi eficaz na reexpansão total de colágeno. Segundo os autores, este

estudo providenciou informações importantes sobre a contração máxima dentinária durante a técnica adesiva.

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

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

Camps et al.¹³, em 1996, avaliaram a microinfiltração de dois adesivos dentinários. Foram utilizados terceiros molares recém-extraídos (usados no máximo 2h após extração), criopreservados (em nitrogênio líquido à -180°C) ou armazenados em solução de cloramina 0,5%, à 4°C. Foram realizados preparos classe V nas faces vestibular e lingual dos dentes, que em seguida foram restaurados com Scotchbond Multi-Use Plus e Z100 (3M Dental Products) ou com Gluma 2000 e Pekafile (Bayer Dental). Após a termociclagem, os corpos-de-prova foram corados com nitrato de prata e avaliados em microscópio óptico. Para a avaliação do padrão de infiltração os dentes foram submetidos à MEV. Com a análise estatística os autores observaram que: a criopreservação por 13 semanas ou o armazenamento em refrigerador por 12 dias, não promoveram diferenças significantes no padrão de infiltração e que não houve influência do tempo de estocagem na microinfiltração.

Ferrari e Davidson²⁹, em 1996, avaliaram a formação da camada híbrida, de *tags* e extensões laterais de resina, com o uso de dois diferentes sistemas de adesão ao esmalte e à dentina, Scotchbond Multipurpose (3M Dental Products) e Clearfil Liner Bond 2 (Kuraray) combinados com as resinas restauradoras correspondentes. As amostras *in vivo* foram realizadas em cinquenta pacientes voluntários, que possuíam um ou dois dentes posteriores vitalizados, comprometidos por doença periodontal e com indicação para extração. Grupo I: dez dentes foram selecionados para o estudo da formação da camada híbrida *in vivo* em fatias, de dentina vestibular obtidas com disco diamantado, sobre refrigeração. Cada sistema adesivo foi testado em cinco amostras. Os

dentes foram extraídos imediatamente e armazenados por 1 a 2 semanas em solução aquosa com 0,5% de cloramine. Grupo II: os demais oito dentes foram usados para avaliar a presença da interconexão dos túbulos dentinários. Cavidades Classe II foram confeccionadas, receberam os sistemas adesivos e correspondentes resina compostas, pela técnica incremental, e extraídos imediatamente, colocados em uma solução de ácido hidrocloreídrico a 37% por dois dias, em seguida foram imersos em solução de hipoclorito de sódio a 5% por 2h. As amostras foram montadas em stubs de alumínio, metalizadas com ouro e observadas ao MEV. Os espécimes do Grupo I foram observados para detectar a presença e espessura da camada híbrida. Os espécimes tratados com Scotchbond Multipurpose exibiram uma zona de interdifusão resina-dentina de $4,2 \pm 1,7\mu\text{m}$ e os tratados com Clearfil Liner Bond 2 revelaram uma camada entre dentina e resina de $1,65 \pm 0,9\mu\text{m}$. As amostras do Grupo II apresentaram a formação de *tag* com prolongamentos laterais para os dois tipos de sistemas adesivos. Alguns prolongamentos laterais tinham conexão com a dentina intertubular. Segundo os autores, a formação de camada híbrida e de *tags* de resina com prolongamentos laterais para os dois sistemas adesivos testados, pode aumentar a resistência de união e que sistemas autocondicionantes podem simplificar a rotina nas restaurações adesivas estéticas.

Perdigão et al.⁸³ em 1996, investigaram a interação de seis sistemas adesivos experimentais e comerciais (One-Step, Clearfil Liner Bond 2, Optibond, Permagen com ácido fosfórico a 10%, Permagen com ácido fosfórico a 35% e Prime & Bond) em dentina *in vivo*. Foram utilizados pré-molares indicados para extração ortodôntica, nos quais foram realizados preparos classe I, restaurados com resina composta auto ou fotopolimerizável. Após 5min da polimerização resinosa, os dentes foram extraídos e fixados em glutaraldeído a 2,5% em uma solução 0,1 M de cacodilato de sódio tamponado, pH 7,4, por 12 h a 4°C. Posteriormente à fixação, os espécimes foram lavados com 20mL de

solução de cacodilato de sódio tamponada por 1h com três trocas seguidas de lavagem com água destilada por 1min. Em seguida, os espécimes foram desidratados em concentrações ascendentes de etanol (25% por 20min, 50% por 20min, 75% por 20min, 95% por 30min e 100% por 60min), secos em solução de hexametildisilazano (HMDS) por 10min, colocados sobre um funil de vidro contendo um filtro de papel, secos em temperatura ambiente, seccionados e processados para exame em MEVEC. Embora alguns sistemas tenham produzido interfaces intactas (*gapfree*) em espécimes específicos, todos eles mostraram uma desadaptação entre a camada híbrida e a resina fluida colocada sobre ela. Estas imagens revelaram uma penetração deficiente na região desmineralizada da dentina tratada com Mirage Bond. Observou-se que a presença de bolhas de ar e/ou camadas espessas da resina fluida polimerizada resultaram em áreas de separação da interface dentina-resina menos freqüentes, associando este fato ao conceito de camada adesiva elástica. Os autores sugeriram a realização de mais estudos ultramorfológicos para desvendar o que ocorre nas áreas de fendas entre substrato dentinário e entre as variadas possibilidades químicas contidas nos sistemas adesivos.

Tay et al.¹⁰⁴ em 1996, avaliaram o efeito da hidratação excessiva da superfície dentinária, condicionada por ácido previamente à aplicação de um adesivo à base de acetona. Discos de dentina foram obtidos de molares humanos e divididos em grupos, conforme a hidratação superficial após o condicionamento ácido: a) dentina seca com jato de ar por três segundos; b) dentina visivelmente úmida; c) dentina excessivamente úmida pela adição de 40ml de água destilada previamente à aplicação do adesivo. Embora a camada híbrida tenha sido observada em todos os grupos, foram detectadas falhas seqüenciais ao longo da interface adesiva, além da perda de um efetivo selamento tubular, conforme o aumento da umidade superficial. No grupo 1 foram observados entre curtos *tags* de resina, glóbulos de resina intratubular.

Pequenas bolhas incluídas dentro da camada de resina, adjacentes à camada híbrida, foram encontradas no grupo 2, aumentando em número e tamanho no grupo 3. Tais defeitos podem explicar a redução na resistência adesiva na presença de umidade associada com adesivos baseados em acetona. Os túbulos incompletamente selados, com a presença de bolhas, poderiam ser a explicação para o fenômeno de sensibilidade pós-operatória reportados, em especial, para este tipo de sistema adesivo, já que estes espaços representariam uma via para a movimentação hidrodinâmica de fluidos.

Tonami et al.¹¹³, em 1996, realizaram um estudo para avaliar os efeitos das condições de estocagem na resistência ao cisalhamento da dentina bovina. Foram utilizados 60 incisivos recém extraídos divididos em quatro grupos: a) controle - 0h após a extração; b) armazenamento em freezer por uma semana; c) armazenamento em freezer por quatro semanas; d) 45min em água fervente. Foi utilizada uma máquina Instron para a realização do teste de resistência ao cisalhamento e os resultados foram expressos em MPa. Não foi verificada diferença significativa entre os grupos controle, uma e quatro semanas em freezer (77; 78 e 79MPa). Para o grupo submetido à água fervente, houve uma diminuição na resistência adesiva (70MPa). O autor concluiu que o armazenamento em freezer pode ser indicado para manter a integridade do tecido dentinário bovino, para a realização de testes *in vitro*.

Yoshiyama et al.¹²⁹, em 1996 avaliou a resistência adesiva regional de três sistemas adesivos em defeitos cervicais naturais ou criados artificialmente. Os sistemas utilizados foram: All Bond 2 (Bisco), Clearfil Liner Bond 2 (Kuraray) e Scotchbond Multi-Purpose-Plus (3M). Como controle foram considerados dentes hígidos sobre os quais foram preparadas, com instrumento cortante rotatório, cavidades com o formato de defeitos cervicais. O teste de microtração foi aplicado nas margens oclusais e gengivais das lesões, não apresentando diferença estatística entre as regiões embora, especialmente as lesões naturais tenham

apresentado valores médios inferiores (20% a 40%) em relação às lesões escleróticas artificiais. A camada híbrida foi mais espessa na gengival do que na oclusal, sendo muito delgada para o Clearfil (0,5µm em lesões naturalmente escleróticas e 1µm em lesões artificiais). O exame em MEV revelou que o Clearfil Liner Bond 2 criou camadas híbridas de menores espessuras, as quais foram muito difíceis de mensurar em lesões escleróticas naturais. Os autores concluíram que embora o desempenho destes adesivos tenha sido inferior em dentina esclerótica, os valores absolutos (16 a 17MPa) foram superiores aos sistemas utilizados previamente.

Tay et al.¹⁰⁵, em 1998, avaliaram a micromorfologia da dentina condicionada seguido da aplicação de um sistema adesivo baseado em água. Para isso, vinte e oito discos de dentina de 1mm de espessura foram condicionados com ácido maléico a 10% por 15s. Destes, 24 discos foram aleatoriamente divididos em quatro grupos, variando-se a umidade superficial após o condicionamento ácido: a) grupo I - 30s de secagem; b) grupo II - 3s de secagem; c) grupo III - umidade visível; d) grupo IV - demasiadamente úmido. Em seguida, o sistema adesivo utilizado foi o Scotchbond Multi-Purpose. Os quatro discos restantes foram testados com um *primer* experimental contendo 35% de volume de HEMA (grupo V). Posteriormente, pares de lâminas obtidos dos discos de dentina foram preparados para o exame em MET. Em todos os grupos foi verificada a presença do copolímero do ácido polialcenóico, componente do *primer*, na região da camada híbrida. A subsuperfície desta camada, no entanto, mostrou-se variável. No primeiro grupo foi detectado o colapso das fibras colágenas. Nos grupos II e III, observou-se uma região elétron-densa nos espaços interfibrilares. Já no grupo IV, detectou-se a diluição dos componentes do *primer*, representada pela observação de difusão gradiente. Além disso, também foram invariavelmente observados glóbulos elétron-lúcidos no interior da fase elétron-densa do *primer*, independente da hidratação conferida ao grupo.

Esta fase elétron-densa foi ausente no grupo no qual o HEMA foi utilizado sozinho como *primer*, revelando sua ação de reversibilidade da expansão de colágeno mesmo após seu colapso causado por uma secagem excessiva. Os autores concluíram que com o uso dos adesivos à base de água, uma breve secagem da dentina condicionada com ácido permite que a água do *primer* hidrate novamente a matriz de colágeno colapsado, sem o risco da incompleta hibridização ou selamento tubular ao longo da interface resina-dentina, entretanto é necessário treinamento para minimizar a diluição do componente solúvel em água do *primer*.

Para examinar o efeito de vários métodos de estocagem na resistência ao cisalhamento de resina composta à dentina bovina, Titley et al.¹¹⁰, em 1998, realizaram um trabalho onde foram usados dentes frescos divididos em grupos de dez e armazenados por dois meses seguindo os seguintes métodos testados: água destilada; formalina tamponada; hipoclorito de sódio; cloramina T; homofix; timol, metanol, irradiação, glutaraldeído, congelamento em água destilada. Dentes frescos foram usados como controle. Terminado o período de estocagem, os dentes foram embutidos em resina acrílica, em um molde de 2,5 X 2,0mm, mantidos em água por 2h até a aplicação de resina. Os dentes foram preparados pelo desgaste do esmalte e expondo-se a dentina com lixa de granulação 600. A camada superficial de dentina foi empregada no teste. A dentina foi condicionada com ácido maléico a 10% por 15s e lavada com água destilada por 60s. Após a aplicação do sistema adesivo Scolchbond Multi-Purpose os dentes receberam a resina composta Z100 com auxílio de um cilindro. Foram realizados os testes de resistência ao cisalhamento. Os resultados mostraram que: sete dos onze métodos tiveram resultados semelhantes em resistência adesiva e falha de adesão; irradiação ou estocagem em timol, metanol e glutaraldeído exibiram resistência adesiva significativamente menor e falha de adesão atípica, indicando que estes devam ser os últimos métodos usados em armazenamento de dentes para estudos deste tipo. Os autores

concluíram que: um número insuficiente de dentes frescos está disponível para estudos de resistência e congelamento é o método preferido de armazenamento para o registro de resistências altas; são necessárias investigações adicionais para examinar que tipos de alterações acontecem na dentina após a extração, se estas alterações são modificadas por condições de armazenamento e se tem efeito significativo na união de resinas compostas.

Em 1999, Araújo et al⁵., compararam o efeito de diferentes meios de armazenamento de dentes humanos recém-extraídos e de bovinos na infiltração marginal de restaurações de resina composta. Foram selecionados trinta dentes terceiros molares humanos extraídos hígidos e vinte dentes bovinos, divididos em oito grupos e armazenados nas seguintes condições: Grupo I - dentes humanos em freezer até vinte dias; Grupo II - dentes humanos em formol a 10% em geladeira; Grupo III - dentes humanos em azida sódica 0,02% em geladeira; Grupo IV - dentes humanos em soro fisiológico em geladeira; Grupo V - dentes humanos em água destilada à temperatura ambiente; Grupo VI - dentes humanos deixados secos durante dois meses e re-hidratados uma semana em água comum à temperatura ambiente; Grupo VII - dente bovino em freezer por um ano; Grupo VIII - dente bovino em freezer por vinte dias. Foram realizados preparos Classe V em esmalte nas faces vestibular e lingual de cada dente humano e na face vestibular do dente bovino com a ponta diamantada 1092 (KG Sorensen), num total de oitenta preparos. Os preparos foram restaurados com o sistema Single Bond e a resina composta Z100 (3M). Os dentes foram submetidos à termociclagem de 300 ciclos entre $\pm 5^{\circ}\text{C}$ e 55°C . O corante utilizado foi a Rodamina B- 0,2% e o grau de infiltração marginal foi analisado em Lupa Estereoscópica utilizando escores de 0 a 4. Foi aplicada a análise estatística de Kruskal-Wallis. Concluíram que dentes bovinos armazenados em freezer por vinte dias mostraram o menor grau de infiltração marginal; dentes humanos armazenados em água destilada e

dentes secos re-hidratados induziram o maior grau; os demais meios de armazenamento mostraram desempenho intermediário.

Carvalho et al.¹⁷, em 1999 realizaram um estudo da resistência à tração em função da orientação (perpendicular e paralela à orientação dos túbulos) e densidade dos túbulos dentinários. Foram utilizados trinta molares humanos seccionados em fatias de 0,7mm e área de corte de 0,5mm², oclusal e proximal. O efeito da densidade dos túbulos foi verificado por variação em dentina superficial, média e profunda. Após o teste, a área fraturada foi analisada ao MEV para calcular a densidade tubular. A resistência adesiva à microtração foi analisada usando teste T e regressão linear. Os autores observaram que houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre as amostras testadas com túbulos paralelos ($n=20$, $57,6 \pm 11,0$) e corte perpendicular ($n=20$, $80,0 \pm 13,6$). A regressão linear mostrou não existir correlação significativa entre resistência à tração e densidade tubular. Segundo os autores os resultados sugerem que a resistência à tração da dentina depende da direção da força aplicada, mas não da densidade dos túbulos (profundidade) na área de fratura.

Ainda em 1999, Carvalho et al.¹⁸ revisaram os fatores que influenciam a difusão de resina através da matriz de dentina desmineralizada, discutindo aspectos como umidade superficial e presença da camada de smear, porosidades dentro da camada híbrida e as conseqüências de uma pobre infiltração resinosa. Dentre as principais conclusões, foi destacado que a formação de uma *smear layer* de colágeno após o condicionamento ácido e a secagem com ar podem ser fatores limitantes à infiltração de resina na dentina, acarretando a formação de uma camada híbrida não-uniforme e, conseqüentemente, uma adesão à dentina não homogênea sendo, portanto, desfavorável. Esta infiltração deficiente foi considerada responsável pela ocorrência da nanoinfiltração em margens seladas ou *gapfree*, sendo que a relevância

clínica deste fenômeno na durabilidade da adesão e do selamento ainda não está totalmente elucidada.

Em 1999, Griffiths et al.³⁸ avaliaram a influência das propriedades e da aplicação de *primers* e adesivos na morfologia e micropermeabilidade da camada adesiva, utilizando-se uma técnica de microscopia confocal. Para isso, os autores utilizaram sistemas adesivos experimentais e comerciais que foram aplicados em preparos cavitários proximais. Corantes fluorescentes (Rodamina B e Lucifer Yellow) foram adicionados aos componentes dos adesivos (Optibond, Clearfil Liner Bond 2 e Pertac Universal Bond) para análise da interface adesiva, ou aplicados na câmara pulpar por 3h (Rodamina B; 0,5 g em 50 ml) para que se avaliasse a micropermeabilidade. Os dentes foram seccionados e avaliados em microscopia confocal com um aumento de até 100x com lentes de imersão em óleo (NA = 1,4). Os resultados mostraram que todos os *primers* e adesivos apresentaram uma boa penetração na dentina, com exceção do Pertac Universal Bond, o qual manifestou 100% de micropermeabilidade por não promover a remoção da *smear layer* (controle). Os menores valores de micropermeabilidade foram obtidos pelo Clearfil Liner Bond 2, Optibond e por um adesivo experimental de 2 passos. Quando monômeros polimerizáveis por luz foram adicionados aos *primers*, maiores valores de micropermeabilidade foram observados. A associação *primer* e adesivo foi importante para a minimização da micropermeabilidade, sendo que *primers* contendo monômeros não fotoativáveis foram melhores no sentido de absorver a resultante das forças de contração devido a uma elasticidade intrínseca, quando comparados ao adesivo com *primers* fotoativados. Os autores concluíram que a técnica de microscopia confocal foi capaz de fornecer o exame preciso do grau e do local da micropermeabilidade nas interfaces analisadas.

Em 1999, com o intuito de observar se havia relação entre a resistência adesiva e a nanoinfiltração, Paul et al.⁷⁹ selecionaram nove

terceiros molares que tiveram o esmalte oclusal removido para que se expusesse a dentina superficial. Esta foi condicionada com ácido fosfórico a 35%, utilizando-se diferentes tempos de aplicação (15, 30, 60 segundos). O sistema adesivo Single Bond foi aplicado de acordo com instruções do fabricante e a resina composta Z100 inserida em camadas. Os dentes foram armazenados por 24h e seccionados para que se obtivessem espécimes com 0,7mm de espessura. Alguns espécimes foram selecionados para serem armazenados em ambiente seco, outros em ambiente úmido e outros, ainda, para serem imersos em nitrato de prata a 50% por 1h. Todos os espécimes foram analisados em MEV. Os resultados mostraram que, aumentando-se o tempo de aplicação do ácido fosfórico, houve uma redução na resistência adesiva quando os espécimes foram armazenados em ambiente úmido, mas valores semelhantes quando corados com nitrato de prata. Houve aumento da deposição de prata quando se utilizaram tempos maiores de condicionamento. Os resultados sugeriram que um sobre condicionamento não mostrou, a curto prazo, um efeito negativo em termos de resistência para o adesivo Single Bond. Entretanto, a deposição de prata, dependendo do tempo de condicionamento, deve causar preocupação em termos de estabilidade das uniões adesivas a longo prazo.

Ainda em 1999, Perdigão et al.⁸⁴ estudaram o efeito do agente de re-umedecimento, na adesão à dentina. Foi comparada, *in vitro*, a resistência adesiva e ultramorfologia da interface formada por três adesivos, de frasco único, sendo eles: OptiBond Solo (etanol), Prime & Bond 2.1 (acetona) e Single Bond (etanol e água). Os autores utilizaram 90 dentes bovinos, extraídos no local de abate e congelados em solução de cloramina a 5% por mais de uma semana. Foi testada a hipótese nula de que o re-umedecimento da dentina seca com HEMA em solução não resulta em aumento da resistência adesiva e impregnação na dentina desmineralizada, comparável àquela obtida em dentina úmida. As

amostras de dentina foram agrupadas em: dentina úmida (controle), dentina seca por 5s, dentina seca por 5s e re-umedecida com uma solução de HEMA a 35%. Os autores observaram que para a dentina úmida, a morfologia da interface resina/dentina mostrou a penetração do adesivo até a profundidade de transição entre dentina desmineralizada e dentina intacta. A secagem por 5s determinou um decréscimo significativo na resistência adesiva e uma incompleta infiltração do colágeno, com área de fibras sem cobertura de adesivo. O re-umedecimento da dentina com HEMA restabeleceu os níveis de resistência adesiva obtidos para a dentina úmida e produziu um aumento da rede de fibras colágenas, com simultâneo aumento nos espaços interfibrilares. Os resultados sugerem que o uso de uma solução de HEMA aquosa poderia compensar a secagem induzida em superfícies de dentina usando seringa de ar, depois de enxaguar o condicionador. Como o comportamento do material que continha água também era afetado por secagem de superfície, a porcentagem de água incluída na composição de adesivos baseados em água e etanol, como Single Bond, pode não ser suficiente para compensar o colapso das fibras de colágeno após a secagem.

Prati et al.⁸⁸, em 1999 avaliaram a morfologia dos *tags* resinosos e da camada de dentina infiltrada por resina de vários sistemas adesivos em dentina humana normal e esclerótica de jovens e adultos, superficial e profunda. Discos dentinários foram obtidos da oclusal de molares extraídos, condicionados com ácido fosfórico 35-37% e receberam a aplicação dos seguintes sistemas adesivos: OptiBond FL (Kerr); Prime&Bond 2.0 (Dentsply); Scotchbond Multi-Purpose Plus (3M), Scotchbond 1 (3M) e One Step (Tokuyama). Em seguida, cada espécime foi seccionado ao meio, sendo uma das partes polida com lixas abrasivas 600, 1000, 1200 e 4000, tratadas com NaOCl 1,5%, lavadas, limpas em ultra-som por 2min e, finalmente, secas ao ar antes da metalização com ouro. Este protocolo foi seguido para visualização da espessura e morfologia da camada híbrida em MEV, sendo a outra metade das

amostras desmineralizada em ácido fosfórico 20% por 70h, lavada e desproteínizada para a avaliação da morfologia dos *tags* resinosos e de suas extensões laterais. A camada híbrida apresentou-se mais homogênea, espessa e livre de *gaps* em dentina jovem e sadia quando comparada à dentina senil e esclerótica. Os autores atribuíram este resultado à dificuldade do ácido fosfórico em penetrar na dentina intertubular esclerótica no tempo recomendado pelo fabricante. Independente do tipo de dentina, a espessura da camada híbrida foi menor na dentina superficial comparada à profunda. A dentina esclerótica e adulta mostraram as menores espessuras de camada híbrida, com *tags* curtos, e poucas ramificações laterais em relação à dentina normal. Ainda observaram uma alta incidência de *gaps* nas interfaces adesivas em dentina esclerótica, confirmando a premissa de que este substrato apresentaria um comportamento adesivo inferior em relação à dentina jovem e sadia.

Sano et al.⁹⁶ em 1999, baseados na importância da durabilidade da interação resina-dentina para a longevidade das restaurações, realizaram um estudo de um ano para avaliar a estabilidade em longo prazo da adesão resina-dentina na cavidade oral, bem como testar a hipótese que a interface adesiva pode mostrar modificações morfológicas *in vivo* com o tempo. Cavidades rasas em dentina foram confeccionadas em dentes hígidos de macacos, restauradas com Clearfil Liner Bond II (Kuraray) e Clearfil Photo Posterior (Kuraray). Os dentes foram extraídos após três diferentes períodos: imediatamente, 180 e 360 dias após a colocação das restaurações e foram submetidos ao teste de microtração. As superfícies adesivas, após a fratura, foram observadas em MEV. A resistência adesiva foi estável em aproximadamente 19MPa durante um ano de teste. As observações em MEV das superfícies fraturadas revelaram, no topo da camada híbrida e dentro da resina adesiva, porosidades que aumentaram com o tempo. Os autores

validaram o método que utiliza teste de resistência com observações morfológicas em MEV, na avaliação da durabilidade da adesão.

Cunha et al.²², em 2000, compararam a resistência à tração dos sistemas Single Bond (3M) e Scotchbond Multipurpose (3M) em sessenta dentes bovinos, aos 10min e 24h da adesão. Os dentes foram divididos aleatoriamente em quatro grupos; as faces vestibulares foram desgastadas para obtenção de uma superfície plana e a área de união foi delimitada por uma fita adesiva em 4,0mm de diâmetro; todos os espécimes foram condicionados com ácido fosfórico a 35% por 15s, lavados e o excesso de água removido. Os grupos 1 e 2 receberam o Single Bond (3M) seguido da resina composta Z100 (3M) e nos grupos 3 e 4 foi aplicado o Scotchbond Multipurpose (3M) e a resina Z100 (3M), procedimentos que seguiram as instruções dos fabricantes. Os autores posicionaram, sobre a área de união, um cilindro de resina composta que foi fotopolimerizado por 20s, em três posições na interface, para realizar o ensaio de tração. Os grupos 1 e 3 foram submetidos ao ensaio de tração após 10min da união e os grupos 2 e 4 foram armazenados em água destilada a 37°C e tracionados após 24h. Foi utilizada uma máquina universal Instron para o ensaio de tração, na velocidade de 0,5mm/min. Após o ensaio, o tipo de fratura foi observado ao MEV. O teste de Tukey ($p < 0,05$) e análise de variância foram aplicados para análise estatística dos resultados e os valores em MPa da resistência à tração foram: Grupo 1 - $8,56 \pm 2,97$; Grupo 2 - $7,99 \pm 2,12$; Grupo 3 - $7,69 \pm 1,40$ e Grupo 4 - $7,86 \pm 2,66$. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos e o tipo de fratura predominante foi coesiva no adesivo. Os autores concluíram que a resistência à tração dos sistemas adesivos testados foi similar aos 10min. e 24h.

Um estudo ultraestrutural sobre a adesão ocorrida entre um sistema adesivo autocondicionante, precedido ou não por condicionamento ácido, e a dentina esclerótica foi desenvolvido por Kwong et al.⁵⁰, em 2000. Foram consideradas lesões cervicais não-

cariosas, sem preparos cavitários adicionais e, para o grupo controle foram preparadas cavidades simulando lesões cervicais em formato de cunha em pré-molares hígidos. Dois tratamentos foram realizados nos grupos tratado (dentina esclerótica) e controle (dentina hígida): a) sistema adesivo autocondicionante Clearfil Liner Bond 2V (Kuraray). b) condicionamento com ácido fosfórico a 40% seguido da aplicação do mesmo sistema adesivo. Para a análise em MEV, os dentes foram crio-fraturados em duas partes a partir de uma fenda pré-confeccionada na lingual dos dentes, após os respectivos tratamentos de condicionamento. Diferentes regiões da lesão foram observadas após a realização do condicionamento ácido e/ou *primer* ácido, lavagem e desidratação dos espécimes. Para a investigação em MET, interfaces de união dentina-resina foram processadas em cortes ultrafinos obtidos da oclusal, gengival e região central mais profunda da lesão. Os resultados obtidos revelaram a presença de uma camada superficial hipermineralizada na dentina esclerótica condicionada. Esta camada era bastante espessa na região mais profunda das lesões escleróticas, onde a colonização bacteriana na superfície da lesão também foi aparente. Ambos os protocolos de tratamento foram incapazes de dissolver os trajetos escleróticos que ocluíam os túbulos dentinários. Detectou-se uma autêntica camada híbrida de menor espessura na dentina hígida tratada somente com o adesivo autocondicionante. Esta observação também pôde ser feita em relação à região mais profunda da lesão quando da aplicação adicional de ácido fosfórico. Nesta região, não foi possível observar a presença de uma camada híbrida autêntica, para ambos tratamentos. *Tags* resinosos foram esporadicamente detectados em todas as regiões observadas. Os autores concluíram que as estratégias adesivas baseadas somente na retenção micro-mecânica podem ser comprometidas pela ausência de camada híbrida e de *tags* resinosos na dentina esclerótica. Baseados nas características morfológicas apresentadas sugerem que a introdução de estratégias, como a remoção superficial de dentina esclerosada e a

extensão do tempo de condicionamento, pode não ser completamente eficaz na adesão resinosa à dentina altamente esclerótica, sendo recomendada a continuidade de estudos interdisciplinares que visem otimizar esta interação.

Ainda em 2000, Nakajima et al.⁶⁸ compararam a eficácia de três sistemas adesivos (One-Step, OS; Single Bond, SB e Clearfil PhotoBond, PB) sob condições de dentina úmida ou seca com jato de ar por cinco segundos). Os autores empregaram o teste de microtração em terceiros molares humanos e avaliação em MEV da espessura e da qualidade da camada híbrida, por meio de um desafio ácido-base, após o polimento das interfaces. Os resultados do teste de resistência mostraram valores significativamente mais baixos para o grupo em que a dentina foi ressecada, 8-19MPa, contra um valor de 39-50MPa no grupo que manteve a dentina úmida, para os três produtos. A camada híbrida não foi observada nas interações OS, SB e dentina ressecada, enquanto que uma fina zona híbrida foi detectada para o PB. Em contraste, para todos os sistemas adesivos uma espessa camada híbrida foi observada quando a dentina foi mantida úmida e, sobretudo, esta interface revelou-se resistente ao desafio químico. Estes resultados dão suporte ao modelo morfológico previamente publicado, pelos autores, além de oferecer uma explicação morfológica para as diferenças de resistência de união estabelecida com a dentina úmida versus ressecada.

Estudando a permeabilidade da dentina ao HEMA, Pashley et al.⁷⁷ em 2000, utilizaram terceiros molares, não erupcionados extraídos. Os autores buscavam desenvolver um macromodelo de camada desmineralizada de dentina, formada após o condicionamento ácido e determinar se a deposição de HEMA era de responsabilidade da secagem por ar. Cubos de dentina foram preparados (2 X 2 X 2mm) e incubados em HEMA a 100% por 1.000min e, então, o excesso de HEMA foi removido. Utilizou-se a espectrofotometria para quantificar o HEMA. Os cubos de dentina foram desmineralizados em 0,5 M de EDTA por 10 dias

e a deposição de HEMA foi verificada novamente em 1, 10, 100 e 1.000 min. Os cubos foram secos por ar e a deposição foi quantificada. Após a reexpansão das amostras em água, os cubos foram colocados em concentrações crescentes de acetona 100%, foram secos e a deposição de HEMA foi mensurada. Finalmente, após nova hidratação, os cubos de dentina foram condicionados com ácido fosfórico 37% por tempos variados de 1 a 10min, e a deposição de HEMA foi verificada outra vez. Após a remineralização, a camada de HEMA foi pequena comparada àquela conseguida após 1, 10, 100 e 1.000min; o condicionamento ácido não influenciou na camada de HEMA; e a secagem por ar produziu uma contração volumétrica de 70% e 97% de redução da camada de HEMA depositado. Com base nos resultados obtidos os autores concluíram que, a camada de deposição de HEMA na dentina desmineralizada depende do grau de expansão da matriz de dentina.

Informações detalhadas da estrutura da dentina são essenciais para interpretar os dados das análises dos sistemas adesivos. Desta forma, Schilke et al.¹⁰⁰ em 2000, compararam o número e diâmetro dos túbulos em preparos semelhantes em dentina coronária humana de decíduos (n=30) e de terceiros molares (n=30) e de dentina coronária e radicular de dentes bovinos (n=30). A densidade tubular, em túbulos/mm², na dentina média foi maior para dentina da raiz bovina - BR (23.760 ± 2.453) do que para humanos decíduos - HD (18.243 ± 3.845), humano permanente - HP (18.781 ± 5.855), e dentina coronária bovina - SC (17.310 ± 2.140). Os valores correspondentes para dentina profunda, em túbulos/mm², foram: 23.738 ± 4.457 (BR), 24.162 ± 5.338 (HD), 21.343 ± 7.290 (HP) e 20.980 ± 4.194 (SC). Não foram observadas diferenças significativas para o número de túbulos na dentina bovina coronária, quando comparado com a dentina humana de molares permanentes e decíduos. A média do diâmetro dos túbulos dentinários bovinos foi ligeiramente, mas não significativamente, maior do que na dentina humana (camada média / profunda ± desvio padrão em µm): BC (2,85 ±

0,18 / 3,5 $\pm$ 0,33); BR (3,10 $\pm$ 0,33 / 3,23 $\pm$ 0,30); HD (2,55 $\pm$ 0,16 / 2,82 $\pm$ 0,28); HP (2,65 $\pm$ 0,19 / 2,90 $\pm$ 0,22). Os valores encontrados foram testados pelo teste t-Student ($p < 0.05$). Os dados de diferentes amostras foram submetidos a ANOVA. O teste Scheffe foi usado para determinar diferenças significativas ($p < 0.05$). O número e diâmetro de túbulos de decíduos humanos e molares permanentes, e dos incisivos centrais bovinos, não sendo significativamente diferente. Entretanto, na raiz bovina a densidade tubular é estatisticamente maior. Estes resultados sugeriram a necessidade de padronizar os preparos, sendo que a coroa do incisivo bovino pode ser considerada como possível substituta para molares humanos em estudos de adesão dental.

Sendo a dentina esclerótica um substrato complexo para se alcançar resistência adesiva efetiva, Tay et al.¹⁰⁶ em 2000 examinaram as características ultraestruturais da interface resina-dentina em lesões cervicais não-cariosas seguido da aplicação de um sistema adesivo autocondicionante Clearfil Liner Bond II (Kuraray, Japão), além de avaliar a resistência adesiva em diferentes regiões de lesões cervicais, naturais e artificiais. Para a avaliação morfológica, aplicaram o adesivo em lesões cervicais profundas e examinaram várias regiões dentro destas lesões em MEV e em MET. As características ultra-estruturais foram comparadas com a interface adesiva obtida em lesões artificiais criadas em dentina normal. Foi avaliada a resistência adesiva das porções oclusais, gengivais e porção centrais mais profunda de lesões cervicais naturais e artificiais. Uma camada hipermineralizada destituída de fibras colágenas intactas foi invariavelmente encontrada nas interfaces de lesões naturais. Dependendo da espessura desta camada em diferentes regiões da lesão, a ação do *primer* autocondicionante mostrou-se limitada a esta superfície, produzindo uma camada híbrida superficial hipermineralizada. Quando houve uma penetração do sistema adesivo além da extensão da camada hipermineralizada, ocorreu a formação de um complexo hibridizado, formado pela camada híbrida superficial hipermineralizada e pela camada

híbrida sub-superficial intertubular. A colonização bacteriana da superfície da lesão resultou em uma camada adicional sob a superfície de adesão, denominada zona hibridizada com a matriz intermicrobiana. Os túbulos dentinários apresentaram-se bloqueados por trajetos escleróticos e os *tags* resinosos foram raramente observados. Os resultados de resistência adesiva regional mostraram que, no geral, houve uma diferença de cerca de 20% a menos nos valores para a dentina esclerótica natural em comparação com a dentina hipermineralizada artificialmente. Com isso, quatro fatores foram postulados por interferirem com a redução da resistência adesiva na dentina esclerótica: a) a presença da camada hibridizada com a matriz intermicrobiana misturada com bactérias pode enfraquecer a união adesiva; b) a inabilidade do autocondicionante penetrar através da camada espessa e hipermineralizada; c) presença de uma camada de colágeno desnaturado, possivelmente remineralizado, na base da superfície hipermineralizada; d) a formação de trajetos escleróticos no lúmen tubular que evitam a formação dos *tags* resinosos.

Van Meerbeek et al.¹¹⁹ em 2000, com o objetivo principal de propor a utilização de técnicas apropriadas em microscopia para estudar os mecanismos de adesão à dentina e ao esmalte, sugeriram um protocolo de análise morfológica de novos materiais adesivos anteriormente à sua permissão para utilização clínica. Quatro técnicas mais comumente utilizadas para isso foram descritas, sendo destacada a relação existente entre a metodologia empregada e suas respectivas possibilidades, limitações e potencial de formação de artefatos. A possibilidade de observação da camada híbrida é obtida somente após processamento químico das amostras posteriormente ao seccionamento ou fratura das interfaces. A técnica mais comumente utilizada para visualização de interfaces em MEV envolve a dissolução parcial ou total da dentina superficial com ácidos concentrados, como o ácido clorídrico e ácido nítrico, para remover os componentes orgânicos dentinários desta superfície, os espécimes são comumente desproteinizados com

(hipoclorito de sódio). A utilização desta técnica (desafio ácido-base) sobre as interfaces adesivas, verifica a resistência da camada híbrida quanto à sua degradação, além de revelar as características morfológicas de *tags* e da própria camada híbrida, sua resistência da região de colágeno infiltrada e copolimerizada por monômeros, protegendo do processo de dissolução clínica e laboratorial. Desta forma, altos valores de resistência adesiva, obtidos para alguns sistemas adesivos, têm sido correlacionados com uma avaliação morfológica positiva em MEV ao desafio ácido-base. O protocolo sugerido pelos autores consta da observação em microscopia de força atômica (MFA) em condição ambiente, após o corte ultrafino com lâmina de diamante. A vantagem da MFA sobre a MEV-EC consiste no fato de que a superfície escaneada de dentina é a real, sem nada interpondo, enquanto a vista em MEV recebe a cobertura condutiva. Os autores avaliaram a determinação da presença de nanoinfiltração dentro da camada híbrida que pode ocorrer mesmo na ausência de *gaps* na interface. Segundo os autores, as possíveis razões para a inclusão de poros na camada híbrida, são: a) infiltração incompleta de resina; b) evaporação incompleta de solvente (água, acetona ou álcool); c) dissolução (lixiviação) de monômeros adesivos incompletamente polimerizados; d) hidrólise ou degradação de colágeno ou de polímeros resinosos; e) inadequada umidade do colágeno. Os sistemas autocondicionantes além da retenção micromecânica oferecida pela hibridização, cristais de hidroxiapatita residuais podem servir como receptores químicos para adesão de adesivos baseados em fosfatos ou carboxilatos e que estudos adicionais devem ser realizados para verificar o efeito da nanoinfiltração na longevidade clínica das restaurações adesivas. A MEV é uma técnica microscópica muito utilizada dentro da ciência dos materiais odontológicos, principalmente pela profundidade de ação, por sua alta resolução e por seu fácil manuseio. Uma série complexa e extensa de passos é necessária para evitar a formação de artefatos devido à contração decorrente da desidratação e da presença

de alto vácuo para a observação de amostras biológicas. Assim, este preparo deve seguir um protocolo sistemático e rigoroso, envolvendo fixação, desidratação, secagem e cobertura com material condutor. Os autores concluíram que apesar da alta resolução morfológica obtida com a microscopia é necessário conhecer a técnica de utilização deste recurso, além de suas limitações. Desta forma seria possível a análise correta dos dados obtidos. Pesquisas adicionais deveriam ser direcionadas para o estudo das propriedades físico-químicas da união resinosa com a dentina, sendo que o objetivo final destas pesquisas seria alcançar um patamar cada vez mais confiável e durável para a utilização clínica de restaurações adesivas.

Anido², em 2001 comparou a resistência adesiva da dentina humana e bovina em três diferentes espessuras de remanescente, frente ao teste de cisalhamento, a fim de estabelecer uma possível relação de profundidade entre os substratos visando a substituição da dentina humana em testes de adesão. Empregou 48 dentes humanos (H) e 48 dentes bovinos (B), recém - extraídos, armazenados em água destilada e congelados a -18°C. As superfícies vestibulares dos dentes foram desgastadas com lixas de granulação 240, 400 e 600, polidas com lixa 800 em politriz, para expor a dentina e padronizar a *smear layer*. Os grupos foram divididos com espessuras de dentina remanescente de 0,5mm, 1mm e 2mm, e a área de adesão foi delimitada em 4mm de diâmetro. Foi utilizado o sistema adesivo Scotchbond Multi-Use Plus (3M) aplicado na superfície de dentina condicionada, seguida da aplicação de três camadas incrementais de resina composta Z-100 (3M). Os resultados submetidos à análise estatística demonstraram que houve diferença significativa entre a resistência adesiva em dentes humanos e bovinos, sendo os maiores valores para os H; houve diferença significativa de resistência para as profundidades analisadas, sendo os maiores valores para a dentina superficial, seguida da média e profunda, para ambos os substratos.

Conclui que há semelhança nos valores de resistência adesiva entre os substratos H e B, e que o substrato bovino presta-se aos estudos laboratoriais de resistência adesiva como indicativo da performance inicial de novos produtos, observando-se a relação de profundidade entre os substratos.

Bouillaguet et al.⁹ em 2001, compararam a adesividade dentinária entre sistemas adesivos de condicionamento ácido total de três passos clínicos, condicionamento ácido total de dois passos e autocondicionantes, por meio de um teste de microtração seguido da observação dos espécimes fraturados em MEV. O grupo do Scotchbond Multipurpose Plus (3M) apresentou os maiores valores de adesão com significância estatística em relação a todos os outros. Os outros materiais foram classificados em ordem decrescente de valores de adesão: Optibond FL (Kerr), Scotchbond 1(3M) , Clearfil Liner Bond 2V (Kuraray), Primer & Bond NT (Dentsply), Asba S.A.C (Lamaison Dentaire)., Excite (Vivadent) e Prompt L-Pop (3M ESPE). A observação em MEV dos espécimes mostrou que a maioria das fraturas foi adesiva (70%), ocorrendo entre a resina e a camada híbrida. Alguns espécimes (20%) mostraram fraturas mistas, adesivas e coesivas. Apenas alguns espécimes mostraram fraturas coesivas, sendo que em 72% ocorreram na resina e, em 28%, ocorreram na dentina. Para o Scotchbond Multipurpose Plus (3M) observou-se uma zona de camada híbrida bem desenvolvida (24µm) coberta por camada uniforme de adesivo (30µm), havendo fratura adesiva na maior parte. Os dois sistemas adesivos autocondicionantes mostraram diferenças significativas na performance em termos de adesividade e modo de fratura. O estudo em MEV mostrou infiltração pobre dentro da *smear layer*.

Li et al.⁵¹ em 2001, realizaram um estudo para avaliar a durabilidade da adesão à dentina com o passar do tempo, através do estudo da nanoinfiltração. Sobre a dentina de oitenta molares humanos foi obtida a camada de smear, sendo os dentes divididos em: grupo a) Single

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

Em 2001, Ogata et al.⁷¹ realizaram um estudo para avaliar a importância da direção dos túbulos dentinários na variação da resistência adesiva à dentina. Empregaram os sistemas adesivos: Clearfil Liner Bond II (LB, Kuraray), Imperva Fluom Bond (FB, Shofu), Single Bond (SB, 3M) e One Step (OS, Bisco), 36 molares humanos para o teste de adesão e oito dentes adicionais, para análise ao MEV. Os dentes foram divididos em dois grupos de acordo com a direção dos túbulos dentinários na interface dentina/resina: grupo perpendicular, esmalte foi removido perpendicular ao longo eixo do dente e, grupo paralelo, onde a metade mesial foi removida paralelamente ao longo eixo axial do dente. Os discos de dentina foram polidos com lixa de papel 600, e as superfícies foram tratadas de acordo com o sistema adesivo e recomendações dos

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

Reis et al.⁹² em 2001, realizaram um estudo dos vários conceitos de adesão em dentina e discutiram vários fatores que podem prejudicar a hibridização dos tecidos. Relataram a complexidade da adesão à dentina, umidade e reumedecimento da dentina, presença de *smear layer*, condicionamento ácido total. Com relação aos diferentes tipos de solventes e sua atuação em dentina, observaram que os adesivos cujo solvente é a acetona, parecem ser muito mais sensíveis ao substrato mais seco, do que os à base de água que podem propiciar a reexpansão das fibras de colágeno colapsadas durante a secagem. Os adesivos sem água devem ser aplicados no substrato úmido. A acetona e álcool não são capazes de promover reexpansão do colágeno e aumentam sua rigidez, o que impedirá mais ainda a infiltração dos monômeros resinosos. A dificuldade na remoção do excesso de água

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

Toledano et al.¹¹¹ em 2001, realizaram um trabalho para avaliar a resistência adesiva de compostos resinosos à dentina e esmalte usando três sistemas adesivos, sendo dois deles autocondicionantes: *Clearfil SE Bond* (CSEB), *Etch & Prime* (E&P) e *Scotchbond Multi Purpose Plus* (SBMP). Trinta molares extraídos foram armazenados em solução de cloramina a 0,5% por um mês, no máximo. Os grupos apresentavam dez dentes. Foram medidos os ângulos de contato de cada agente adesivo para determinar a sua capacidade de molhamento e foi realizado um teste de adesão ao esmalte e dentina com cada tipo de sistema adesivo, sendo que após a fratura todos os espécimes foram observados em estereomicroscópio de luz para determinar o tipo de fratura (coesiva, adesiva ou mista). Após o teste na dentina superficial, os

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

Baseados na importância que a camada híbrida exerce no mecanismo atual de adesão, Arrais e Giannini⁸ em 2002, avaliaram as diferenças dimensionais desta camada, quando estabelecida a união entre a dentina humana e quatro sistemas adesivos (n=8): um

convencional de múltiplos passos (Scotchbond Multipurpose Plus - SM), um convencional de frasco único (Single Bond - SB) e dois autocondicionantes (Etch & Prime 3.0 - EP e *Clearfil SE Bond* - CB). As amostras foram preparadas a partir da oclusal dentinária de molares humanos, sobre as quais, após aplicação dos sistemas adesivos e da resina composta, foi analisado o perfil de penetração resinosa por meio do MEV em uma magnificação de 2000x. Os perfis pré-seccionados foram polidos com lixas de óxido de alumínio (granas 600, 1000 e 1200, respectivamente) e com pastas de diamante (6, 3, 1 e $\frac{1}{4}$ μm , respectivamente). Em seguida, para facilitar a visualização da camada híbrida na interface dentina-resina, foi aplicado ácido fosfórico a 37% por cinco segundos. Na preparação para o exame em MEV, as amostras foram fixadas em solução Karnovsky, pós-fixadas em tetróxido de ósmio, desidratadas em concentrações ascendentes de acetona (30%, 50%, 70%, 90% e 100%), secas ao ponto crítico em aparelho com CO₂ e cobertas com ouro. As medidas de espessura da camada híbrida foram analisadas estatisticamente por ANOVA, para os diversos sistemas. Foram registradas espessuras de camada híbrida de diferentes valores para cada tipo de sistema utilizado, sendo o SM, o responsável por produzir a de maior espessura, seguida pelo SB. Já os adesivos EP e CB resultaram em espessuras de menores valores.

Braga e Ferracane¹¹, em 2002, com o intuito de promover uma redução nas tensões resultantes da contração de polimerização das resinas compostas, propuseram avaliar os efeitos da adição de um inibidor do processo de polimerização (butilato de hidroxitolueno) para que se reduzisse a velocidade da reação. Desta forma, avaliaram o grau de conversão e a geração de tensões provenientes da contração de polimerização de uma resina experimental, com diferentes concentrações do composto inibidor (0,05; 0,2; 0,5; 1,0%), que foi fotoativada com uma densidade de potência de 184 mW/cm² e variados tempos de exposição (15, 30, 60 e 120s). Da análise dos resultados, observaram-se que

tempos mais longos de exposição promoveram um maior grau de conversão, contração de polimerização e tensão. Houve um aumento de 38% na conversão (de 39 para 54%) quando se compararam os tempos de 15 a 120 segundos. Observou-se ainda que houve uma redução de 29% na resultante das forças de contração quando se adicionou 0,5 e 1,0%, sendo que quando se compararam 0,05; 0,2 e 0,5% não se observou significância. Não houve diferença significativa no grau de conversão, mas houve uma tendência de redução na conversão com o aumento da porcentagem do inibidor. De acordo com os autores, as moléculas inibidoras poderiam ligar-se a duas ou mais cadeias poliméricas levando a uma redução na velocidade de reação inicial, até que o inibidor fosse completamente consumido. Desta forma, possibilitaria um aumento da fase pré-gel da resina composta, proporcionando um maior alívio das tensões iniciais de contração. Concluíram que o grau de conversão exerceu uma influência significativa na resultante das forças de contração com uma forte correlação ($\approx 0,993$), sendo que um aumento da concentração do inibidor promoveu uma redução na taxa de conversão e nas tensões da contração de polimerização, sem que se comprometesse a porcentagem de conversão final.

Macari et al.⁵³ em 2002, avaliaram a interface dentina-resina de três sistemas adesivos de quarta geração (Scotchbond Multipurpose Plus, SBMP; Optibond, OPB e Denthesive Bond II, DT) em MEV. Para isso, os adesivos e suas respectivas resinas compostas foram aplicados no interior do canal radicular de seis dentes incisivos e caninos humanos de acordo com as recomendações do fabricante. Os dentes foram embebidos em resina acrílica e cortados transversalmente ao canal radicular e perpendicularmente à interface dentina-resina. Os resultados mostraram que houve verdadeira hibridização e formação de *tags* de resina no interior dos túbulos dentinários de todos os grupos experimentais. No grupo SBMP houve maior impregnação do *primer* e adesivo na dentina peri e intertubular, resultando em *tags* de resina em

maior quantidade com camada híbrida homogênea e consistente. O grupo OPB apresentou características semelhantes ao SBMP, mas foram vistos *gaps* entre as paredes dos túbulos dentinários e os *tags*, estes, mais curtos e a camada híbrida menos contínua. O grupo DT teve características diferentes dos outros dois: a camada híbrida não se apresentou homogênea e os comprimentos dos *tags* de resina foram variáveis; os túbulos dentinários não foram abertos e a *smear layer* não foi removida, devido à ausência do condicionamento ácido prévio da dentina. Variações na espessura de camada híbrida foram observadas entre os produtos, entre os espécimes do mesmo adesivo e em áreas diferentes do mesmo espécime. A análise da camada híbrida em MEV revelou diferentes padrões de hibridização, sugerindo que a união da dentina ao sistema adesivo é influenciada por muitos fatores, além disso, a padronização do substrato dentinário é impossível.

Alguns resultados relatados na literatura acabam por colocar em prova a efetividade adesiva dos sistemas autocondicionantes, dado ao seu limitado potencial desmineralizador. Dessa forma, Torii et al.¹¹⁴, em 2002, investigaram o efeito do condicionamento ácido dentinário precedente à utilização do adesivo autocondicionante. Para tanto, os dentes bovinos foram aleatoriamente divididos em quatros grupos de vinte espécimes ,cada. Os tratamentos superficiais foram os seguintes: a) grupo 1: esmalte desgastado com lixa de granulação 600; b) grupo 2: esmalte desgastado e condicionado com ácido fosfórico a 35% por 15s; c) grupo 3: dentina desgastada; d) grupo 4: dentina condicionada da mesma forma que o grupo 2. Subseqüentemente, cada grupo foi dividido em dois subgrupos, com dez espécimes cada, sendo aplicado duas marcas de sistema adesivo autocondicionante: UniFil Bond (UB) e *Clearfil SE Bond* (SE) (Kuraray), seguido da aplicação de uma camada de resina composta (AP-X), conforme normas do fabricante. Para avaliação das performances foi realizado o teste de tração, por meio do qual obtiveram os seguintes resultados: 11,2MPa (Grupo 1-UB), 14,3MPa (Grupo 1-SE), 16,3MPa

(Grupo 2-UB), 20,5MPa (Grupo 2-SE), 13,4MPa (Grupo 3-UB), 16,7MPa (Grupo 3-SE), 9,3MPa (Grupo 4-UB) e 12,6MPa (Grupo 4-SE). Os testes estatísticos revelaram um aumento significativo nos valores de resistência adesiva para o esmalte, enquanto que para a dentina houve um decréscimo, também significativo.

Em 2003, Corrêa et al.²¹, realizaram um estudo micromorfológico das dentinas humana e bovina, com o objetivo de normalizar o uso de dentes bovinos como substitutos dos dentes humanos em pesquisas científicas. Os autores utilizaram dentes bovinos recém-extraídos que foram fixados em formol a 10%, por 24h. e conservados em formol a 2% até o momento da preparação das lâminas; dez lâminas foram preparadas pelo método de desgaste e cem lâminas foram preparadas por descalcificação e coradas pelos métodos de HE e Tricrômico de Masson. Com base no estudo das lâminas os autores concluíram que a dentina bovina apresenta maior número de túbulos dentinários nas proximidades do tecido pulpar e menor número próximo ao limite amelodentinário, como ocorre na dentina humana. Com relação ao diâmetro dos túbulos, foi observado, que ao contrário do que ocorre na dentina humana os túbulos dentinários da dentina bovina têm maior diâmetro próximo do limite amelodentinário, sendo que o diâmetro diminui nas proximidades da polpa. A distribuição da dentina intertubular bovina nas proximidades da polpa não é uniforme ao longo do dente e a dentina bovina possui estruturas tubulares que foram denominadas estruturas tubulares dentinárias. que estão presentes tanto na coroa como na raiz, sendo mais freqüentes na coroa e não apresentam distribuição regular. Os autores observaram também que, quando se utilizam dentes bovinos na região próxima à polpa, simulando procedimentos de hibridização dentinária, há menor permeabilidade devido ao menor diâmetro dos túbulos dentinários e maior área de dentina intertubular, ao contrário do que ocorre na dentina humana. Nas áreas próximas ao esmalte encontraram menor número de túbulos com maior diâmetro, tornando esta

região menos mineralizada e mais permeável. Estas diferenças de permeabilidade e quantidade de conteúdo aquoso no fluido dentinário podem influenciar nos testes de microinfiltração e resistência à tração e cisalhamento, pois estão diretamente ligados à eficiência da hibridização. Verificaram que os dentes bovinos utilizados em incidência e profundidade aleatórias podem alterar os resultados em testes de adesão e microinfiltração, quando comparados à dentina humana; não há, morfológicamente, na dentina bovina uma região idêntica à dentina humana; a região que a dentina bovina mais se assemelha à dentina humana é em corte transversal, na região mediana, área de dentina primária próximo à polpa; e que são necessários outros estudos para complementarem seus achados.

Rauscher⁹¹ em 2003, avaliou *in vitro* a qualidade da interface adesiva em dentina normal e hipermineralizada frente a dois sistemas adesivos de abordagens adesivas distintas, convencional e autocondicionante. Para tanto, quarenta incisivos bovinos tiveram suas coroas seccionadas ao meio de modo a se separarem as porções mesiais e distais, obtendo-se oitenta hemi-seções. Em seguida, a superfície vestibular foi desgastada até a obtenção de 1,5mm de dentina remanescente e os espécimes foram divididos em dois grupos: (N) dentina normal, mantidos em água destilada a 37°C e (H) hipermineralizados, mantidos em solução hipermineralizante a 37°C por 14 dias. A seguir, cada grupo foi subdividido, de acordo com o sistema adesivo utilizado (n=20) : S (condicionamento ácido + Single Bond, 3M) e O (One-Up Bond F, Tokuyama). Uma resina micro-híbrida foi posteriormente aplicada em todos os grupos, conforme normas do fabricante (Tetric-Ceram, Vivadent), seguido do armazenamento por duas semanas. Após os perfis de adesão serem polidos e submetidos a um desafio ácido-base, foram processados para análise em MEV, sendo atribuídos escores segundo o grau de porosidade e presença de *gap* nestas interfaces. Os dados foram analisados estatisticamente com os

testes de Kruskal-Wallis, Dunn e exato de Fisher ($\alpha = 5\%$). determinando a melhor interação para ON, sendo que o grupo H obteve o resultado mais desfavorável quanto à qualidade da interface adesiva para os dois sistemas. Estes resultados sugerem que: a) os adesivos autocondicionantes aplicados à dentina normal são promissores em substituir os sistemas convencionais; b) estudos mais profundos devem ser ainda conduzidos em busca de melhores resultados para ambos os sistemas adesivos aderidos em dentina hipermineralizada.

Susin et al.¹⁰² em 2003, avaliaram comparativamente a espessura de camada híbrida proporcionada por sistemas adesivos atuais sob influência de diferentes condições de substrato dentinário (úmido, desidratado e reumidificado), utilizando para este estudo 180 terceiros molares humanos, hígidos, seccionados na altura do um terço médio da coroa dental, obtendo 18 grupos de dez fragmentos, cada para testar a eficiência de seis sistemas adesivos Scotchbond Multi Uso (3M); Single Bond (3M); Prime&Bond 2.1 (Dentsply); One Coat Bond (Tokuyama); *Clearfil SE Bond* (Kuraray) e One Up Bond F (Tokuyama). As técnicas adesivas foram aplicadas nos respectivos substratos de acordo com as orientações dos fabricantes e duas camadas, de 1mm cada, de resina composta Z250 (3M) foram aplicadas sobre a área de teste. Os fragmentos foram seccionados e preparados para observação em MEV. Os resultados quanto a espessura de camada híbrida, mostraram que os sistemas adesivos que empregaram condicionamento ácido separadamente tiveram comportamentos semelhantes em função dos substratos, sendo que em dentina úmida a espessura de camada híbrida encontrada foi maior do que em dentina desidratada e reumidificada. Porém os sistemas adesivos autocondicionante apresentaram diferentes performances, quando comparados aos primeiros, apresentando melhores resultados em dentina reumidificada. Entende-se que as condições de substrato dentinário e os sistemas adesivos apresentaram interação e isso determina que as técnicas adesivas realizadas em

dentina previnam o colapso das fibras colágenas, que ocorre pela utilização de ar comprimido como meio de secagem da mesma.

Toledano et al.¹¹² em 2003, realizaram um estudo para determinar a resistência adesiva de cinco sistemas adesivos na dentina superficial e profunda. Foram usados trinta molares humanos extraídos, dos quais se obteve secções transversais na coroa, próximo ao LAD ou pacientes, que necessitavam de preparos para prótese fixa. Para a fase *in vitro*, 35 terceiros molares recém-extraídos foram obtidos a partir de um protocolo para pesquisa, armazenados em solução de cloramina por até um mês. Foram utilizados quatro sistemas adesivos autocondicionantes (Adper Prompt, 3M ESP; Xeno III, Dentsply De Trey; One-Up Bond F, Tokuyama Corp.; iBond, Heraeus Kulzer) e um sistema adesivo autocondicionante de dois passos como controle (UniFil Bond, CG Corp.). Cinco dentes foram destinados para cada um dos sistemas adesivos. Para o estudo *in vivo* quatro dentes de cada grupo foram analisados em MEV. A análise *in vitro* incluiu cinco dentes para cada sistema adesivo. Para cada dente a condutância hidráulica foi medida em três tempos: a) após o condicionamento ácido para a determinação da máxima condutância; b) após a formação de *smear layer*; c) após a aplicação do sistema adesivo. Dez dentes foram usados na segunda parte do estudo *in vitro* com o emprego de uma resina como material de impressão; dois dentes de cada grupo foram analisados em MET. Os autores observaram que a presença de *smear layer* reduziu a condutância para 12-18% da apresentada por dentina condicionada com ácido. A condutância *in vitro* da dentina aderida com os quatro sistemas adesivos foi semelhante ou maior do que aquela da dentina recoberta por *smear layer*. Em contra posição a condutância da dentina submetida ao controle foi significativamente menor do que a dentina recoberta por *smear layer*. Os autores concluíram que nenhum sistema adesivo autocondicionante produziu maior selamento da dentina comparado àquele promovido pela *smear layer*, nos testes *in vivo* e *in vitro*.

Anido³ em 2005, comparou a dentina humana (H) e bovina (B) quanto à profundidade de desmineralização com ácido fosfórico a 37% (AF) e com *primer* ácido (PR) e quanto à espessura da hibridização empregando-se um sistema adesivo autocondicionante *Clearfil SE Bond* - Kuraray (CS) e convencional Adper Single Bond - 3M ESPE (SB), seguindo instruções dos fabricantes. Empregaram-se 15 incisivos humanos e 15 bovinos, extraídos e congelados. Fatias de dentina foram obtidas da porção vestibular de 10 dentes, destinadas à análise da desmineralização. Os espécimes receberam uma camada de verniz em sua porção cervical (controle). Após o tratamento com o ácido fosfórico ou com o *primer*, as fatias foram fraturadas. Cinco dentes humanos e bovinos destinaram-se à análise da hibridização na porção média de dentina. Foram seccionados, divididos em duas hemi-coroas, isolados com verniz (controle), submetidos ao SB e CS e ao desafio químico ácido-base. As amostras foram processadas para análise ao MEV do perfil de adesão e desmineralização. Obtidas quatro medidas e a média para cada amostra, realizou-se a ANOVA ($p < 0,05$) e teste Tukey (5%). Os grupos apresentaram resultados em μm , semelhantes estatisticamente, para a profundidade de desmineralização com AF (H: $4,62 \pm 1,14$; B: $4,92 \pm 1,12$) e PR (H: $1,41 \pm 0,20$ e B: $1,57 \pm 0,16$) e para hibridização com CS (H: $1,53 \pm 0,11$; B: $1,97 \pm 0,16$) e SB (H: $3,43 \pm 1,13$; B: $4,31 \pm 1,28$). Concluiu-se que: H e B apresentaram comportamento similar durante os procedimentos adesivos; SB promoveu maior profundidade de desmineralização e espessura de hibridização; e que B podem substituir H em estudos laboratoriais da performance inicial de sistemas adesivos.

O desafio de condicionar e hibridizar a dentina simultaneamente com adesivos autocondicionantes foi estudado por Carvalho et al.²⁰, em 2005. Espécimes da superfície de dentina de terceiros molares humanos foram submetidos à adesão com cinco adesivos autocondicionantes de aplicação em passo único e cinco adesivos autocondicionantes de dois passos na técnica de aplicação.

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

A adesão longitudinal continua a representar um dos maiores desafios da Odontologia Moderna. Uma nova proposta para o estabelecimento do equilíbrio da adesão aos tecidos dentários surge, baseada na observação dos resultados obtidos com a tecnologia *Grander* para revitalização da água. Gonçalves³⁷ em 2005, realizou um estudo para verificar a influência dessa tecnologia nas propriedades físicas de dois sistemas adesivos (convencional e autocondicionante) à partir da medição da tensão superficial e do ângulo de contato; e avaliar a

formação e a qualidade da camada híbrida em dentina humana e bovina. A tensão superficial de quatro diferentes líquidos (água, Single Bond- 3M, *Primer* do *Clearfil SE Bond* -Kuraray, e Bond do Clearfil SE-Kuraray), foi medida antes e após a modificação pelo procedimento Grandeur em aparelho goniômetro (Ramé-hart). O ângulo de contato com três substratos distintos (placa de titânio, dentina humana e dentina bovina), foi medido para os quatro líquidos também antes e após a modificação pelo procedimento Grandeur, também em goniômetro. A formação e qualidade da camada híbrida, foi avaliada em MEV, a partir da confecção de corpos de prova dos substratos humano e bovino, devidamente embutidos, preparados em lixas de variada granulação até a exposição de dentina, submetidos ao procedimento adesivo (SB ou CSEB) normal ou grandeur modificado, recebendo ao final dupla camada de resina composta Z250-3M, fotopolimerizada por 40s. Após armazenamento em estufa bacteriológica por 24h, os procedimentos para análise ao MEV foram realizados (fixação, desidratação, secagem e metalização). A estatística de Análise de Variância ANOVA e Teste de Tukey 5% revelou que: houve redução estatisticamente significativa da tensão superficial para todos os líquidos Grandeur modificados; houve redução estatisticamente significativa do ângulo de contato no substrato humano para todos os líquidos Grandeur modificados; houve aumento estatisticamente significativo da espessura da camada híbrida para os dois sistemas adesivos Grandeur modificados; o sistema adesivo convencional normal ou Grandeur modificado apresentou valores de espessura da camada híbrida superiores ao autocondicionante.

Peumans et al.⁸⁶ em 2005, realizaram um trabalho de revisão de literatura sobre a efetividade clínica dos adesivos contemporâneos quando usados para restaurar lesões cervicais de classe V não cariosas. A retenção de restaurações em função do tempo foi relatada com o intuito de verificar se adesivos com o procedimento de aplicação simplificado são clinicamente efetivos como os adesivos

convencionais de três passos. Foi revisada pelos autores a literatura publicada de Janeiro de 1998 a Maio de 2004 pelo centro universitário clínico de triagem que testou a efetividade clínica dos adesivos em lesões Classe V não cariosas. Os índices de retenção de restaurações por adesivos reportadas em artigos revisados, bem como resumos do IADR-AADR e resumos do ConsEURO, foram incluídos e registrados em função do tempo em gráficos para cada uma das 5 classes de adesivos (convencionais de dois e três passos, autocondicionantes de um e dois passos e ionômero de vidro). As orientações de materiais adesivos para esmalte e dentina desenvolvido pela ADA foram usadas como referência. Foi calculado o índice (%) de falha anual para cada classe. Em seguida, foram feitas análises e comparações aos pares através dos testes estatísticos Kruskal-Wallis e Dwass-Steel-Chritchlow-Fligner para determinar diferenças estatísticas entre as porcentagens de falha anual das 5 categorias de adesivos. Foi realizada a comparação da retenção de restaurações de Classe V adesivas e mensurada para determinar a efetividade de adesão clínica de adesivos. Os resultados mostraram que os ionômeros de vidro apresentaram maior efetividade e durabilidade de adesão aos tecidos dentais. Os adesivos convencionais de três passos e os autocondicionantes de dois passos mostraram ser confiáveis clinicamente pelo bom prognóstico de performance clínica. A efetividade clínica dos adesivos convencionais de dois passos não foi favorável, enquanto uma performance clínica ineficiente foi notada para os adesivos autocondicionantes de um passo. Os autores concluíram que embora existe uma tendência à utilização de adesivos com procedimentos de aplicação simplificados, a simplificação até o momento, parece induzir a perda de efetividade clínica.

Preocupados com a sensibilidade técnica dos adesivos autocondicionantes de passo único, Van Meerbeek et al.¹²⁰ em 2005 discutiram os principais pontos negativos inerentes a estes sistemas. Assim, consideraram que, além da formação da camada híbrida, os

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

2.2 Laser Nd:YAG

Dederich et al.²⁴, em 1984 com o propósito de avaliar a capacidade do laser Nd:YAG em promover a fusão da parede dentinária do canal radicular, utilizaram oito primeiros e segundos molares inferiores humanos extraídos, que foram instrumentados até a lima nº 25. A dentina circundante dos canais foi pintada com tinta de cor preta para aumentar a absorção pelo laser. Foi utilizado o Nd:YAG com níveis de potência de 25W, 37W e 50W, com fibra óptica de 600µm de diâmetro, a 3mm da dentina com um tempo de aplicação da ordem de 0,5s. Após a avaliação dos espécimes em MEV constataram que ocorreu fusão e recristalização

tanto dos *plugs* dentinários quanto da dentina circundante. Observaram que, o grau de fusão variava de mínimo a completo. Foi relatada ainda a presença de espaços e trincas em alguns espécimes, sendo necessários mais estudos para determinar parâmetros de exposição capazes de promover fusão da dentina sem produzir espaços, trincas e calor no tecido.

White et al.¹²⁶, em 1992, realizaram um estudo sobre a temperatura e a profundidade de penetração do laser de Nd:YAG em esmalte e dentina, utilizando terceiros molares livres de cárie submetidos à irradiação do mesmo laser. Os parâmetros variaram de 0,3 a 3,0W, 10 a 30Hz e 30 a 150mJ/pulso. A temperatura de superfície após irradiação sobre o esmalte foi de $57^{\circ}\text{C} \pm 11^{\circ}\text{C}$ (parâmetros: 1W e 10Hz, 1s) e para dentina, todas as potências e frequências testadas, no tempo de 1s, apresentaram temperaturas inferiores à 50°C . Segundo os autores quando a potência e tempo de exposição aumentaram, ambos, temperatura de superfície e penetração térmica aumentaram. O laser aumentou a temperatura em menores níveis, para tratamentos rápidos com frequências e potências baixas, quando comparado com pontas montadas. Os autores concluíram que o laser de Nd:YAG pode ser utilizado em esmalte e dentina sem efeitos térmicos pulpares e, além disso, a temperatura criada pela irradiação seria capaz de ablacionar tecidos orgânicos do esmalte e da dentina. Os autores ressaltam que apesar das temperaturas atingidas com a irradiação, o diâmetro da área quente na superfície e, a distância de penetração em direção à polpa foram significativamente inferiores às aquelas obtidas com brocas.

Muitos agentes adesivos requerem que a superfície da dentina seja previamente condicionada por ácido para que haja adesão. O conhecimento da estabilidade e morfologia da superfície da dentina condicionada é importante para melhorar a resistência adesiva e confiabilidade destes sistemas. Assim, Kinney et al.⁴⁶ em 1995, realizaram um estudo para quantificar através da microscopia de força atômica

(MFA), mudanças dimensionais que ocorrem na dentina totalmente hidratada durante desmineralização com um gel de ácido láctico de pH 4,0. Foram utilizados 6 terceiros molares humanos recém extraídos. Os dentes foram esterilizados por radiação gama e armazenados em água filtrada a 4°C até serem preparados. As coroas foram seccionadas paralelamente à superfície oclusal com 1,5mm de espessura. Três espécimes foram escolhidas aleatoriamente para análise em Microscópio Tomográfico Raio X (MTRX). Para o estudo em MTRX o esmalte foi eliminado e a superfície da dentina foi polida com pasta de alumina de granulação 0,05µm e limpas em ultra-som com água deionizada. Não foi detectada nas superfícies a presença de *smear layer*. Em seguida, uma resina fotolitográfica positiva foi colocada sobre a superfície, deixando regiões de dentina exposta e regiões cobertas para proporcionar uma referência para o mensuramento de contração durante a desmineralização. As três amostras do MFA foram identicamente preparadas, embora o esmalte tenha sido removido. Foi utilizado o MFA Digital Instruments Nanoscope III (Digital Instruments, Santa Bárbara, CA, EUA) para mensuração das mudanças na dentina peritubular e intertubular durante a desmineralização em gel, contendo 25mM de ácido cítrico, 100mM de ácido láctico, 10% de gelatina e 0,1% de timol em pH 4,0. Foi também utilizado o MTRX para mapear a distribuição mineral no dente com o mesmo gel desmineralizante. As amostras foram submetidas à desmineralização por aproximadamente 10, 20, 40 e 80h em temperatura constante de 37°C. A dentina intertubular diminuiu para menos de 0,5µm durante a desmineralização, enquanto a dentina peritubular recuou em um rápido índice linear inicialmente. A superfície da dentina manteve sua morfologia inicial, embora tenha ficado mais porosa com a remoção da dentina peritubular. Abaixo da superfície atacada houve três zonas mais caracterizadas pelas diferenças de densidade mineral. A primeira zona foi uma camada de colágeno totalmente desmineralizada, subjacente a qual foi uma zona parcialmente desmineralizada de densidade mineral

irregularmente constante. Imediatamente subjacente a camada parcialmente mineralizada estava a dentina normal. Os autores concluíram que a presença de camada parcialmente mineralizada pode ser explicada em termos de índices diferentes de transporte na dentina peritubular e intertubular.

White e Goodis¹²⁵ em 1996, utilizaram a espectroscopia de Infravermelho de Transformada de Fourier (*Fourier Transform Infrared* - FTIR) para analisar a composição química da dentina normal e desmineralizada após a irradiação com o laser de Nd:YAG em contato com o tecido dental em questão. Os parâmetros utilizados foram: 4W, 10Hz, 400mJ/pulso, largura de pulso de 150 μ s, e densidade de energia de 203J/cm². Os autores observaram que o espectro infravermelho obtido (de 4400 a 400 número de onda) com medidas repetidas, antes e depois do tratamento com laser de Nd:YAG revelou que ocorreram modificações, nas superfícies de dentina sadia, em relação à concentração de fosfato e também remoção de colágeno. A modificação provocada pelo laser de Nd:YAG nas superfícies de dentina desmineralizada produziram uma alteração no fosfato com algum remanescente de colágeno. Foi observado que tanto a dentina sadia quanto a desmineralizada, quando modificada pelo laser de Nd:YAG, demonstrou picos de mineral a 1100 e 1033 cm⁻¹, similares ao do controle de hidroxiapatita. Em suma, a análise por FTIR indicou que o laser foi capaz de remover o componente orgânico da dentina, primariamente o colágeno. Este estudo demonstrou que os picos de colágeno no espectro desapareceram e que os autores observaram um aumento no picos de minerais após o tratamento a laser quando comparado com a desmineralização que pareceu similar a hidroxiapatita.

Em 1997, Eduardo et al.²⁵ compararam a resistência ao cisalhamento de uma resina composta aderida à superfície do esmalte dental após condicionamento com ácido fosfórico a 35% ou com a irradiação de laser Nd:YAG, com densidade de energia de 165,8 J/cm²

por pulso. Após o condicionamento e restauração com resina, os corpos foram termociclados e submetidos ao teste de cisalhamento em uma velocidade de 0,5mm/min. Após a análise estatística pelo teste *t* de *Student*, verificou-se uma maior adesão no grupo tratado somente com ácido do que no grupo tratado com laser.

Gonçalves³⁵, em 1997 realizou um trabalho tendo como objetivo avaliar os efeitos do pré-tratamento da dentina com irradiação laser, condicionamento ácido e hipermineralização, na resistência de união do sistema adesivo Scotchbond Multi-Purpose Plus (3M), frente ao teste de cisalhamento. Foram empregados sessenta incisivos bovinos íntegros, extraídos imediatamente após o abate e conservados em freezer a -18°C por não mais de 14 dias. Após a exposição da superfície dentinária vestibular, radiografias foram tomadas pela técnica do cone longo, com a finalidade de controlar a espessura do remanescente dentinário. Os espécimes foram divididos em dois grupos: a) controle, imerso em água destilada e conservado em geladeira a 4°C até o descongelamento e b) mineralizado, imerso em solução hipermineralizante por 14 dias, em geladeira por 4°C. Cada grupo foi subdividido em três subgrupos, conforme o pré-tratamento da dentina: F-conforme fabricante (condicionamento ácido + *primer* + adesivo); AL (condicionamento ácido + *primer* + adesivo + laser); LA (laser + condicionamento ácido + *primer* + adesivo). Um cilindro padronizado de resina composta (Z100 3M) foi confeccionado sobre a superfície dentinária e a resistência adesiva, ao cisalhamento, testada em máquina Instron Universal 4301, com carga de 500Kg e uma velocidade de 0,5mm/min. O modelo estatístico de ANOVA (5%), revelou que os pré-tratamentos influenciaram significativamente à resistência adesiva ($p < 0,05$), sendo que os maiores valores de resistência foram obtidos para as interações Controle / AL (11,64 MPa), Mineralizado / F (8,29 MPa) e Mineralizado / AL (8,28 MPa). O modelo estatístico de Ancova, com nível de significância de 5%, revelou que a espessura de dentina foi

devidamente controlada e não influenciou significativamente a resistência adesiva. Os resultados obtidos frente ao teste de cisalhamento e difração de raios X e MEV sugeriram que o pré-tratamento da dentina com laser, após a aplicação do sistema adesivo, é promissor na criação de um novo substrato e na obtenção de maiores valores de resistência adesiva.

Schaller et al.⁹⁹, em 1997 investigaram os efeitos do tratamento com laser Nd:YAG na permeabilidade da dentina. Foram utilizados 40 discos de dentina, obtidos pela seção horizontal da coroa de 3º molares recém-extraídos e livres de cárie. Os discos foram regularizados com lixa d'água de granulação 600 até a espessura de 3,5mm e colocados em um dispositivo para mensurar a mudança na permeabilidade da dentina antes e após o tratamento com o laser. A mensuração foi realizada através do grau de filtração dos túbulos dentinários, por meio de uma solução radioativa de Ringer sobre uma pressão de 30cmH₂O. Em seguida, os discos foram aleatoriamente divididos em quatro grupos. Em três grupos a dentina recebeu tratamento com o laser Nd:YAG (American Dental Laser Inc – Troy EUA) - comprimento de onda de 1,060µm, no modo contato com fibra óptica de 320µm nos seguintes parâmetros: Grupo 1: 60mJ e 10Hz, Grupo 2: 90mJ e 10Hz e Grupo 3: 120mJ e 15Hz. O grupo 4 (controle) não recebeu tratamento com laser. Todos os grupos receberam condicionamento com ácido fosfórico 32% por 60s. A permeabilidade dentinária foi quantificada três vezes antes do tratamento, três vezes imediatamente após o tratamento com laser e seis vezes após a aplicação de ácido fosfórico. O teste ANOVA mostrou uma significativa influência do tratamento com o laser Nd:YAG na permeabilidade da dentina ($p < 0,001$). O coeficiente médio do grupo controle e o grupo tratado com laser foi $2,19 \pm 0,86$ para o parâmetro de 60mJ, $1,49 \pm 0,88$ para o parâmetro de 90mJ e $2,04 \pm 2,17$ para o de 120 mJ. O condicionamento ácido da superfície tratada com laser teve significativa influencia estatística na permeabilidade da dentina somente no grupo 1 ($p < 0,001$). Os autores concluíram que o tratamento

com laser Nd:YAG modifica a superfície da dentina causando um aumento na ácido resistência, mais evidente para o parâmetro de 120mJ.

Ariyaratnam et al.⁷ em 1999, investigaram a rugosidade, morfologia, composição e resistência adesiva da superfície dentinária após o tratamento com laser de Nd:YAG. Para o estudo, foram utilizados molares humanos permanentes recém extraídos, os quais foram seccionados, obtendo-se setenta espécimes que foram divididos em sete grupos (n=10), aleatoriamente. As superfícies dentinárias foram irradiadas pelo Nd:YAG laser, usando diferentes pulsos e intensidades de energia. A análise das características da superfície dentinária foi feita por um perfilômetro. Os resultados foram analisados pelo programa SPSS/PC e foi realizado o teste de variância múltipla. Os espécimes foram examinados através de MEV. A resistência adesiva da dentina/resina composta, tratada com laser, e sem tratamento por laser, penas tendo recebido o sistema adesivo convencional (Gold Standard, Chameleon Dental Products) também foi determinada. A análise estatística mostrou que a superfície dentinária dos espécimes tratados com laser apresentou-se qualitativamente diferente quando comparada à dentina não tratada. A exposição aos raios laser promoveu a formação de microfendas. A adesão da resina composta à dentina previamente tratada com laser não foi significativamente diferente da dentina não tratada, apesar de que a rugosidade da superfície da dentina exposta ao laser foi significativamente maior que a dentina não irradiada pelo laser ($p<0,05$). Esse estudo concluiu que o condicionamento da dentina com laser de Nd:YAG em condições experimentais não produziu resultados semelhantes àqueles obtidos pelo sistema adesivo convencional.

Gonçalves et al.³⁶, em 1999, realizaram um estudo com o objetivo de avaliar os efeitos do pré-tratamento da dentina com irradiação a laser, condicionamento ácido e hipermineralização na resistência adesiva ao cisalhamento do agente de união Scotchbond Multi-Usa Plus (3M). Para tanto, utilizaram superfícies dentinárias vestibulares de

incisivos bovinos divididas em dois grupos: controle, armazenado em água destilada até o experimento e hipermineralizado, imerso em solução mineralizante por 14 dias. Cada um destes grupos citados foi subdividido em três grupos, de acordo com o pré-tratamento da dentina: segundo normas do fabricante – F (condicionamento ácido+ *primer* + adesivo); AL (condicionamento ácido+ *primer* + adesivo + laser) e LA (laser + condicionamento ácido + *primer*+ adesivo). Após a inserção dos cilindros de resina composta, procedeu-se o teste, de resistência adesiva. Os dados foram submetidos ao teste estatístico ANOVA. Os resultados demonstraram que o pré-tratamento da dentina com laser após a aplicação do sistema adesivo, grupo AL, foi promissor na criação de um novo substrato, originando os maiores valores de resistência adesiva.

Kawabata et al.⁴⁵, em 1999 testaram *in vitro* os efeitos dos lasers de CO₂, Nd:YAG e Er:YAG na morfologia da dentina por meio do selamento dos túbulos dentinários. Foram utilizados trinta pré-molares humanos, hígidos, recém extraídos mantidos congelados em soro fisiológico até o uso. O esmalte foi removido até a exposição da dentina. A dentina foi polida com lixa d'água de granulação 400 a 800 e uma área de 4x3mm² foi delimitada para a irradiação com laser. os dentes foram divididos em três grupos de acordo com o laser utilizado. G1: foi utilizado laser CO₂ LX-20SP (Novapulse, Luxar Co, EUA) para aplicação em pulso normal (PN) e super pulso (SP) com potência de 2W, faixa de 10 a 100ms e frequência variando de 2 a 20Hz. O laser foi aplicado em cinco padrões para cada tipo de pulso: PN1: 10ms e 10Hz; PN2: 10ms e 20Hz, PN3: 20ms e 20Hz; PN4: 50ms e 2Hz e PN5: 100ms e 2Hz. Para o super pulso (SP) a potência foi de 2W, a faixa de 10 a 15ms e a frequência de 2 a 30Hz. Os padrões de irradiação foram: SP1: 10ms e 10Hz; SP2: 10ms e 20Hz; SP3: 10ms e 30Hz; SP4: 15ms e 2Hz e SP5: 15ms e 5Hz. Ambos PN e SP foram aplicados a uma distância de 1mm, usando uma ponta cerâmica de 0,8mm de diâmetro. G2: uma tinta foi aplicada na área a ser irradiada. O laser utilizado foi Nd:YAG (SLT, Japão) aplicado a uma

distância de 1mm e um nível de energia de 50 a 200mJ/pulso e frequência de 10Hz, usando fibra óptica de 0,6mm de diâmetro. G3: Utilizado o Er:YAG Erwin (Hoya and Morita) foi aplicado no modo contato sob refrigeração. O nível de energia foi de 50-200mJ/pulso, frequência de 10Hz e uma ponta de 0,6mm em contato foi empregada. As amostras foram preparadas para a análise em MEV (JCXA-733, JEOL) em 12Kv. Metade das amostras foram usadas para observar a superfície irradiadas. A outra metade foi cortada verticalmente na superfície irradiada para observar suas secções longitudinais. Para avaliar os efeitos dos lasers na dentina tubular, cinco amostras foram preparadas, expostas a cada tipo de laser sob cada série de condições. Na dentina não irradiada, os túbulos não foram visíveis devido a presença de *smear layer*. A aplicação de laser de CO₂ resultou em selamento dos túbulos dentinários, sendo que os do super pulso também apresentaram na superfície rugosidade e rachadura. A aplicação de laser Nd:YAG na energia de 50 a 100 mJ/pulso resultou na formação de estrutura fundida, com fendas e irregularidades. Quando a energia foi de 150mJ/pulso foram observadas umas estruturas esféricas em adição ao aspecto de fundição. No corte longitudinal foi observado selamento dos túbulos dentinários. No grupo Er:YAG os túbulos dentinários permaneceram abertos após a aplicação do laser em todas as condições, a superfície irradiada ficou irregular; a secção longitudinal também revelou túbulos dentinários não selados. No teste de penetração do corante quando o laser de CO₂ foi aplicado no pulso de 50ms para o normal e 15ms para o SP, a penetração do corante foi profunda comparada com os outros pulsos, mas não alcançou a cavidade pulpar. Quando o Nd:YAG foi aplicado no nível de energia de 50-100mJ/pulso, o corante não alcançou a cavidade pulpar e sua penetração foi suprimida se comparada as amostras não irradiadas; quando o nível de energia foi de 150mJ/pulso, o corante penetrou a cavidade pulpar. No Er:YAG ocorreu penetração de corante na cavidade pulpar em todas as condições. Os autores concluíram que o laser Er:YAG não selou os

túbulos dentinários, já o laser Nd:YAG selou os túbulos, mas produziu microrachaduras de vários tamanhos, enquanto o laser CO₂ se mostrou capaz de selar os túbulos dentinários, sendo o SP particularmente proveitoso uma vez que não induziu carbonização e fendas excessivas. Também observaram que o uso do CO₂ foi mais adequado para o selamento dos túbulos para o propósito de revestimento e que as condições ótimas foi largura do pulso de 10 a 20ms e frequência de 10 a 20Hz no PN e largura de 10ms e frequência de 10 a 30Hz para o SP.

Matos et al.⁵⁵ em 1999, avaliaram a resistência adesiva de uma resina composta a dentina tratada com laser Nd:YAG antes e após o procedimento adesivo. Foram utilizados trinta incisivos humanos recém extraídos e não cariados, incluídos em resina acrílica com a superfície vestibular voltada para cima. A superfície foi desgastada até a exposição da dentina, em baixa rotação, em seguida, a superfície foi aplainada por disco de lixa d'água de granulação 600 por 1min. As amostras foram divididas em três grupos de acordo com o tratamento da dentina. G1: Controle – aplicação de ácido fosfórico 35% por 20s, lavado e delicadamente seco e aplicadas duas camadas Single Bond (3M), sendo cada uma fotopolimerizada por 20s; G2: a superfície da dentina foi irradiada com laser Nd:YAG e os mesmos procedimentos que G1; G3: mesmo que G1, porém a segunda camada de Single Bond não foi fotopolimerizada. A amostra foi irradiada com laser Nd:YAG Pulse Máster 1000 (American Dental Technology, MI, EUA) com comprimento de onda de 1,064μm, 0,6W, 15Hz e 40mJ/ pulso com fibra óptica de 400μm, no modo contato a 1mm de distância por 30s. Sobre as amostras, espécimes em resina composta Z100 (3M, St. Paul, MW) foram construídas com 3mm de diâmetro por meio de uma matriz de *teflon*. A resina composta foi inserida em três incrementos sendo cada um polimerizado por 40s com uma intensidade de luz de 460mW/cm². As amostras foram armazenadas em água destilada por 24h a 37°C. Em seguida foi realizado o teste de resistência adesiva em máquina universal Instron, modelo 4442 (Instron

Corp, Canton, MA) a uma velocidade de 0,5mm/min. A análise de variância $p<0,05$ determinou que o tipo de tratamento dentinário usado teve influência na resistência adesiva. O teste de Tukey determinou, entretanto, que o G1(15,46MPa) e G3 (15,67MPa) tiveram resultados similares, ambos maiores do que o G2 (4,57MPa). Os autores concluíram que o tipo de tratamento dentinário, especialmente o uso do laser Nd:YAG, teve influência na resistência adesiva da resina composta.

Matos et al.⁵⁶, em 2000 realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a resistência adesiva de uma resina composta em esmalte e dentina tratados com laser de Nd:YAG antes e após procedimento de adesão, utilizando um sistema adesivo autocondicionante. Foram utilizados 48 dentes humanos hígidos recém extraídos os quais foram submetidos a profilaxia e armazenados em água destilada a 37°C até a sua utilização. Os dentes foram embutidos em resina acrílica com a superfície vestibular voltada para cima e tiveram a superfície do esmalte exposta por meio de lixa d'água de granulação 180. Após a realização dos testes de resistência adesiva no esmalte, os mesmos dentes tiveram a superfície desgastada até obtenção da dentina superficial, sendo a *smear layer* padronizada para realização dos testes de adesão, por meio de lixa d'água de granulação 600 por 1min. As amostras foram divididas em 6 grupos, de acordo com o substrato e o tipo de tratamento: GI (controle) – esmalte com Clearfil Liner Bond 2V (J.Morita Corp, Osaka, Japão). (CLB2V) seguindo recomendações do fabricante; GII – irradiação do esmalte com Nd:YAG + CLB2V; GIII – esmalte + CLB2V sem fotopolimerização + irradiação com Nd:YAG; GIV (controle) – dentina + CLB2V; GV – dentina + Nd:YAG + CLB2V; GVI – dentina + CLB2V sem fotopolimerização + Nd:YAG. O laser Nd:YAG Pulse Máster 1000 (American Dental Technology, MI) com $\lambda=1,064\mu\text{m}$ e 150 μs de duração do pulso. Os parâmetros usados foram 0,6W, 15Hz e 40mJ/pulso com fibra óptica de 320 μm perpendicular a superfície dental, a 1mm da superfície por 30s. Em seguida, foram feitos dois incrementos

cilíndricos de 3mm de diâmetro da resina composta Clearfil APX (J.Morita, Japão), com auxílio de uma matriz de *teflon*. Cada incremento foi fotopolimerizado por 40s com aparelho XL 1500 com $460\text{W}/\text{cm}^2$ de intensidade de luz (Demetron Research Corp, Danbury). As amostras foram armazenadas em água destilada por 24h a 37°C e, então, submetidas ao teste de resistência adesiva em máquina universal Instron modelo 4442 (Instron Corp, Canton, MA), com uma velocidade constante de $0,5\text{mm}/\text{min}$. Os dados foram submetidos aos testes ANOVA e Tukey. A média para o esmalte foi de $15,54\text{MPa}$, menor do que a média para a dentina $20,38\text{MPa}$. A resistência adesiva dos grupos em que o laser foi aplicado na dentina antes do adesivo, foi em média $15,73\text{MPa}$ sendo menor do que os grupos em que o laser foi depois do adesivo $20,6\text{MPa}$. A interação dos resultados entre os grupos GI x GIII; GII x GIII; GIV x GI; GII x GV foi estatisticamente significativa. Os autores concluíram que a resistência adesiva da resina composta com o sistema adesivo autocondicionante foi maior em dentina do que em esmalte e que o melhor momento para a aplicação do Nd:YAG é após o uso do sistema adesivo. O sistema adesivo autocondicionante testado pode ser usado juntamente com o laser Nd:YAG sem comprometer a adesão à dentina.

Araújo et al.⁶, 2001 avaliaram a microinfiltração através da Microscopia Óptica e a nanoinfiltração, através de MEV em restaurações de resina composta sob influência do laser no preparo cavitário e no pré-tratamento dentinário. utilizaram para o preparo com laser de Er:YAG (Kavo Key, Alemanha) 350mJ , 4Hz e $116,7\text{J}/\text{cm}^2$, e para pré-tratamento dentinário com laser de Nd:YAG (Pulse Máster 1000-ADT) foi utilizado 60mJ , 10s e densidade de energia de $74,6\text{J}/\text{cm}^2$. Utilizaram oitenta dentes bovinos com preparos nas faces vestibular e lingual, totalizando 160 preparos que foram divididos em oito grupos de vinte dentes cada um. G-I (preparo com laser de Er:YAG + Prime & Bond NT + TPH), G-II (preparo com laser Er:YAG + Single Bond + Z100), G-III (preparo com laser Er:YAG + Single Bond + laser de Nd:YAG + Z100), G-IV (preparo com laser

Er:YAG + Prime & Bond NT + laser de Nd:YAG + TPH), G-V (preparo convencional + Prime & Bond NT + TPH), G-VI (preparo convencional+ Single Bond + Z100), G-VII (preparo convencional + Single Bond + laser de Nd:YAG + Z100), G- VIII (preparo convencional + Prime & Bond NT + laser de Nd:YAG + TPH). Os dentes restaurados foram termociclados por 300 ciclos nas temperaturas entre $5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $55^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (30s cada temperatura). Em seguida foram colocados no nitrato de prata 50% por 24h, em total ausência de luz e colocados em solução foto-reveladora sob luz fluorescente por 6h, para o teste de infiltração marginal. Foram seccionados no sentido inciso gengival obtendo três fatias. A avaliação da microinfiltração na margem gengival foi feita através de lupa estereomicroscópica segundo escores de zero a quatro. A fatia mediana foi polida e preparada para avaliação da nanoinfiltração em MEV. Os resultados foram submetidos à análise estatística de Kruskal-Wallis e teste de Miller, através dos quais o grupo G3 (LSNd), preparo com laser Er:YAG + Single Bond + laser Nd:YAG, apresentou os menores valores quanto a microinfiltração e nanoinfiltração.

Matsumoto et al.⁵⁸ em 2001, realizaram um estudo com objetivo de analisar a morfologia da dentina irradiada pelo laser de Nd:YAG, através do MEV e do MET. Dos dez molares humanos utilizados, cinco foram avaliados pelo MEV e cinco pelo MET. Os parâmetros de energia e frequência utilizados para o laser foram: 200mJ, 20Hz, 2W e tempo de irradiação de 5s. O MEV mostrou uma superfície irregular, amorfa e com aspecto de fusão. O MET revelou três zonas distintas, sendo elas, pequena porção fundida; recristalização e fusão; e aspecto normal. Os autores concluíram que algumas alterações morfológicas como a recristalização ou fusão da dentina podem ser observadas após a aplicação do laser, sendo um importante achado que pode contribuir para o aumento da resistência adesiva.

Oda et al.⁷⁰ em 2001, revisaram na literatura o emprego do laser Er:YAG e laser Nd:YAG em Dentística Restauradora, como

tratamento operatório prévio ao procedimento adesivo e restaurador, avaliando morfológicamente a união adesivo/resina composta e dentina tratada com irradiação por meio de um estudo comparativo por MEV. Utilizaram dentes bovinos recém-extraídos, submetidos a uma profilaxia e armazenados em soro fisiológico a 0,9% até o início dos trabalhos. Foram preparadas cavidades de classe V, (na face vestibular dos dentes com dimensões de aproximadamente 4mm de altura, 6mm de largura e 3mm profundidade), com ponta diamantada cilíndrica no 1092 (KG Sorensen) em alta rotação e total refrigeração. Os espécimes foram divididos em quatro grupos: G1 - os preparos receberam um tratamento na superfície da dentina com laser Er:YAG, seguido dos procedimentos adesivos (Single Bond - frasco único - 3M) e material restaurador (resina composta Z100 - 3M), ambos seguindo as instruções do fabricante; G2 - teve o tratamento idêntico ao anterior, porém com laser Nd:YAG; G3 - teve o tratamento com laser Er:YAG, procedimento adesivo, sem o condicionamento ácido, e finalmente o restaurador; G4 - teve o tratamento idêntico ao anterior, porém com laser Nd:YAG. Nesse trabalho, foi utilizado o laser Nd:YAG Pulse Máster 1000 com comprimento de onda de 1,064 μ m, com parâmetros 0,6W, 15Hz, 40mJ. O tempo de irradiação foi de 30s, a uma distância de 1mm, com refrigeração a ar. O laser Er:YAG utilizado foi o modelo Kavo Key Laser, com comprimento de onda de 2,94 μ m, com parâmetro de 2Hz, 80mJ focados durante 30s em varredura. O foco ideal foi estabelecido entre 12 e 15mm da lente até o tecido irradiado. A refrigeração deste aparelho ocorreu através de um *spray* de água, que atuou no processo de ablação. Todos os elementos dentais foram seccionados no sentido longitudinal com auxílio de cinzel e martelo, no centro da restauração e foram adequados para a leitura em MEV, através de secagem em estufa a 37°C, por 12h e montados em "*stubs*". Em seguida as amostras foram metalizadas com ouro num aparelho Balzers SCD - 040, e analisados em MEV. Na análise observou-se que o grupo 1 (laser Er:YAG com condicionamento ácido) houve a penetração

do adesivo na dentina. No grupo 2 (laser Nd:YAG com condicionamento ácido) foi possível observar a linha de união da dentina com o adesivo, não havendo abertura de túbulos dentinários, sugerindo que os túbulos estavam vedados. No grupo 3 (laser Er:YAG sem condicionamento ácido), notou-se que a superfície dentinária encontrava-se com abertura de túbulos, porém a resina estava espalhada, sem penetração. No grupo 4 (laser Nd:YAG sem condicionamento ácido), foi possível observar a falta de abertura dos túbulos dentinários. Comparativamente, em todas as amostras tratadas com Er:YAG, as com condicionamento ácido, a resina não se encontrava espalhada na superfície dentinária, já as sem condicionamento ácido, apesar da abertura dos túbulos, a resina encontrava-se espalhada, sem penetração. Com base nas observações microscópicas, concluíram que ocorreu a penetração nos espécimes tratada com laser Er:YAG e condicionamento ácido, portanto deve-se fazer o procedimento adesivo completo quando se utilizar o laser Er:YAG.

Sazak et al.⁹⁸, em 2001 realizaram um estudo para verificar o efeito do laser de Nd:YAG, abrasão, jateamento e condicionamento ácido no conteúdo mineral e morfologia da dentina e esmalte. Foram utilizados dez terceiros molares humanos recém extraídos, limpos e armazenados em solução de formalina a 10% (pH 7), por no máximo um mês. Foram seccionados transversalmente na junção esmalte-cimento com disco diamantado em baixa rotação. De cada coroa, foram obtidos quatro fatias de esmalte e dentina, resultando em quarenta superfícies. As fatias de esmalte foram obtidas através de dois cortes longitudinais nas coroas dos molares. Já as fatias de dentina foram obtidas através de uma secção transversal no meio oclusal da coroa e dois cortes longitudinais. Em seguida, as fatias foram embutidas em blocos de resina acrílica quimicamente ativada e divididas em quatro grupos. G1- controle : não recebeu tratamento; G2: a superfície foi atacada por ácido fosfórico 37% (3M Dental Products, EUA) sendo 60s em esmalte e 30s em dentina em seguida as superfícies foram lavadas

com água e secas com jato de ar. G3: foi utilizado o laser de Nd:YAG Pulse Máster 600 (American Dental Technology Corp., EUA) com $\lambda=1,064\mu\text{m}$ com fibra óptica de $320\mu\text{m}$ de diâmetro em contato, os parâmetros foram 0,75J de energia e 15Hz de frequência por 2s. Antes da aplicação do laser, a superfície do esmalte foi pintada com tinta preta para melhor absorção da luz laser. G4: foi feito jateamento com partículas de oxido de alumínio de $50\mu\text{m}$ a uma pressão de 60psi no aparelho KCP 1000 Whispyet (American Dental Technology Inc) o tempo de aplicação foi de 2s em esmalte e 1s na dentina a uma distância de 2mm da superfície. As amostras foram preparadas para análise morfológica em MEV (JEOL JSM T330, Japão) em 20Kv. O conteúdo de cálcio, fósforo, enxofre e potássio no esmalte de cada amostra foi mensurada por meio de MEV e um Espectrômetro de energia dispersiva (Tracor Northen Inc, X Ray Detectors, WI53562, EUA) simultaneamente. As diferenças no conteúdo do mineral entre controle e os grupos tratados foram analisadas usando o teste de Mann-Whitney V. Morfologicamente, a dentina tratada com laser mostrou uma superfície aparentemente fundida com obstrução parcial dos túbulos dentinários, bem como rachaduras ao longo da sua extensão. O jateamento criou uma superfície muito irregular no esmalte e na dentina, além da obliteração dos túbulos dentinários. Já na dentina condicionada por ácido foram observados túbulos dentinários. O conteúdo de cálcio no esmalte tratado por laser foi maior do que do grupo controle, embora não significativa. A única mudança significativa no conteúdo mineral foi a redução de Ca na dentina do grupo controle em relação a dentina tratada por laser. Os autores concluíram que o Nd:YAG e o jateamento criaram uma irregularidade de superfície maior, em menos tempo do que o condicionamento com ácido fosfórico no esmalte e dentina. Entretanto, a irradiação com laser causou mudanças no conteúdo mineral da superfície de esmalte e dentina. Mais estudos devem ser realizados para determinar o exato relacionamento do grau de irregularidades na superfície, resistência adesiva e microinfiltração.

Kuwana⁴⁹, em 2005 realizou um estudo com o objetivo de avaliar em MEV o efeito da irradiação com os lasers Er:YAG e Nd:YAG na superfície da dentina bovina normal, desmineralizada e hipermineralizada, bem como a resistência da união entre estas e uma resina composta sobre um sistema adesivo autocondicionante. Para tanto, foram utilizados 84 incisivos bovinos, despulpados e incluídos em resina acrílica. Em seguida, a superfície vestibular foi desgastada até a obtenção da dentina de profundidade média. As amostras foram divididas em três grupos de 28 amostras cada, de acordo com as seguintes variáveis: GI – dentina normal, GII – dentina desmineralizada (gel desmineralizante por 7 dias) e GIII – dentina hipermineralizada (solução hipermineralizante por 14 dias). Em todas as amostras, uma área de 3mm de diâmetro foi delimitada para a aplicação dos lasers. Logo após, os 3 grupos, foram divididos em 2 subgrupos (A e B). O subgrupo A, recebeu a irradiação com laser Er:YAG no modo não contato com 40mJ de energia/pulso, 6Hz por 30s e o B, recebeu a irradiação com laser Nd:YAG no modo contato com 60mJ de energia/pulso, 10Hz por 30s. Em seguida, 72 amostras receberam o sistema adesivo *Clearfil SE Bond* (Kuraray) e inserção da resina composta híbrida *Tetric Ceram* (Vivadent) pela técnica incremental, utilizando-se matriz bipartida, sobre a área irradiada. Após 24h de armazenagem em água destilada a 37°C, as amostras foram submetidas ao teste de resistência ao cisalhamento em máquina universal (EMIC) a uma velocidade de 1,0mm/min. Duas amostras de cada subgrupo (12), tiveram a superfície analisada em MEV, antes e após o tratamento com laser. Os resultados foram submetidos aos testes estatísticos de Análise de Variância (ANOVA) e de Tukey. Independentemente do tipo de dentina, a união adesiva das amostras que sofreram irradiação pelo laser Nd:YAG foram mais resistentes do que irradiadas pelo laser Er:YAG; a maior resistência adesiva foi encontrada no grupo do laser Nd:YAG na dentina hipermineralizada e a menor resistência, foi encontrada no grupo do laser Er:YAG sobre a dentina hipermineralizada. Na análise

morfológica, a dentina desmineralizada apresentou a região peritubular irregular, sugerindo fragilidade e a dentina hipermineralizada, obliteração de túbulos sugerindo deposição de minerais. A irradiação com laser Er:YAG promoveu nos três tipos de dentina, abertura de túbulos, irregularidades e desníveis com maior profundidade na dentina desmineralizada. A irradiação com laser Nd:YAG promoveu nos três tipos de dentina, áreas de fusão e outras com abertura de túbulos dentinários. Na dentina desmineralizada ocorreram microrachaduras e na hipermineralizada desníveis de superfície.

Ribeiro⁹⁴ em 2005, comparou a resistência adesiva da dentina condicionada com ácido fosfórico 37% ou com laser Er:YAG e, posteriormente, pré-tratada ou não com o laser Nd:YAG. Para tanto, foram utilizados 56 molares humanos hígidos, os quais tiveram a porção coronária dividida em três fatias. As fatias do meio, com espessura de 2mm, foram fixadas em resina acrílica e a superfície dentinária foi exposta com lixas d'água. A área adesiva foi delimitada por uma fita seladora com perfuração de 3mm de diâmetro. Os espécimes foram, então, divididos em quatro grupos, os quais receberam quatro diferentes formas de tratamentos: GRUPO 1 (controle)= ácido fosfórico 37% + sistema adesivo Single Bond - SB (3M-ESPE); GRUPO 2= ácido fosfórico 37%, + SB + Nd:YAG (140mJ, 10Hz); GRUPO 3= Er:YAG (60mJ, 10Hz) + SB; GRUPO 4= Er:YAG (60mJ, 10Hz) + SB + Nd:YAG (140mJ, 10Hz). Na seqüência, os sistemas adesivos foram fotopolimerizados por 10s, seguidos da confecção das restaurações de resina composta Z100 (3M) por meio de uma matriz metálica. Então, os corpos-de-prova foram armazenadas em água a 37°C por uma semana. Posteriormente, foram submetidas ao ensaio mecânico de cisalhamento a uma velocidade de 0,5mm/min e carga de 100Kgf. As superfícies fraturadas foram analisadas em lupa estereoscópica. Os resultados foram tabulados e submetidos ao teste estatístico de ANOVA ($p<0,05$) e revelaram não haver diferença estatisticamente significativa entre G1 ($17,05\pm4,15$) e G2 ($16,90\pm3,36$).

Porém, os mesmos apresentaram maiores médias de resistência adesiva do que G3 ($12,12 \pm 3,85$) e G4 ($12,92 \pm 2,73$), que também não apresentaram diferença estatística significativa entre si. O autor concluiu que o condicionamento convencional com ácido fosfórico promoveu resultados mais favoráveis de adesão à dentina e o tratamento com o laser Nd:YAG foi indiferente.

A modificação dos tecidos duros por meio da irradiação laser está tornando-se popular na odontologia, visto que promove respostas variadas entre o dente e o material restaurativo. Alguns estudos de resistência adesiva de sistemas adesivos aos dentes irradiados com Nd:YAG mostraram comportamentos distintos quando a irradiação foi realizada antes ou depois do agente adesivo. Segundo este contexto, Franke et al.³⁰, em 2006, avaliaram *in vitro* a microtração de um sistema adesivo comercial a dentina irradiada com o laser de Nd:YAG após a aplicação do sistema adesivo e previamente a polimerização. Para tanto, utilizaram dentes humanos recentemente extraídos como amostras. Para o teste de microtração, os dentes foram divididos em 4 grupos diferentes de acordo com a densidade de energia da irradiação laser: 0, 5, 10 e 50 J/cm². Os dados foram submetidos a análise estatística através de análise de variância (ANOVA) e testes LSD. Os resultados mostraram que o grupo irradiado com 5 J/cm² obteve valores de resistência adesiva significativamente mais elevados. A penetração do sistema adesivo na dentina foi observada em microscopia eletrônica de varredura. As imagens mostraram a melhor penetração adesiva nos túbulos dentinários na dentina irradiada com 5 J/cm². Baseado nos resultados deste estudo, os autores concluíram que a irradiação da dentina com o laser de Nd:YAG em baixas densidades de energia após a aplicação do adesivo mas previamente polimerização pode ser positivo para o processo de restauração adesiva.

3 PROPOSIÇÃO

O estudo se propõe a avaliar a qualidade da camada híbrida formada em dentina bovina após a aplicação de sistemas adesivos convencional ou autocondicionante, associados ou não à irradiação com laser Nd:YAG com 60 ou 140mJ/cm² de energia por pulso, previamente à fotopolimerização. A avaliação será realizada em MEV e baseada nos seguintes parâmetros:

1. Espessura da camada híbrida em µm;
2. Homogeneidade, presença de fendas e porosidades;
3. Presença de *tags* e *microtags*.

4 MATERIAL E MÉTODO

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP, sob protocolo nº 11/2007-PA/CEP para pesquisa envolvendo animal (Apêndice D).

4.1 Materiais empregados

Os materiais utilizados neste experimento (Figuras 1, 2, 3 e 4), suas respectivas características e composições, encontram-se relacionados no Quadro 1:

Quadro 1 - Materiais empregados, fabricantes, características do produto e composição

Nome	Fabricante	Características do produto / Composição
Clearfil SE Bond	Kuraray Japão	Sistema Adesivo Autocondicionante. <i>Primer:</i> MDP, HEMA, dimetacrilatos hidrofílicos, dicanforoquinona, N, N-Dietanol p-toluidina, água. <i>Adesivo:</i> MDP, BisGMA, dimetacrilatos hidrofóbicos, dicanforoquinona, N, N-Dietanol p-toluidina, Sílica coloidal silanizada.
Condicionador Dental Gel	Dentsply Brasil	Ácido fosfórico a 37% em gel
Adper Single Bond	3M do Brasil	Adesivo: HEMA, BisGMA, dimetacrilato dicanforoquinona, copolímeros dos ácidos poliacrílico e poli-itacônico, água, álcool e fotoiniciadores.
Laser de Nd: YAG	Pulse Master 600 IQ (American Dental Technology-USA)	Comprimento de onda de 1,064µm e fibra óptica de 320µm, utilizado no modo não-contato
Filtek Z350	3M do Brasil	Resina composta fotopolimerizável, indicada para uso em dentes anteriores e posteriores. As partículas inorgânicas são uma combinação de matriz de zircônia/sílica com tamanho médio de 0,6 a 1,4µm, com tamanho de partículas primário de 5 a 20nm e uma incorporação de sílica de 20nm não aglomerada. Partículas inorgânicas 78,5% em peso e 59,5% em volume. Composição: resinas bis-GMA, UDMA, TEGDMA e bis-EMA.

4.2 Preparo das amostras

Foram empregados nesta pesquisa 12 incisivos inferiores, hígidos e irrompidos, recém extraídos de bovinos, limpos, armazenados em água destilada e congelados em freezer a -18°C até a sua utilização (CAMPS et al.¹³, 1996; ARAÚJO et al.⁵, 1999), não ultrapassando 28 dias (TONAMI et al.¹¹³, 1996).

As raízes foram seccionadas no terço médio, com auxílio de um disco de carburundum e desprezadas. Em seguida, a polpa

coronária foi extirpada através de curetas dentinárias e limas endodônticas, a câmara pulpar irrigada com água destilada e seca com breves jatos de ar (Figura 6A). O orifício radicular foi vedado com cera utilidade.

Os dentes foram incluídos em resina acrílica incolor de rápida polimerização (Clássico Artigos Odontológicos – Ind. Bras.), em sua porção radicular (Figura 6B), de modo que o longo eixo ficasse perpendicular à base da matriz (RAUSCHER⁹¹, 2003). O conjunto foi imerso em água, para evitar elevação da temperatura da resina por reação exotérmica (HUHTALA⁴², 1999).

A borda incisal dos dentes foi desgastada em máquina recortadora de gesso (Figura 7), de forma a expor a dentina e criar uma superfície plana facilitando a próxima etapa, onde os dentes foram adaptados a uma máquina recortadora (Labcut Extec) em baixa rotação com o auxílio de um disco diamantado, sob refrigeração constante com água, para a secção vertical da coroa no sentido inciso-cervical acompanhando seu longo eixo, dividindo a coroa em duas metades ou, hemi-coroas (Figura 8). Em seguida realizou-se uma secção horizontal, na região do colo dos dentes, a fim de separarmos as porções mesial e distal das coroas (Figura 9). A câmara pulpar, face incisal e região cervical expostas, foram seladas com o auxílio de cera utilidade (Figura 10A).

Nesta fase os espécimes foram novamente incluídos, com o auxílio de uma matriz de silicone pesada e resina acrílica incolor de rápida polimerização, de modo que a parede pulpar vestibular ficasse paralela à base da matriz, para a padronização da orientação dos túbulos dentinários (RAUSCHER⁹¹, 2003; ANIDO³, 2005; GONÇALVES³⁷, 2005). Novamente o conjunto foi imerso em água, para evitar elevação da temperatura da resina por reação exotérmica (HUHTALA⁴², 1999).

As superfícies dentárias foram desgastadas por meio de uma lixa d'água de carbetto de silício de granulação 80, adaptada a um recortador de gesso (Kohl Bach Motores Elétricos), sob refrigeração com

água, para a remoção do esmalte e exposição da dentina. Durante este procedimento, foi utilizado um espessímetro (Otto-Arminger & Cia Ltda. RS, Brasil), verificando-se constantemente, a espessura da dentina até se chegar à porção média (Figura 10B). A espessura de dentina padronizada foi correspondente à dentina média de cada dente, por ser esta a porção dentinária bovina mais semelhante à humana (ANIDO², 2001; CORRÊA et al.²¹, 2003).

As superfícies dentinárias expostas foram regularizadas com lixas d'água seqüenciais de granulação 100, 180, 240, 320, 400 e 600 por 30s em cada, em Politriz (Dp-10 Panambra Industrial e Técnica AS) a 600 rotações por minuto (rpm), refrigeradas à água (PASHLEY et al.⁷⁸, 1993; ANIDO², 2001; RAUSCHER⁹¹, 2003; ANIDO³, 2005; GONÇALVES³⁷, 2005). Na seqüência, as superfícies dentinárias foram limpas com pedra pomes e água, com o auxílio de escova de Robinson montada em micromotor em baixa rotação, por 10s, para a remoção de possíveis detritos e com solução detergente (Tergensol) para a eliminação de resíduos oleosos provenientes do micromotor.



Figura 1 - Ácido fosfórico a 37% em gel - Condicionador Dental Gel (Dentsply, Brasil) e adesivo Adper Single Bond (3M ESPE, Dental Products)

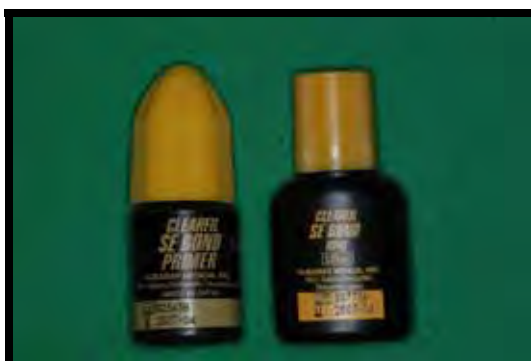


Figura 2 - Sistema adesivo *Clearfil SE Bond* (Kuraray Medical Inc)



Figura 3 - Resina composta Filtek Z350, cor A2 (3M ESPE, Dental Products)



Figura 4 - Laser de Nd:YAG
Pulse Master 600
IQ (American
Dental
Technology-USA)

4.3 Divisão dos grupos

As 18 hemi-coroas foram identificadas e delimitadas com o auxílio de uma fita adesiva de *teflon* com duas perfurações de $9,8\text{mm}^2$ de área, fixada sobre a região da dentina exposta, ficando separadas as porções incisal e cervical de cada amostra (Figura 11B).

Cada hemi-coroa, foi sempre submetida em sua porção incisal (**I**) ao sistema adesivo *Adper Single Bond (SB)* e em sua porção cervical (**C**) ao sistema adesivo autocondicionante *Clearfil SE Bond (CSEB)*, aplicados seguindo as recomendações dos fabricantes .

As amostras foram divididas em 3 grupos de 6 hemi-coroas cada:

a) Grupo Controle – após a aplicação dos sistemas adesivos foi realizada a fotopolimerização;

b) Grupo 1 – após a aplicação dos sistemas adesivos a amostra foi irradiada com laser Nd:YAG com 60mJ de energia/pulso e em seguida a fotopolimerização;

c) Grupo 2 – após a aplicação dos sistemas adesivos a amostra foi irradiada com laser Nd:YAG com 140mJ de energia/pulso e em seguida a fotopolimerização.

4.4 Preparo das amostras para análise da hibridização

Na porção incisal de cada hemi-coroa, foi realizado o condicionamento com ácido fosfórico 37% por 15 segundos, lavagem, secagem com papel absorvente e aplicação do sistema adesivo convencional *SB*, seguido de um breve jato de ar. Na porção cervical, foi realizada aplicação do sistema adesivo autocondicionante *CSEB*, iniciando pelo *primer* autocondicionante, 20s de espera e aplicação de um breve jato de ar; aplicação do *bond*, seguido de um breve jato de ar.

No grupo controle, após a aplicação dos sistemas adesivos, foi realizada a fotopolimerização de ambos por 10s, com aparelho XL 3000 (3M ESPE) com intensidade de 500mW/cm^2 , seguindo as recomendações dos fabricantes. Nos grupos 1 e 2, antes da fotopolimerização, a dentina coberta pelo sistema adesivo foi irradiada com laser Nd:YAG no modo não contato por 60s. Grupo 1: 60mJ de energia por pulso, frequência de 10Hz, resultando na densidade de energia de $74,72\text{J/cm}^2$. Grupo 2: 140mJ de energia por pulso, frequência de 10Hz, resultando na densidade de energia de $174,34\text{J/cm}^2$.

Assim, os grupos ficaram esquematizados da seguinte maneira (Quadro 2 e Figura 5):

Quadro 2 – Grupos de estudo

Grupos	Sistema Adesivo	Procedimento
Controle	<i>SB</i>	fotopolimerização por 10s
Controle	<i>CSEB</i>	
G1	<i>SB</i>	laser 60mJ + fotopolimerização por 10s
G1	<i>CSEB</i>	
G2	<i>SB</i>	laser 140mJ + fotopolimerização por 10s
G2	<i>CSEB</i>	

Todas as amostras receberam a aplicação de dois incrementos da resina composta *Filtek Z350* (3M ESPE), fotopolimerizados por 20s cada, seguindo as recomendações do fabricante (Figura 12).

Após armazenagem em água destilada a 37°C por 24hs, as amostras foram preparadas para análise em MEV.

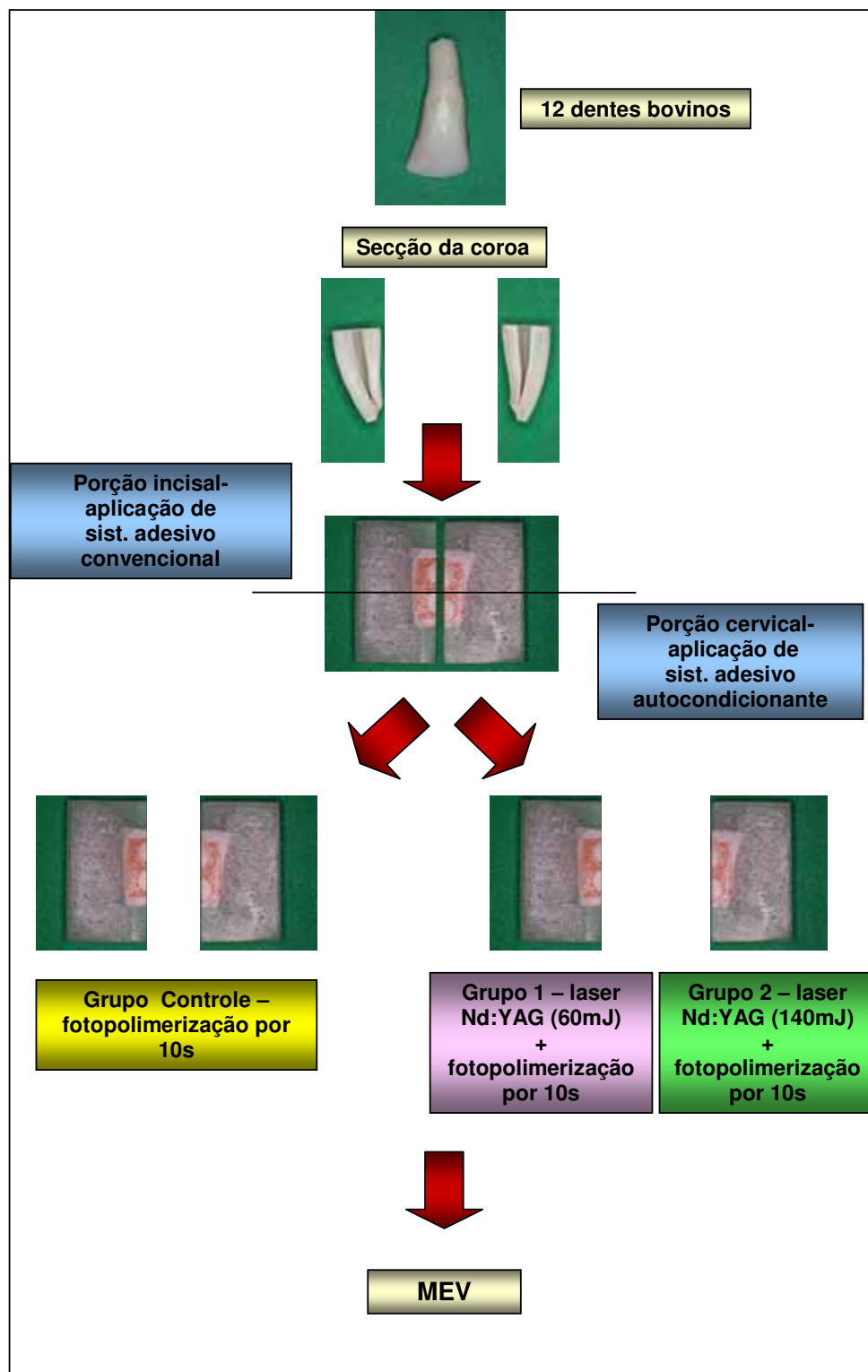


Figura 5 – Representação da distribuição das amostras de acordo com o Grupo.

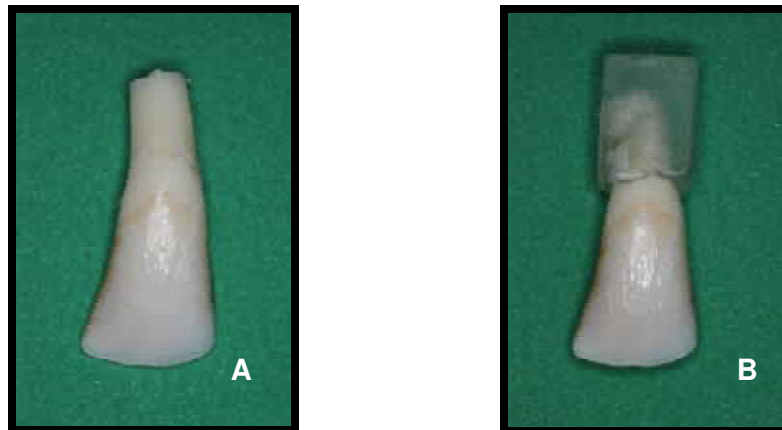


Figura 6 – Preparo das amostras: a) dente bovino com a raiz seccionada; b) dente bovino após primeiro embutimento.

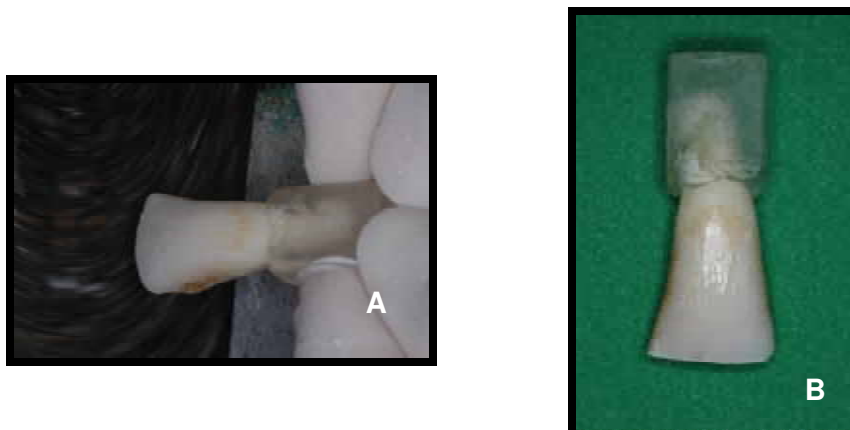


Figura 7 – Preparo das amostras: a) desgaste incisal dos dentes em recortador de gesso; b) dente bovino com a incisal desgastada.



Figura 8 – Preparo das amostras: a e b) secção da coroa do dente bovino no sentido incisivo-cervical com disco diamantado em Labcut.

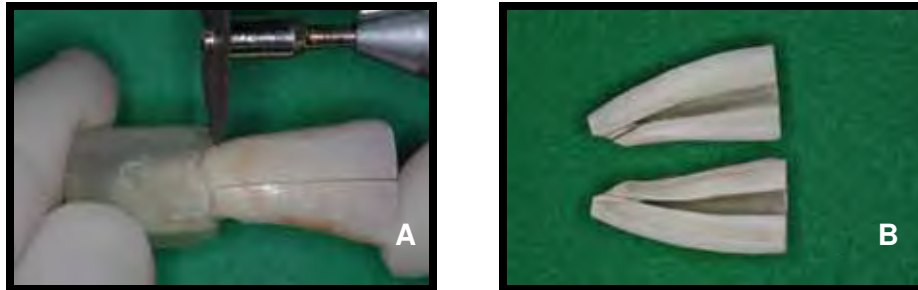


Figura 9 – Preparo das amostras: a) secção na região cervical com disco de carborundum em peça-de-mão; b) perfil das hemi-coroas obtidas.

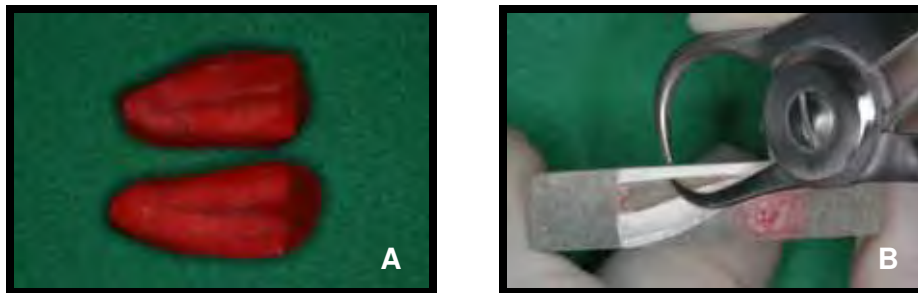


Figura 10 – Preparo das amostras: a) selamento das hemi-coroas com cera utilidade para posterior embutimento em resina acrílica; b) padronização da espessura de dentina com auxílio de um espessímetro.

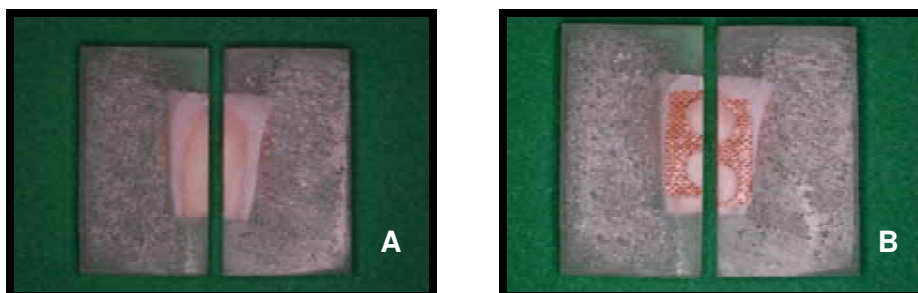


Figura 11 – Divisão dos grupos: a) hemi-coroas após padronização da *smear layer* em Politriz ; b) delimitação da dentina por meio de fita adesiva *teflon*, dividindo as hemi-coroas em porções incisal e cervical, para posterior aplicação dos sistemas adesivos convencional e autocondicionante, respectivamente e divisão das amostras nos três grupos de estudo.

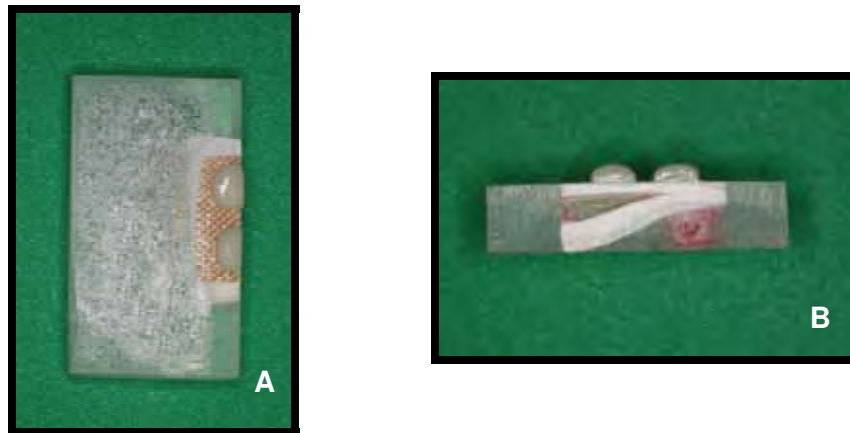


Figura 12 - Preparo das amostras para análise da hibridização: a) confecção de blocos de resina composta, em dois incrementos ; b) perfil das hemi-coroas com os blocos de resina composta.



Figura 13 - Preparo das amostras para análise da hibridização: no perfil da hemi-coroa, as áreas a serem preparadas e analisadas em MEV.

4.5 Preparo das amostras para análise em MEV

4.5.1 Análise da interface adesiva

Os perfis de adesão de todas as hemi-coroas dos dentes foram submetidos a um polimento, em politriz, refrigerada por água, com lixa d'água de granulação 600 por 30s; lixa de carbetto de silício de granulações decrescentes 1200 e 4000, por 60s. Foram também utilizadas, pastas diamantadas de 3 μ m e 1 μ m, por 60s.

Os espécimes foram seccionados com disco de diamante flexível sob refrigeração, retirando a hemi-coroa do embutimento em resina acrílica, adequando para a análise ao microscópio. Para limpeza dos debris gerados pelo polimento, as amostras foram levadas ao aparelho ultra-som (Ultrasonic Cleaner, Thornton Unique) para a remoção de possíveis detritos sobre a superfície dentinária (VAN MEERBEEK et al.¹¹⁷, 1992; TORRES et al.¹¹⁵, 2004) por 3min e imersos em álcool absoluto (VAN MEERBEEK et al.¹¹⁷, 1992; PERDIGÃO et al.⁸¹, 1994; RAUSCHER⁹¹, 2003). Em seguida, foram submetidas a um desafio ácido-base (ácido clorídrico 6N por 15s, seguido de hipoclorito de sódio a 1% por 10min) para revelar a subsuperfície da interface de união (NAKABAYASHI et al.⁶³, 1982; NAKABAYASHI et al.⁶², 1992; PERDIGÃO et al.⁸¹, 1994; PERDIGÃO et al.⁸³, 1996; RAUSCHER⁹¹, 2003; ANIDO³, 2005). Este procedimento também permite avaliar a resistência da camada híbrida frente ao desafio químico.

4.5.2 Fixação

Posteriormente todos os espécimes foram fixados para insolubilizar as proteínas. Este procedimento é necessário para assegurar a estrutura das células e dos tecidos de espécimes biológicos (JUNQUEIRA e CARNEIRO⁴³, 1999). Para o processo de fixação das

estruturas orgânicas, os corpos-de-prova foram imersos em uma solução de glutaraldeído a 2,5% em tampão de Cacodilato de Sódio 0,1M a 4°C, num pH de 7,4 por 12hs. Em seguida, foram lavados em solução de 0,2M de tampão de Cacodilato pH de 7,4 por 1h, com três trocas da substância seguida de água destilada por 10min (BOYDE e WOOD¹⁰, 1969; PERDIGÃO et al.⁸³, 1996; DAMETTO²³, 2006).

4.5.3 Desidratação

Para a obtenção de vácuo dentro do microscópio todos os espécimes foram desidratados em concentrações ascendentes de etanol 30%, 50%, 70%, por 20min cada, etanol 90% por 30min e etanol 100% por 60min (PERDIGÃO et al.^{81,83}, 1994 e 1996; VAN MEERBEEK et al.¹¹⁹, 2000; RAUSCHER⁹¹, 2003; ANIDO³, 2005).

4.5.4 Secagem

Os espécimes foram submetidos à secagem em hexametildisilaxane (Fluka Chemika, Switzerland) (HMDS), que permite a secagem sem comprometer sua estrutura. Para tanto, foram imersos e acondicionados por 15min, em recipiente fechado (VAN MEERBEEK et al.¹¹⁹, 2000).

4.5.5 Colagem das amostras nos stubs e metalização

Após a fixação em suporte metálico de alumínio (*stub*), com o auxílio de fita adesiva de carbono (3M), as superfícies das amostras receberam uma fina camada de ouro em aparelho metalizador (MED 010, Balzers), por 3min. Este procedimento foi realizado com o objetivo de se obter um anteparo para os elétrons gerados pelo microscópio, possibilitando a captação da imagem superficial. Posteriormente, as amostras foram examinadas em MEV (JSM - 5310, JEOL, Instituto de Pesquisas Espaciais – INPE, São José dos Campos,

SP), em 15KV, a uma distância de trabalho variando de 7 a 10mm. As imagens foram coletadas através de um computador acoplado ao MEV. Os aumentos utilizados foram os de 2000 e 5000X.

4.6 Análise dos resultados

As interfaces adesivas foram avaliadas considerando os aspectos morfológicos através da análise da espessura e a qualidade da hibridização com diferenças morfológicas de *tags* e *microtags*, bem como, presença de falhas caracterizadas por fendas e porosidades. Para a análise de espessura, foram selecionadas e fotografadas quatro regiões da camada híbrida em cada amostra para uma melhor padronização das medidas. Em seguida, foram obtidas as medidas da espessura da camada híbrida em micrometros através do software Image J 1.38x (Wayne Rasband, National Institute of Health – USA, <http://rsb.info.nih.gov/ij/Java 1.6.0 02>).

Previamente à mensuração de cada espessura realizou-se a calibração do programa por meio da barra de medidas, localizada na parte inferior de cada imagem. Esta manobra teve como objetivo a precisão das medidas obtidas em cada imagem.

Em seguida, nestas imagens foi realizada análise morfológica da presença de falhas e de *tags* e *microtags*, segundo escores apresentados nos Quadros 3 e 4 e Figuras 14 e 15.

Quadro 3 – Escore para falhas (Rauscher⁹¹, 2003)

Escore	Fendas	Porosidades
0	Não	Não
1	Não	Sim
2	Sim	Não
3	Sim	Sim

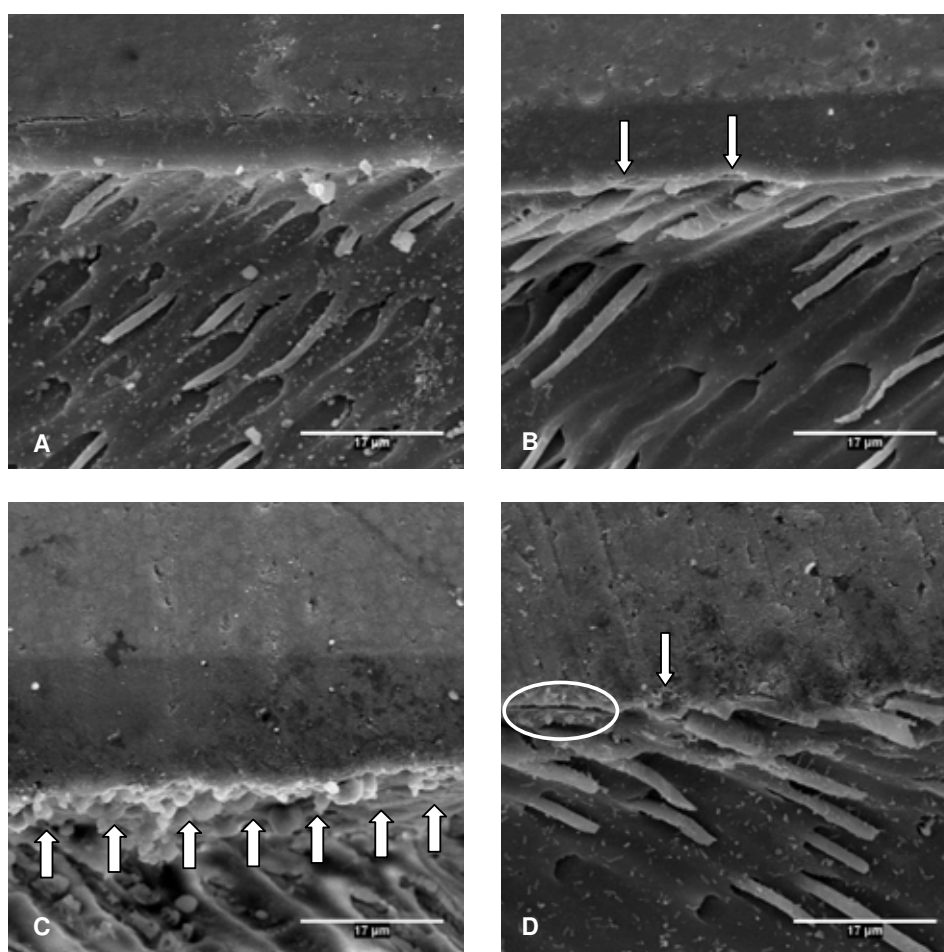


Figura 14 – Representação dos escores atribuídos para presença de fendas e porosidades na camada híbrida, aumento de 2000X: A) 0: ausência de fendas e porosidades, camada homogênea; B) 1: presença de porosidades (setas) e ausência de fendas; C) 2: ausência de porosidades e presença de fendas (toda a extensão entre camada híbrida e dentina - setas); D) 3: presença de porosidades (seta) e fendas (círculo).

Quadro 4 – Escores para *tags* e *microtags*

Escores	<i>Tags</i>	<i>Microtags</i>
0	Não	Não
1	Sim	Não
2	Sim	Sim

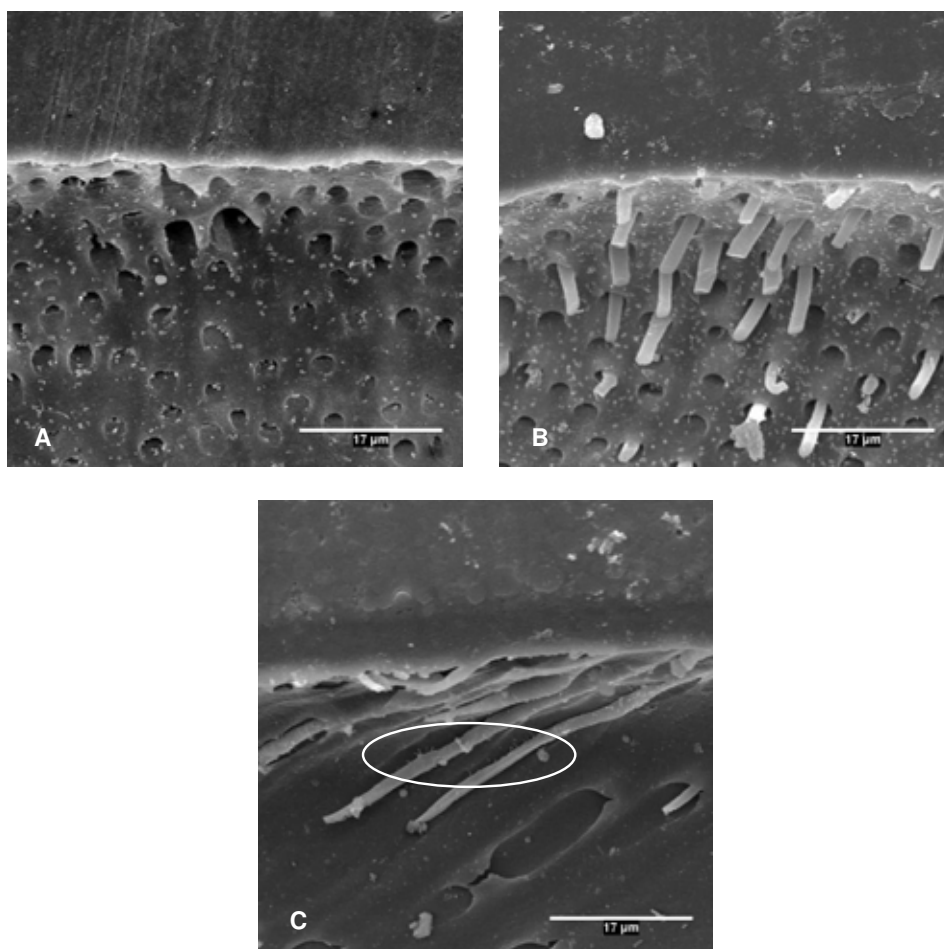


Figura 15 - Representação dos escores atribuídos para presença de fendas e porosidades na camada híbrida, aumento de 2000X: A) 0: ausência de *tags* e *microtags*; B) 1: presença de *tags* e ausência de *microtags*; C) 2: presença de *tags* e ausência de *microtags* (círculo).

4.7 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos aos testes estatísticos: Parte I: Análise de Variância (ANOVA) a dois fatores e de comparações múltiplas de Tukey a um nível de significância de 5%. Parte II: Múltiplas comparações entre proporções a um nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 Análise estatística

Em nosso estudo, efetuamos o experimento fatorial do tipo 2 x 3. Consideramos duas variáveis independentes, sistema adesivo e tratamento. O primeiro fator relativo ao tipo de sistema adesivo apresentou duas categorias: **Single Bond (SB)** e **Clearfil SE Bond (CSEB)**. O segundo fator, relativo ao tipo de tratamento, apresentou três categorias: **Sem irradiação laser (Controle)**, **Irradiação com Nd:YAG - 60mJ/cm² (G1)** e **Irradiação com Nd:YAG 140mJ/cm² (G2)**.

A análise estatística foi dividida em duas partes: parte I – Espessura e parte II – Escores. A variável dependente (resposta) considerada na primeira parte foi o valor de espessura da camada híbrida obtido em medidas (μm) de quatro regiões fotografadas, enquanto que a variável resposta considerada na segunda parte foi a distribuição de escores atribuídos para presença de fendas e porosidades e de *tags* e *microtags*.

A unidade experimental foi o quadrante da coroa do dente bovino restaurado.

Nosso experimento fatorial 2 x 3 apresenta seis tratamentos, ou condições experimentais, em comparação. Efetuamos 6 réplicas em cada condição experimental (6 corpos de prova por grupo).

De cada réplica (unidade experimental), selecionamos quatro imagens de microscopia eletrônica de varredura totalizando 24

imagens para cada condição experimental. Obtivemos, portanto, 72 dados a serem analisados pelos métodos estatísticos.

5.1.1 Parte I – Espessura da camada híbrida

Os dados obtidos das medidas de espessura de camada híbrida (Apêndice A), foram submetidos à análise estatística por meio do programas computacionais: MINITAB (Minitab, version 14.12, 2004), STATISTICA (StatSoft, version 5.5, 2000) e STATISTIX (versão 8.0, 2003, Analytical Software).

A estatística descritiva consistiu no cálculo de médias e desvios padrão, apresentada na Tabela 1 e representada pelo gráfico de colunas (Figura 1), mostrados a seguir.

Tabela 1 - Média ($\pm$ desvio padrão) dos dados de espessura da camada híbrida (μm) obtidos nas imagens de microscopia eletrônica de varredura sob dois tipos de sistema adesivo em três tipos de tratamento.

ADESIVO	TRATAMENTO			
	Controle	G1	G2	linha ($m \pm dp$)
SB	$1,78 \pm 0,12$	$1,82 \pm 0,14$	$1,88 \pm 0,15$	$1,83 \pm 0,14$
CSEB	$1,36 \pm 0,14$	$1,71 \pm 0,25$	$1,91 \pm 0,16$	$1,66 \pm 0,29$
coluna ($m \pm dp$)	$1,57 \pm 0,25$	$1,77 \pm 0,20$	$1,89 \pm 0,15$	

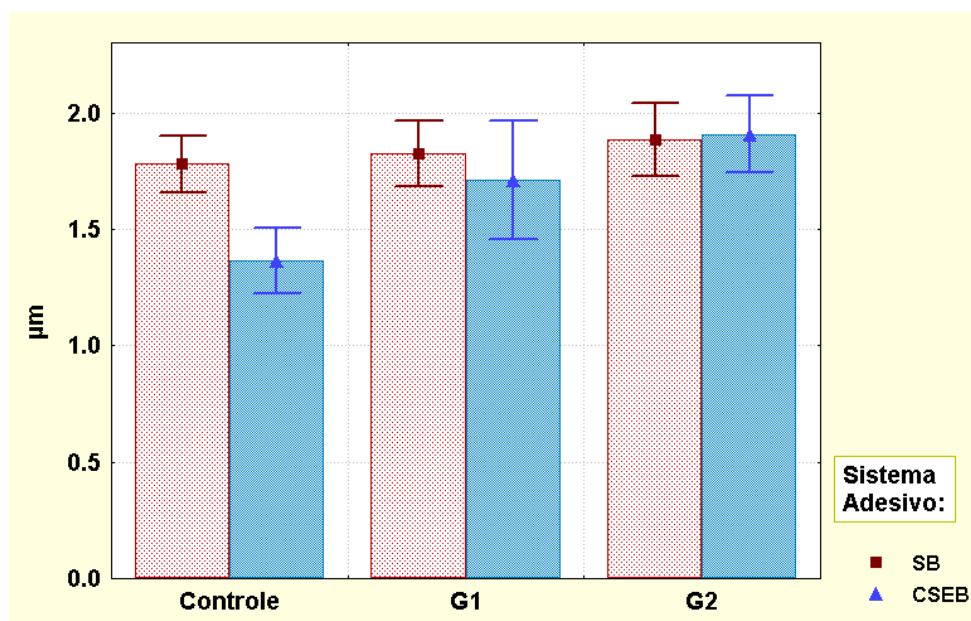


Figura 16 - Gráfico de colunas (média±desvio padrão) dos dados de espessura da camada híbrida obtidos, para as seis condições experimentais.

Verifica-se, com as informações acima, que os valores médios de espessura do **G2** são superiores aos valores obtidos para os demais grupos, independentemente do tipo de sistema adesivo adotado. Podemos afirmar também, que a menor média de espessura da camada híbrida ocorreu no **Grupo Controle com o Clearfil SE Bond**.

Para avaliar o relacionamento entre o Tratamento com Laser e o Adesivo, os dados obtidos em nosso experimento foram submetidos ao modelo estatístico da análise de variância de medidas repetidas, após ser considerada a distribuição dos resíduos. Os valores resíduos, decorrentes do ajuste do modelo adotado, foram examinados para avaliar a adequabilidade do modelo para válidas inferências estatísticas e foi determinado que os dados originais propiciaram um adequado ajuste, seguindo uma distribuição normal de probabilidade, e ainda uma uniformidade dos resíduos (homocedasticidade).

Então, a estatística inferencial consistiu no teste de análise de variância de medidas repetidas (ANOVA) dois fatores (Tratamento e Adesivo), onde a variável Sistema Adesivo foi considerada como o fator repetido. O nível de significância escolhido foi o valor convencional de 5% ($p < 0.05$) para verificar se existiam diferenças significantes entre as condições do experimento.

Quando se aplica o teste ANOVA para avaliar a influência das variáveis: sistema adesivo e tipo de tratamento verifica-se que o efeito conjunto dessas duas variáveis, bem como da interação entre elas é estatisticamente significativa (Tabela 2).

Tabela 2 - ANOVA para os dados de espessura da camada híbrida (μm) obtidos.

Efeito	gl	SQ	QM	F	p
Tratamento	2	0.63928	0.31964	7.06	0.0069*
Resíduo I	15	0.67894	0.04526		
Adesivo	1	0.25713	0.25713	22.18	0.0003*
Interação	2	0.29746	0.14873	12.83	0.0006*
Resíduo II	15	0.17386	0.01159		
Total	35	2.04668			

* $p < 0,05$

Pelo teste ANOVA, não se pôde rejeitar a hipótese de nulidade dos efeitos Sistema Adesivo, Tratamento e da Interação entre estes. Gráficos de médias (Figuras 17 e 18) foram construídos para ajudar na interpretação dos efeitos da Tabela ANOVA.

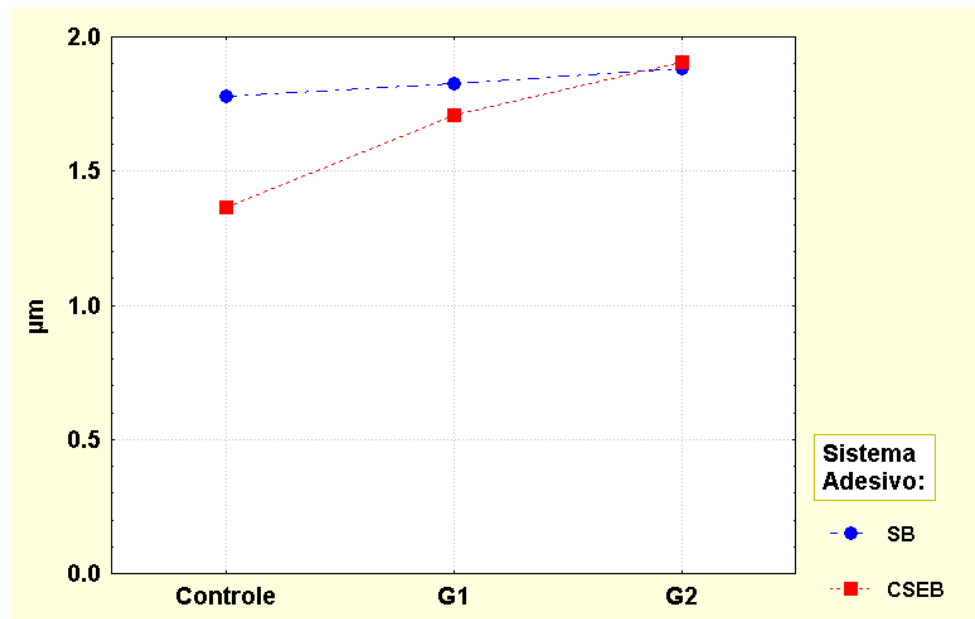


Figura 17 - Efeito Sistema Adesivo. Gráfico de médias dos valores de espessura obtidos segundo as condições experimentais estabelecidas pelas duas variáveis: Adesivo e Laser.

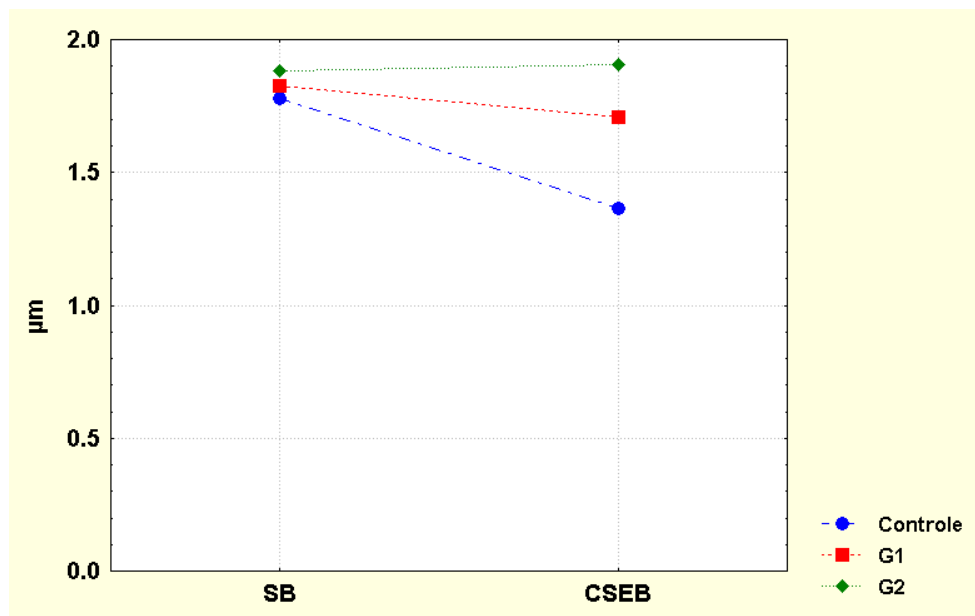


Figura 18 - Efeito Aplicação do Laser. Gráfico de médias dos valores de espessura obtidos segundo as condições experimentais estabelecidas pelas duas variáveis: Adesivo e Laser.

Através da análise dos gráficos (Figuras 17 e 18) podemos verificar que as linhas que unem os valores médios não são paralelas. Tal comportamento indica que estamos diante de um efeito Interação do tipo não ordinal. Portanto, a interpretação do efeito **Adesivo** ou do efeito **Tratamento** isoladamente não é conveniente.

Verificamos também, que a ação do sistema adesivo na espessura da hibridização não foi a mesma em cada tipo de tratamento, ou seja, no grupo **Controle** a diferença de medidas é muito mais acentuada do que nos demais. Podemos afirmar que independente do sistema adesivo o **G2** apresentou as maiores médias de espessura da camada híbrida.

O efeito interação foi avaliado mediante o gráfico de médias e o teste de comparação múltipla de Tukey. O nível de significância adotado foi o valor convencional de 5% (Tabela 3).

Tabela 3 - Resultado da comparação de médias das seis condições experimentais, após a aplicação do teste de Tukey (5%).

Adesivo	Tratamento	Média (μm)	Grupos Homogêneos
SB	Controle	1,7788	A
SB	G1	1,8254	A
SB	G2	1,8850	A
CSEB	Controle	1,3654	B
CSEB	G1	1,7092	A
CSEB	G2	1,9075	A

Quando se comparam as médias das seis condições experimentais, por meio do teste de Tukey (5%), Tabela 3, tem-se que a condição de menor espessura da camada híbrida é aquela estabelecida pelo **Controle**, com o sistema adesivo **CSEB**, que difere estatisticamente das demais condições experimentais.

A diferença quanto à espessura da camada híbrida ocorreu somente no grupo que não recebeu a irradiação com laser Nd:YAG, sobretudo com o emprego do sistema adesivo autocondicionante *Clearfil SE Bond*. Os demais grupos obtiveram valores intermediários e semelhantes estatisticamente.

5.1.2 Parte II – Escores

Os dados referentes à análise por escores relativos a presença de falhas (A) ou de *tags* e *microtags* (B) na camada híbrida obtidos para as seis condições experimentais, estão apresentados nos Apêndices B e C, respectivamente.

A estatística descritiva consistiu na distribuição de prevalência de escores que está apresentada nas Tabelas 4, 5 e 6 (A) – Tabelas 8, 9 e 10 (B) e representada pelos gráficos de colunas (Figura 19 e Figura 20, respectivamente), mostrados a seguir.

Tabela 4 - Grupo Controle. Distribuição de frequência absoluta (n) e relativa (%), segundo presença de falhas na camada híbrida e o tipo de sistema adesivo.

Escore	SB		CSEB	
	n	%	n	%
0	9	37,5	12	50
1	9	37,5	10	41,7
2	1	4,17	2	8,33
3	5	20,83	0	0
Total	24	100	24	100

Observou-se neste grupo controle, em que os sistemas adesivos são aplicados seguindo as recomendações do fabricante, que 37,5% das amostras submetidas ao **SB** corresponderam ao escore 0, em contraste com 50% de amostras que receberam o **CSEB**.

Tabela 5 - Grupo 1. Distribuição de frequência absoluta (n) e relativa (%), segundo presença de falhas na camada híbrida e o tipo de sistema adesivo.

Escore	SB		CSEB	
	n	%	n	%
0	10	41,7	15	62,5
1	11	45,8	7	29,16
2	1	4,17	1	4,17
3	2	8,33	1	4,17
Total	24	100	24	100

Observou-se neste grupo, em que os sistemas adesivos são aplicados seguidos da irradiação com Laser 60mJ, que 41,6% das amostras submetidas ao **SB** corresponderam ao escore 0, em contraste com 62,5% de amostras que receberam o **CSEB**.

Tabela 6 - Grupo 2. Distribuição de frequência absoluta (n) e relativa (%), segundo presença de falhas na camada híbrida e o tipo de sistema adesivo.

Escore	SB		CSEB	
	n	%	n	%
0	5	20,8	13	54,1
1	13	54,1	4	16,6
2	2	8,33	2	8,33
3	4	16,6	5	20,8
Total	24	100	24	100

Observou-se neste grupo, em que os sistemas adesivos são aplicados seguidos da irradiação com Laser 140mJ, que 20,8% das amostras submetidas ao **SB** corresponderam ao escore 0, em contraste com 54,1% de amostras que receberam o **CSEB**.

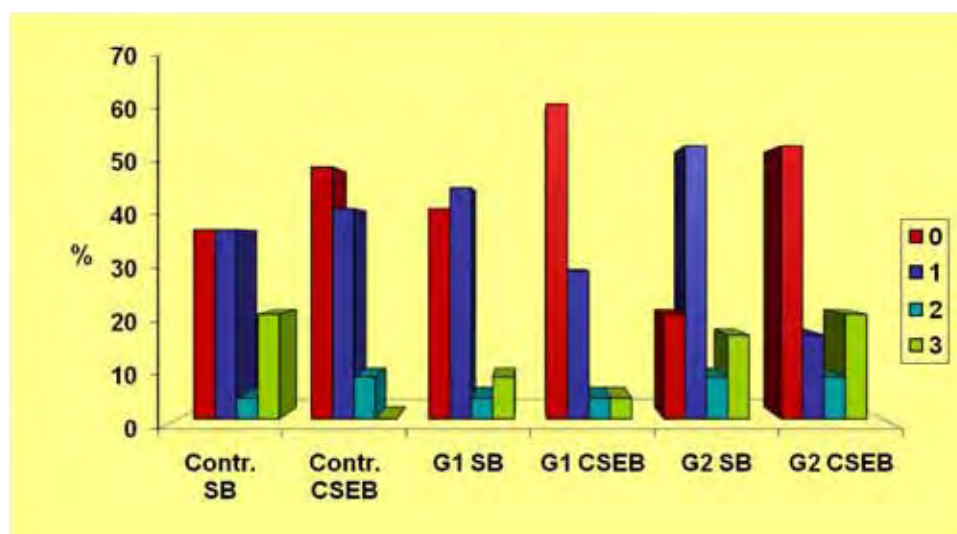


Figura 19 - Gráfico de colunas da distribuição de frequência relativa (%), segundo presença de falhas e o tipo de sistema adesivo.

Através dos dados apresentados acima, podemos afirmar que o **G2 com SB** apresentou a menor prevalência do escore 0 (20,8%), enquanto que a maior prevalência (62,5%) foi encontrada na condição **G1 com CSEB**, indicando um melhor desempenho para este grupo em termos proporcionais, na análise de falhas na camada híbrida.

A estatística inferencial consistiu no teste de comparação múltipla de proporções, proposto por Zar¹³¹ em 1999. Essa análise foi executada via um macro (sob nome multprop) disponibilizado pelo programa estatístico Minitab for Windows, versão 15, (www.minitab.com). O nível de significância escolhido foi o valor convencional de 5% ($p < 0.05$) para verificar se existiam diferenças significantes entre as condições do experimento.

A comparação da prevalência de escore zero, condição desejável de homogeneidade da camada híbrida, entre os Sistemas Adesivos empregados, segundo os grupos de estudo está apresentada na Tabela 7.

Tabela 7 - Resultado da comparação múltipla das proporções entre os sistemas adesivos, segundo os grupos de estudo.

Avaliação	Comparações	SB	CSEB	p-valor
Falhas	Controle	37,5%	50%	0,379
	G1	41,7%	62,5%	0,140
	G2	20,8%	54,1%	0,011*

*p < 0,05

Podemos afirmar que houve diferença estatisticamente significativa entre os sistemas adesivos para o **G2** ($p_{0,011} < 0,05$), indicando que nas amostras de CSEB, a prevalência de escore 0 foi maior. Então podemos concluir que para este tratamento houve uma superioridade do adesivo **CSEB** com relação ao **SB**.

A comparação da prevalência de escore zero entre os Grupos para os dois sistemas adesivos não apresentou diferenças estatisticamente significantes.

Com relação à análise por escores para presença de *tags* e *microtags* (B), apresentamos a seguir a estatística descritiva, Tabelas 8, 9 e 10 e Figura 19.

Tabela 8 - Grupo Controle. Distribuição de frequência absoluta (n) e relativa (%), segundo presença de *tags* e o tipo de sistema adesivo.

Escore	SB		CSEB	
	n	%	n	%
0	1	4,17	4	16,6
1	11	45,8	14	58,3
2	12	50	6	25
Total	24	100	24	100

Observou-se neste grupo controle, em que os sistemas adesivos são aplicados seguindo as recomendações do fabricante, que 50% das amostras submetidas ao **SB** corresponderam ao escore 2, em contraste com 25% de amostras que receberam o **CSEB**.

Tabela 9 - Grupo 1. Distribuição de frequência absoluta (n) e relativa (%), segundo presença de *tags* e o tipo de sistema adesivo.

Escore	SB		CSEB	
	n	%	n	%
0	6	25	7	29,1
1	5	20,8	5	20,8
2	13	54,1	12	50
Total	24	100	24	100

Observou-se neste grupo, em que os sistemas adesivos são aplicados seguidos da irradiação com Laser 60mJ, que 54,1% das amostras submetidas ao **SB** corresponderam ao escore 2, em contraste com 50% de amostras que receberam o **CSEB**.

Tabela 10 - Grupo 2. Distribuição de frequência absoluta (n) e relativa (%), segundo presença de *tags* e o tipo de sistema adesivo.

Escore	SB		CSEB	
	n	%	n	%
0	6	25	16	66,6
1	4	16,6	4	16,6
2	14	58,3	4	16,6
Total	24	100	24	100

Observou-se neste grupo, que em que os sistemas adesivos são aplicados seguidos da irradiação com Laser 140mJ, 58,3% das amostras submetidas ao **SB** corresponderam ao escore 2, em contraste com 16,6% de amostras que receberam o **CSEB**.

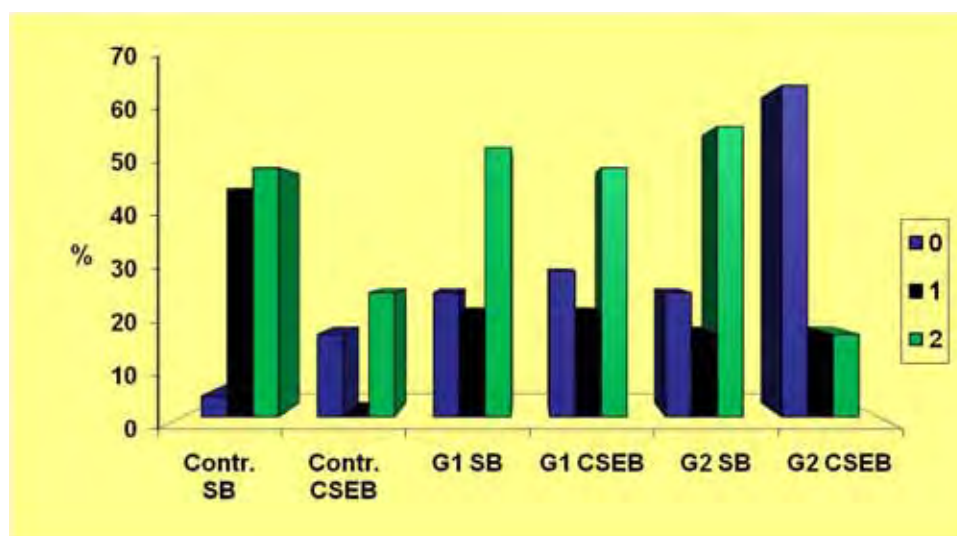


Figura 20 - Gráfico de colunas da distribuição de frequência relativa (%), segundo presença de *tags* e o tipo de sistema adesivo.

Observou-se com os dados apresentados acima, que o **G2 com CSEB** apresentou a menor prevalência do escore 2 (16,6%), enquanto que a maior prevalência (58,3%) foi encontrada na condição **G2 com SB**, indicando um melhor desempenho para este grupo em termos proporcionais. Dentro do mesmo tratamento, podemos perceber que o sistema adesivo teve uma influência importante, uma vez que a sua variação promoveu a melhor e a pior situação de prevalência do escore 2, representando a presença de *tags* e *microtags* resinosos.

A seguir vemos o teste de comparação múltipla de proporções (Tabela 11):

Tabela 11 - Resultado da comparação múltipla das proporções entre os sistemas adesivos, segundo os grupos de estudo.

Avaliação	Comparações	SB	CSEB	p-valor
<i>Tags</i>	Controle	50%	25%	0,064
	G1	54,1%	50%	0,772
	G2	58,3%	16,6%	0,001*

*p < 0,05

Podemos afirmar que há diferença estatisticamente significativa entre os dois sistemas adesivos no **G2** ($p_{0,001} < 0,05$), indicando que nas amostras de **SB** a prevalência de escore 2 foi maior, demonstrando que para este tratamento o comportamento do adesivo **SB** é superior ao do **CSEB**. Nas demais condições experimentais não houve diferença estatisticamente significativa entre as proporções.

A comparação da prevalência de escore 2 entre os Grupos para o sistema adesivo **SB**, não apresentou diferenças estatisticamente significante. Já na comparação para o sistema adesivo **CSEB** houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Com base nestes dados, podemos afirmar que o melhor resultado foi apresentado pelo **G1** em contraste ao pior resultado apresentado pelo **G2**, indicando que para a presença de *tags* e *microtags*, na utilização do **CSEB** o melhor tratamento é a irradiação por Nd:YAG com $60\text{mJ}/\text{cm}^2$.

5.2 Análise morfológica descritiva da hibridização da dentina

Por meio da análise de todas as imagens das interfaces adesivas coletadas, podemos fazer a descrição morfológica da hibridização da dentina bovina, promovida pela aplicação do sistema adesivo convencional *Adper Single Bond* ou do autocondicionante *Clearfil SE Bond* e pela presença ou não da irradiação com laser Nd:YAG em dois parâmetros diferentes, 60mJ ou $140\text{mJ}/\text{cm}^2$. A seguir apresentamos as imagens registradas em 5000X de aumento, totalizando quatro imagens para cada grupo (Figuras 21 a 26).

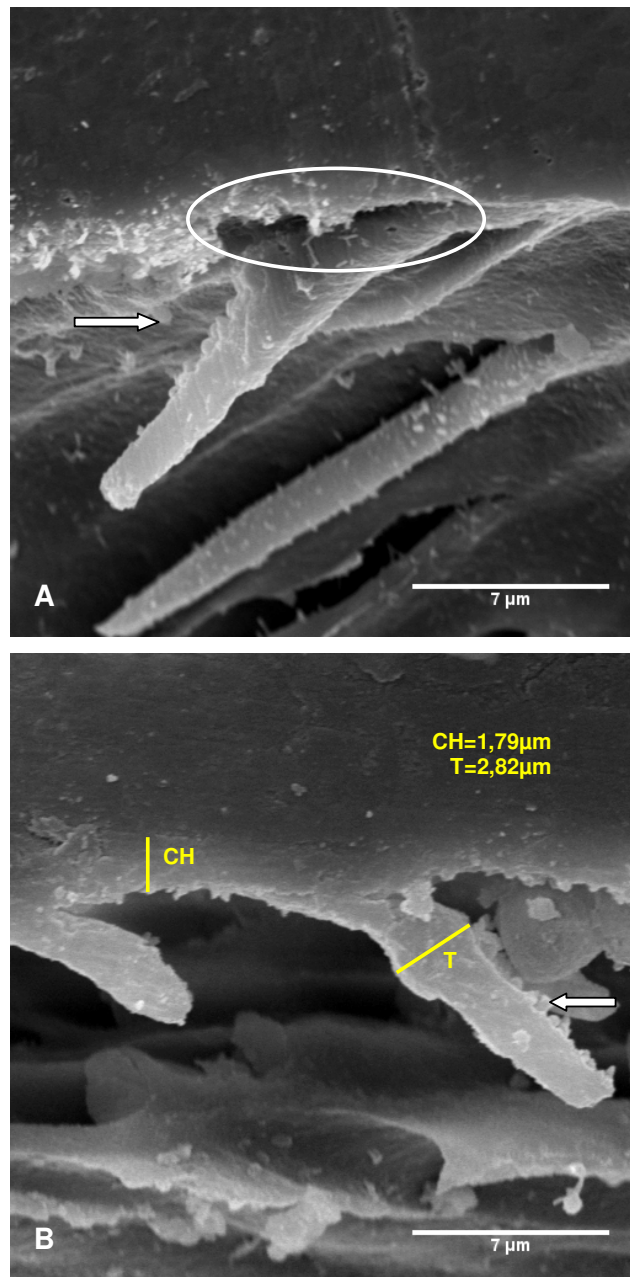


Figura 21 - Grupo Controle. Interfaces adesivas submetidas ao sistema adesivo *Adper Single Bond*: A- Tags com formato típico de funil, presença de *microtags*, evidenciados por setas. Camada híbrida não homogênea, apresentando fenda e porosidades (círculo). B- Espessura de hibridização de 1,79µm e de tag de 2,82µm, presença de *microtags* (seta).

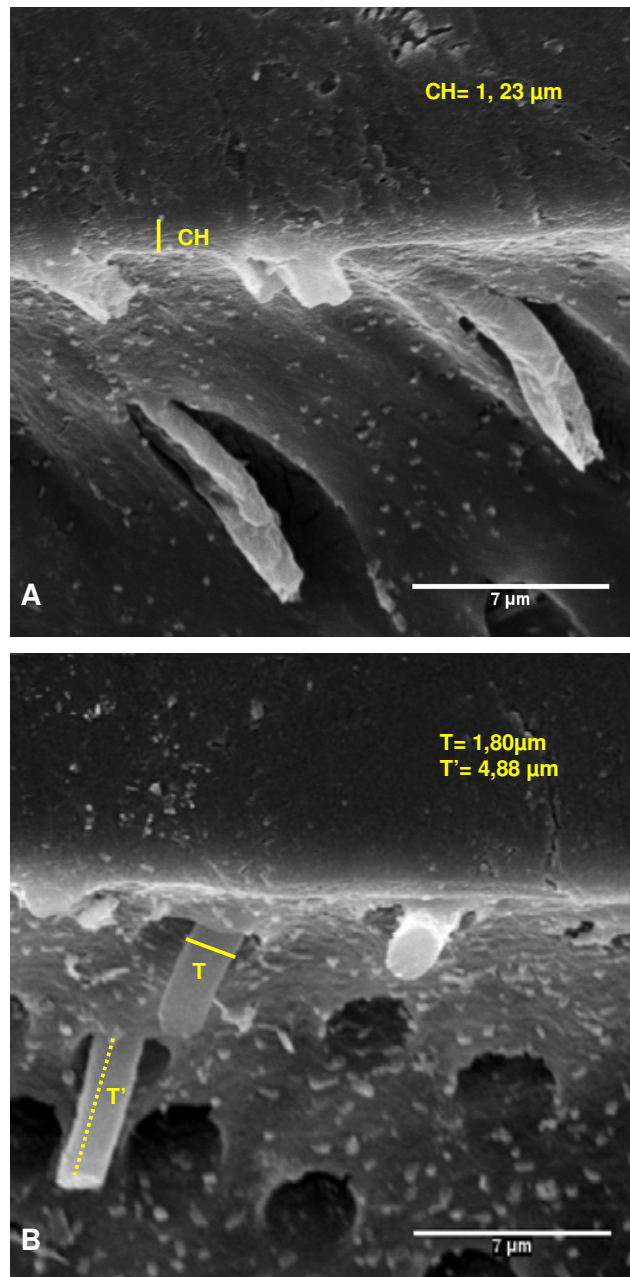


Figura 22 - Grupo Controle. Interfaces adesivas submetidas ao sistema adesivo *Clearfil SE Bond*: A- Camada híbrida homogênea e delgada, *tags* escassos e curtos, ausência de *microtags*. B- Espessura de *tag* de 1,80μm e comprimento de 4,88μm, ausência de *microtags*.

Na Figura 21, observamos os perfis de adesão de espécimes do Grupo Controle submetidos ao sistema convencional *Adper Single Bond*. Em A, vemos na camada híbrida a presença de fendas e porosidades indicando escore 3 para falhas. Em B, temos uma camada híbrida homogênea representando escore 0 para falhas em ambas. Há a presença de *tags* com formato típico de funil e *microtags* o que indica escore 2.

Na Figura 22, observamos os perfis de adesão de espécimes do Grupo Controle submetidos ao sistema convencional *Clearfil SE Bond*. Vemos uma camada híbrida bem evidente, porém agora em menor espessura. Observamos também *tags* mais curtos, apresentando-se cilíndricos e menos espessos, provavelmente pelo fato do sistema autocondicionante ser menos agressivo, não alargando a embocadura dos túbulos dentinários como observado na figura anterior para o sistema *Adper Single Bond*. Tanto em A como em B, vemos uma camada híbrida homogênea e ausência de *microtags*, representando escore 0 para falhas e escore 1 para *tags*.

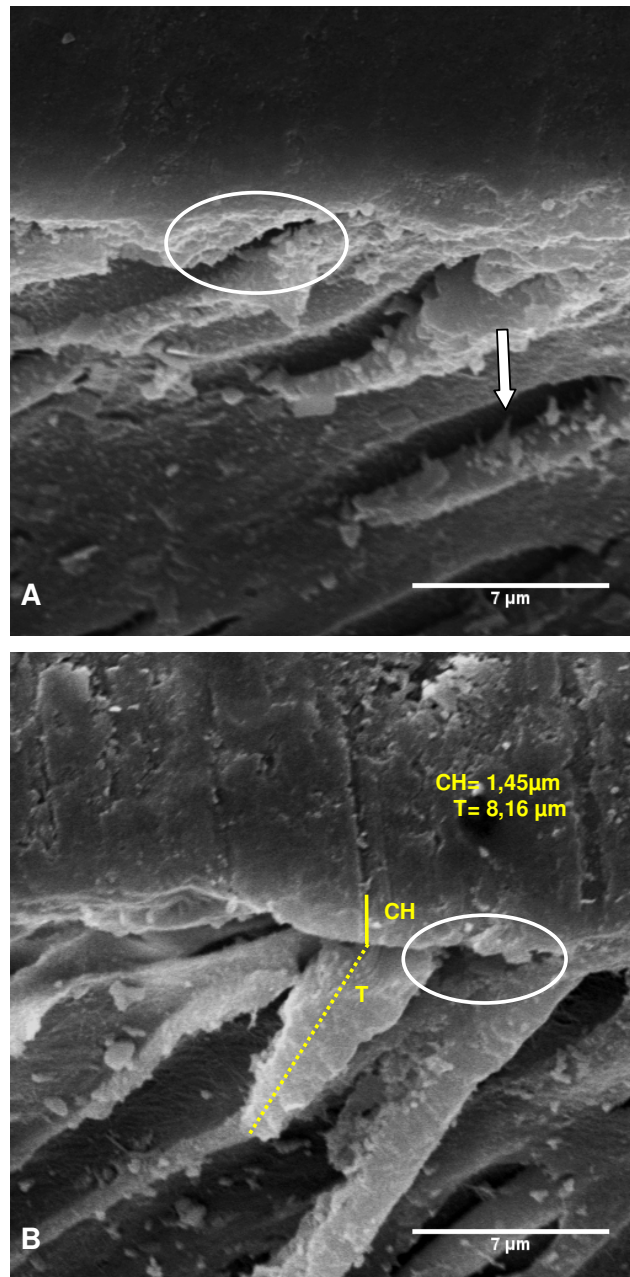


Figura 23 - Grupo 1. Interfaces adesivas submetidas ao sistema adesivo *Adper Single Bond*: A- Camada híbrida bem evidente, presença de *tags* curtos, *microtags* (seta) e porosidades (círculo). B- Espessura de hibridização de 1,45μm e comprimento do *tag* de 8,16μm, porosidades (círculo).

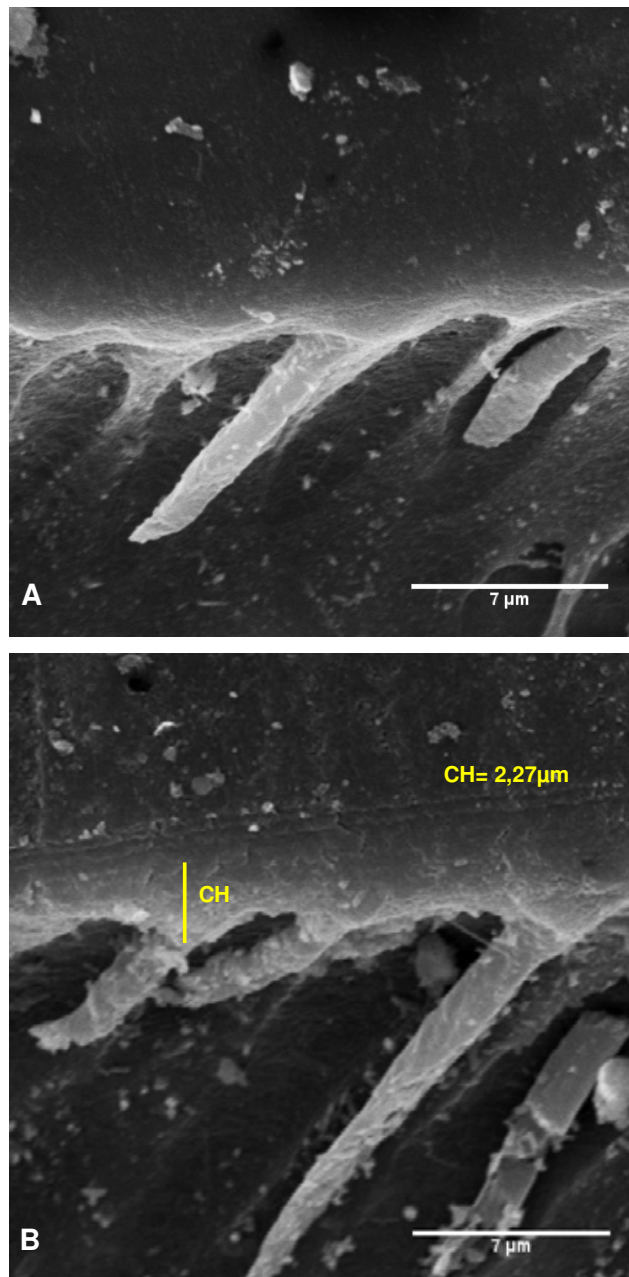


Figura 24 - Grupo 1. Interfaces adesivas submetidas ao sistema adesivo *Clearfil SE Bond*: A- Camada híbrida homogênea sem falhas, *tags* escassos e curtos, ausência de *microtags*. B- Espessura de hibridização de 2,27µm.

Na Figura 23, é possível observar os perfis de adesão de espécimes do Grupo irradiado pelo laser Nd:YAG com $60\text{mJ}/\text{cm}^2$, submetidos ao sistema convencional *Adper Single Bond*. Em A e B, vemos na camada híbrida a presença de porosidades indicando escore 2 para falhas, a presença de *tags* com formato típico de funil, resultado da maior desmineralização na embocadura dos túbulos dentinários, e *microtags* o que indica escore 2.

Na Figura 24, observamos os perfis de adesão de espécimes do Grupo irradiado pelo laser Nd:YAG com $60\text{mJ}/\text{cm}^2$, submetidos ao sistema convencional *Clearfil SE Bond*. Observamos a camada híbrida, evidenciada pela zona elétron-densa (área clara na base dos *tags*), apresentando-se homogênea, representando escore 0 para falhas. Verificamos *tags* escassos e na maioria curtos, que se afunilam à medida que se afastam da base da zona de hibridização, além da ausência de *microtags* (escore 1).

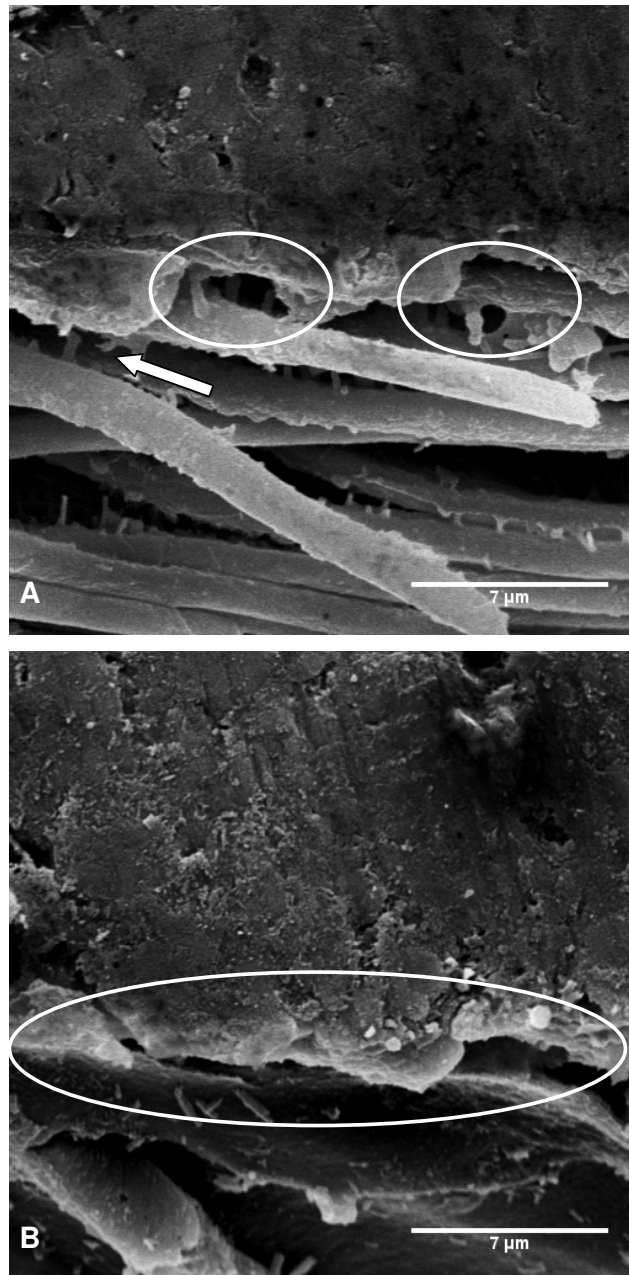


Figura 25 - Grupo 2. Interfaces adesivas submetidas ao sistema adesivo *Adper Single Bond*: A- Camada híbrida apresentando fendas e porosidades (círculo), presença de *tags* e *microtags* (seta) e porosidades. B- Vemos um artefato de técnica (círculo).

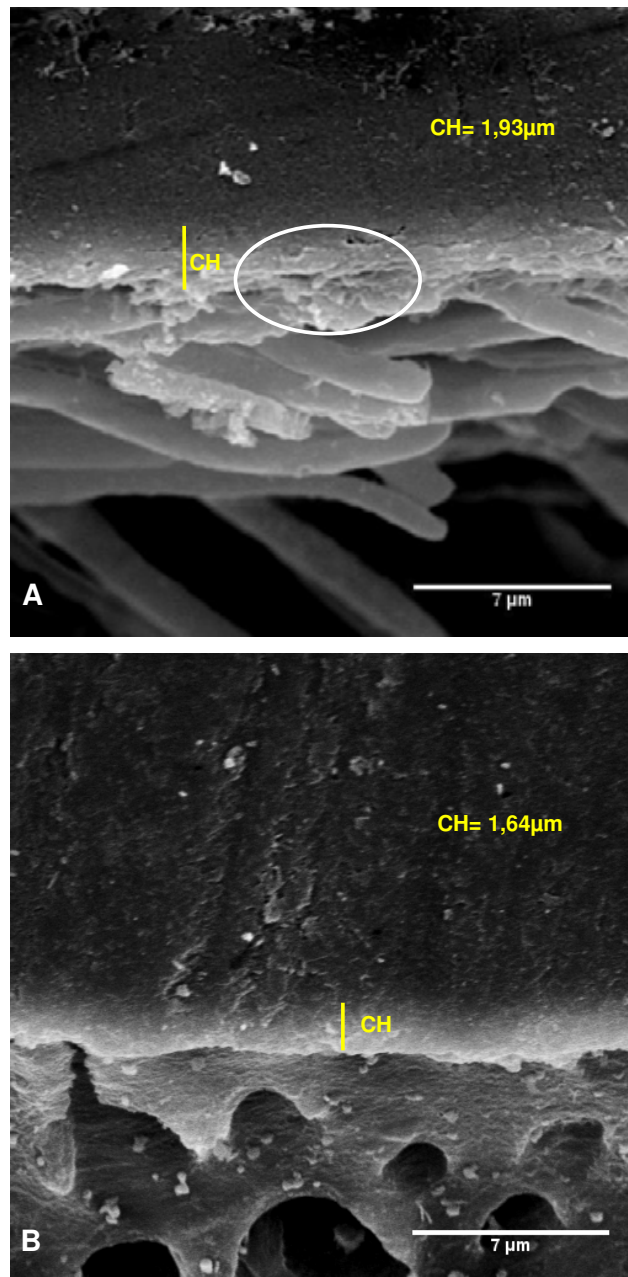


Figura 26 - Grupo 2. Interfaces adesivas submetidas ao sistema adesivo *Clearfil SE Bond*: A- Espessura de hibridização de 1,93μm, presença de muitos *tags*, porosidades evidenciadas pelo círculo. B- Ausência de *tags* e *microtags*. Camada híbrida homogênea e bem evidente com espessura de 1,64μm.

Na Figura 25, é possível observar os perfis de adesão de espécimes do Grupo irradiado pelo laser Nd:YAG com $140\text{mJ}/\text{cm}^2$, submetidos ao sistema convencional *Adper Single Bond*. Em A, vemos na camada híbrida a presença de fendas e porosidades indicando escore 2 para falhas, a presença de numerosos *tags* que se apresentam longos e as ramificações laterais, os *microtags* que por vezes encontram-se com outro *tag* (escore 2), Em B, podemos observar um artefato de técnica, representado por uma fenda entre a base da zona de hibridização e a dentina.

Na Figura 26, observamos a zona de hibridização de espécimes do Grupo irradiado pelo laser Nd:YAG com $60\text{mJ}/\text{cm}^2$, submetidos ao sistema convencional *Clearfil SE Bond*. Observamos diferentes padrões: ora uma camada híbrida com a presença de numerosos *tags* (A) e porosidades, ora uma camada híbrida homogênea, (escore 0), evidenciada pela zona elétron-densa, mas sem a presença de *tags* e *microtags*.

6 DISCUSSÃO

6.1 Metodologia

O estudo do processo de adesão às estruturas dentais é fundamental para análise do comportamento e aprimoramento dos sistemas adesivos. Assim, são necessários testes laboratoriais que comprovem a eficiência e confiabilidade dos materiais (VAN MEERBEEK et al.¹¹⁶, 1994). Porém, a utilização dos estudos *in vitro* demanda a necessidade de padronização na metodologia e principalmente dos substratos dentais utilizados, possibilitando a comparação dos resultados a outros estudos, bem como a pesquisa *in vivo* (MARSHALL JR⁵⁴, 1993). Na literatura observamos que além do substrato, outros fatores podem interferir nos resultados dos estudos de adesão como o tempo de utilização do dente após extração e as condições de armazenamento (PASHLEY et al.⁷⁵, 1995; CAMPS et al.¹³, 1996; ARAÚJO et al.⁵, 1999).

Devido à dificuldade na obtenção de dentes humanos para realização das pesquisas científicas *in vitro*, há uma constante busca por um substrato que se apresente como um substrato caracteristicamente semelhante. Neste contexto, a alternativa mais utilizada é o dente bovino, principalmente em estudos sobre adesão de materiais às estruturas dentais, devido à facilidade na sua obtenção, padronização da idade das amostras utilizadas, bem como, a possibilidade da utilização de uma maior área de estudo devido as suas características anatômicas. Segundo Nakamichi et al.⁶⁹ em 1983, a utilização de dentes bovinos é possível devido à semelhança encontrada

na força de união da resina ao esmalte e dentina superficial de dentes bovinos e humanos. Muitos autores compararam os dentes bovinos aos dentes humanos em estudos de adesão (NAKABAYASHI et al.⁶³, 1982; SAUNDERS⁹⁷, 1988; TAGAMI et al.¹⁰³, 1990; GONÇALVES et al.³⁶, 1999; CUNHA et al.²², 2000; ANIDO², 2001; RAUSCHER⁹¹, 2003; ANIDO³, 2005).

Ao contrário do observado na dentina humana, o diâmetro dos túbulos na dentina bovina é maior nas proximidades da JAD e menor na região próximo da polpa, que assim, apresenta menor permeabilidade e também maior área de dentina intertubular. Em contrapartida a região próxima ao esmalte, é mais permeável e menos mineralizada devido ao menor número de túbulos. Estes aspectos são importantes na qualidade da hibridização. (SCHILKE et al.¹⁰⁰, 2000; CORRÊA et al.²¹, 2003). Apesar das diferenças morfológicas, Anido² em 2001 concluiu que o substrato bovino presta-se aos estudos laboratoriais desde que observada a relação de profundidade entre os substratos. Corrêa et al.²¹ em 2003, verificaram em estudo micromorfológico que a região da dentina bovina que mais se assemelha a dentina humana é a região de profundidade média.

No presente estudo, utilizamos a dentina bovina, embasados na literatura de que este é um substrato aceitável como substituto à dentina humana em estudos de adesão, respeitando as relações entre os dentes humano e bovino e realizando uma padronização adequada e minuciosa (NAKAMICHI et al.⁶⁹, 1983; SANO et al.⁹⁵, 1994; ANIDO², 2001; REIS et al.⁹³, 2004; ANIDO³, 2005).

Assim, para obtermos resultados mais confiáveis e próximos aos dentes humanos, padronizamos a utilização da porção média da dentina por ser a região que mais se assemelha micromorfolologicamente à dentina humana (ANIDO², 2001; CORRÊA et al.²¹, 2003; ANIDO³, 2005).

Foram utilizados neste estudo, 12 dentes bovinos, os quais permaneceram armazenados em freezer a -18°C por até vinte dias, com a finalidade de manter a integridade do substrato o mais próximo possível das condições *in vivo* (TONAMI et al.¹¹³, 1996; TITLEY et al.¹¹⁰, 1998; ARAÚJO et al.⁵, 1999). Embasados na literatura por renomados autores científicos, utilizamos um reduzido número de espécimes (seis amostras para cada condição experimental) que apesar de aparentemente reduzido, é considerado como um número representativo e suficiente, por serem os estudos micromorfológicos em MEV altamente criteriosos e dispenderem grande tempo de execução e custo (VAN MEERBEEK et al.¹¹⁷, 1992; PERDIGÃO et al.⁸², 1995; OGATA et al.⁷¹, 2001; TORII et al.¹¹⁴, 2002).

A hibridização da dentina com emprego de diferentes sistemas adesivos, já foi estudada por muitos autores, porém a diversidade de metodologias e a variação na obtenção dos espécimes empregados nos estudos, torna difícil a comparação entre os resultados destes trabalhos (VAN MEERBEEK et al.¹¹⁹, 2000; MACARI et al.⁵³, 2002). Portanto, sabemos da importância da padronização de todos os passos laboratoriais e principalmente do substrato dentinário utilizado neste estudo, uma vez que a dentina naturalmente se apresenta como um tecido complexo, pela variação em sua composição (GARBEROGLIO e BRÄNNSTROM³³, 1976).

A complexidade da dentina se deve à variabilidade química e física traduzida pela quantidade de componentes orgânicos e inorgânicos, diâmetro e orientação dos túbulos conforme a profundidade e permeabilidade (GARBEROGLIO e BRÄNNSTROM³³, 1976; TAGAMI et al.¹⁰³, 1990). Além disso, a profundidade cavitária, idade dentária, tipo e intensidade de injúrias podem determinar a variação no comportamento deste substrato (MARSHALL JR⁵⁴, 1993; GONÇALVES et al.³⁶, 1999) e influenciar diretamente na sua hibridização, bem como, na resistência

adesiva de materiais à sua estrutura (PASHLEY e CARVALHO⁷⁶, 1997; NAKABAYASHI e PASHLEY⁶⁵, 1998; SANO et al.⁹⁶, 1999;).

Em decorrência destas variações, a dentina pode se apresentar com características próprias, inerentes às variações minerais, que influenciam o processo de adesão (SANO et al.⁹⁵, 1994). Estas variações podem dificultar uma adequada interpenetração do sistema adesivo e posterior embricamento mecânico, desfavorecendo uma adequada união adesiva (PERDIGÃO et al.⁸¹, 1994).

Frente aos contrastes da literatura com relação aos processos adesivos nos substratos dentinários e a incessante busca por procedimentos que melhorem a efetividade de adesão, nos propusemos a verificar o comportamento morfológico com relação a qualidade da camada híbrida, em dentina bovina após aplicação dos sistemas adesivos convencional ou autocondicionante e a irradiação com laser de Nd:YAG, em dois diferentes parâmetros, previamente a fotopolimerização.

Segundo White et al.¹²⁶, em 1992, o laser Nd:YAG pode ser utilizado em esmalte e dentina sem efeitos térmicos pulpares, sendo a temperatura criada pela irradiação capaz de ablacionar tecidos orgânicos como esmalte e dentina.

A irradiação por laser Nd: YAG é altamente absorvida por tecidos pigmentados e tecidos dentais (WHITE et al.¹²⁷, 1987; HECHT⁴¹, 1992) e provoca mudanças no conteúdo mineral da superfície da dentina (SCHALLER et al.⁹⁹, 1997) tanto sadia como desmineralizada, sendo o laser capaz de remover componentes orgânicos da dentina, principalmente o colágeno (WHITE e GOODIS¹²⁵, 1996).

Segundo Matos et al.⁵⁵ em 1999 o tratamento dentinário com uso do laser Nd:YAG influencia a resistência adesiva da resina composta.

A aplicação de laser Nd:YAG na dentina com energia de 50 a 100mJ por pulso resulta na formação de estrutura fundida, com fendas e irregularidades (KAWABATA et al.⁴⁵, 1999).

Além destas mudanças na morfologia da dentina, o laser Nd:YAG pode reduzir a quantidade de microrganismos presentes na dentina. Segundo Gutknecht et al.³⁹, em 1996, e Moritz et al.⁶¹, em 1997 o efeito antibacteriano pode ser muito importante para o sucesso da restauração, uma vez que a presença de bactérias pode causar recidiva de cárie e inflamação pulpar.

Gonçalves^{35e36} em 1997 e posteriormente em 1999, baseado nas observações da morfologia dentinária após irradiação com laser Nd:YAG, buscou testar se a aplicação do laser sobre a dentina na presença do sistema adesivo, previamente à sua fotopolimerização, pudesse provocar uma fusão de ambos formando uma camada híbrida mais resistente, e conseqüentemente aumentando a união adesiva. Os resultados obtidos pelo autor mostraram significativo aumento da resistência adesiva e comprovaram a recristalização da dentina.

Seguindo o mesmo contexto, Matos et al.⁵⁵ em 1999, também avaliaram a resistência adesiva de uma resina composta a dentina tratada com laser Nd:YAG antes e após o procedimento adesivo e concluíram que o tipo de tratamento dentinário, especialmente o uso do laser Nd:YAG após o sistema adesivo, teve influência positiva na resistência adesiva da resina composta. Ainda Matos et al.⁵⁶, em 2000 concluíram que o melhor momento para a aplicação do Nd:YAG é após o uso do sistema adesivo, conforme preconizado por Gonçalves³⁵ em 1997.

Franke et al.³⁰, em 2006, concluíram que a irradiação da dentina com o laser de Nd:YAG em baixas densidades de energia após a aplicação do adesivo mas previamente à polimerização, pode ser positiva para o processo adesivo.

Baseados na literatura, o modo de ação do laser Nd:YAG, nos motivou a realizar este estudo para avaliar o comportamento micromorfológico da camada híbrida obtida através da interação da irradiação laser com adesivo-dentina, criando um tecido, em que provavelmente a composição química seja diferente daquele obtido

através do procedimento adesivo convencional, buscando respostas que justifiquem o aumento da resistência adesiva quando da utilização desta metodologia. É fundamental estudar o comportamento da irradiação laser no substrato dentinário embebido de sistema adesivo, uma vez que sabemos que a interação destes, depende das propriedades ópticas relacionadas à composição do substrato e materiais, principalmente a quantidade de água, pois a absorção da luz pela água é de fundamental importância, assim como a dos elementos que exibem um alto coeficiente de absorção de um particular comprimento de onda, os chamados cromóforos, no caso da dentina, as proteínas e a hidroxiapatita.

Neste estudo foi utilizado o laser Nd:YAG com comprimento de onda de 1,064 μ m e parâmetros de 60mJ e 140mJ de energia por pulso, 10Hz e 0,6W de potência (GONÇALVES et al.³⁶, 1999; ARAÚJO⁴, 2000; KUWANA⁴⁹, 2005), sempre após a aplicação dos sistemas adesivos e previamente à fotopolimerização (GONÇALVES et al.³⁶, 1999; MATOS et al.^{55e56}, 1999 e 2000; FRANKE et al.³⁰, em 2006).

Utilizamos o laser Nd:YAG conforme as instruções dos fabricantes e seguindo todas as normas de segurança preconizadas pela *Academy of Laser Dentistry*¹.

Sabemos que a qualidade da zona de hibridização formada depende de uma série de fatores, inerentes não somente às características do substrato dentinário e aos tratamentos à este empregado, bem como, aos tipos de sistemas adesivos utilizados.

Na verdade, a hibridização implica na ocorrência de mecanismos físico-químicos. O primeiro deles é a desmineralização parcial ou total dos cristais minerais na dentina intertubular e peritubular hígidas. Esta desmineralização provoca o mecanismo subsequente que resulta no desnudamento das fibras colágenas da matriz dentinária, tornando-se susceptível ao terceiro mecanismo da infiltração dos monômeros adesivos hidrofílicos para o interior da rede colágena, criando uma cadeia molecular composta por polímero biológico e artificial

(NAKABAYASHI e PASHLEY⁶⁵, 1998). A formação da camada híbrida está relacionada a muitos fatores, dentre eles podemos destacar: a permeabilidade dentinária, os agentes condicionadores, tempo de condicionamento, qualidade da dentina, umidade, tipo de sistema adesivo, difusibilidade dos monômeros, profundidade de polimerização, características estruturais da rede de fibras colágenas (EICK et al.²⁶, 1991; PASHLEY et al.^{74e78}, em 1992 e 1993; PERDIGÃO et al.⁸¹, 1994; NAKABAYASHI e PASHLEY⁶⁵, 1998; GONÇALVES et al.³⁶, 1999; PASHLEY et al.⁷⁷, 2000; ANIDO², 2001; ANIDO³, 2005).

Quanto à umidade dentinária durante o processo de adesão, é sabido que quando a rede de colágeno desmineralizada, anteriormente suportada pela água, é seca com ar, as fibras colágenas se aproximam, resultando em um colapso dessa estrutura (NAKABAYASHI e PASHLEY⁶⁵, 1998). O colapso da rede colágena também pode resultar do encurtamento das fibrilas colágenas que desenvolvem força quando a água evapora, provocando pressão sobre a malha colágena subjacente e seu desmoronamento (CARVALHO et al.¹⁵, 1996). Persistindo a secagem, as moléculas de colágeno aproximam-se, formando pontes de hidrogênio que nem sempre são rompidas (NAKABAYASHI e PASHLEY⁶⁵, 1998). Este fenômeno resulta em uma camada híbrida mal formada, fora dos padrões obtidos pela técnica de adesão úmida (KANCA JR⁴⁴, 1992; CARVALHO et al.¹⁸, 1999; NAKAJIMA et al.⁶⁸, 2000). O espaço entre as fibras colágenas é essencial para a infiltração adequada dos monômeros e, conseqüentemente, a formação de uma hibridização de alta qualidade (PASHLEY et al.⁷⁸, 1993).

Em contrapartida, se houver uma quantidade excessiva de água, a substituição desta por solvente não é completa, acarretando a incompleta infiltração de monômeros resinosos entre as fibras colágenas, deixando espaços vazios, responsáveis pela formação de uma hibridização não homogênea (TAY et al.¹⁰⁵, 1998; CARVALHO et al.¹⁸, 1999).

Neste estudo, durante o procedimento adesivo, executamos a técnica de maneira criteriosa quanto à umidade dentinária, para aumentarmos a probabilidade da manutenção da integridade do colágeno e dos espaços interfibrilares para possibilitar a formação de uma hibridização de qualidade.

O molhamento da superfície da dentina por monômeros é um passo inicial, necessário na adesão, mas sozinho não é o suficiente para garantir uma adesão com sucesso, porque não assegura a penetração do monômero para dentro da subsuperfície. A permeabilidade da rede dentinária intertubular desmineralizada aos monômeros é uma variável crítica na adesão dentinária (NAKABAYASHI et al.⁶², 1992).

A permeabilidade dentinária está diretamente relacionada com a presença da *smear layer* que desempenha um papel fundamental no processo de adesão à dentina, pois está sempre presente sobre o substrato dentinário, após a confecção do preparo cavitário, reduzindo a permeabilidade e umidade superficiais (PASHLEY et al.^{73e74}, 1988 e 1992; MARSHALL JR⁵⁴, 1993; PASHLEY et al.⁷⁸, 1993). O tratamento da *smear layer*, varia de acordo com a abordagem dada pelo emprego de diferentes sistemas adesivos, removendo-a ou não (CARVALHO¹⁶, 1998). Os sistemas adesivos convencionais, sugerem o condicionamento dentinário com ácido fosfórico que promove a remoção total da *smear layer*, expondo as fibras colágenas que possuem baixa reatividade química. Portanto, a maior parcela da retenção entre adesivo e dentina é resultado do entrelaçamento molecular da cadeia polimérica com as fibras colágenas (NAKABAYASHI et al.⁶³, 1982; NAKABAYASHI et al.⁶², 1992; VAN MEERBEEK et al.¹¹⁸, 1994; PERDIGÃO et al.⁸⁵, 2000; Anido³, 2005).

O fator desfavorável à utilização dos sistemas adesivos convencionais é a sensibilidade à técnica e protocolo criterioso, devido ao número elevado de passos e à subjetividade na obtenção ou manutenção da umidade dentinária, possibilitando a ocorrência de uma impregnação incompleta do adesivo no substrato dentinário, conforme observado nas

Figuras 21A, 23A e 25A (NAKABAYASHI e PASHLEY⁶⁵, 1998; SANO et al.⁹⁶, 1999; REIS et al.⁹³, 2001; CARVALHO et al.¹⁹, 2003; RAUSCHER⁹¹, 2003; VAN MEERBEEK et al.¹²⁰, 2005).

Já os sistemas adesivos autocondicionantes, promovem simultaneamente a desmineralização e infiltração do monômero adesivo na dentina (KWONG et al.⁵⁰, 2000), diminuindo a probabilidade de incompleta penetração entre as fibras colágenas (WATANABE et al.¹²³, 1994).

A utilização de sistemas adesivos compostos por monômeros dissolvidos em acetona, etanol e água são importantes na formação da camada híbrida, uma vez que quando há a evaporação dos solventes, ocorre simultaneamente, uma substituição por monômeros dos espaços ocupados pela água. Os sistemas compostos por HEMA associado à água beneficiam-se da adesão úmida, desta forma, a matriz colágena desmineralizada permanece expandida e não colapsada (NAKABAYASHI e PASHLEY⁶⁵, 1998). Além disso, estudos observaram que a aplicação de sistemas adesivos contendo HEMA, aumenta a difusão de monômeros, para a formação de domínios de hidro-géis microporosos, que compreendem polímeros localizados de HEMA, os quais permitem a movimentação de água, íons e moléculas polares, favorecendo a sua união aos componentes dentinários e conseqüentemente facilitando a formação da hibridização (NAKABAYASHI e TAKARADA⁶⁶, 1992; TAY et al.¹⁰⁵, 1998; PASHLEY et al.⁷⁷, 2000).

Optamos em nosso estudo, pela utilização do sistema adesivo convencional *Adper Single Bond* que é composto por HEMA, além de solventes como água, devido ao fato de empregarmos a técnica de adesão úmida. Optamos também pelo sistema adesivo autocondicionante *Clearfil SE Bond*, que possui água e HEMA na composição do *primer* ácido, importante, pois segundo Carvalho et al.¹⁹, em 2003, os adesivos cujo solvente é água, são menos sensíveis à

técnica quando comparados aos com acetona, devido a menor variabilidade em resultados de resistência adesiva com estes adesivos. Os dois sistemas adesivos foram utilizados seguindo a recomendações dos fabricantes. O sistema *Adper Single Bond*, requer o condicionamento total da dentina, ou seja, remoção total da *smear layer* com ácido fosfórico a 37% por 15s, seguido de lavagem, controle da umidade com papel absorvente e aplicação do adesivo. Em contrapartida, no sistema *Clearfil SE Bond* o condicionamento é dado pelo *primer* ácido, o qual é aplicado por 20s e não promove total remoção da *smear layer*, em seguida é realizada a aplicação do adesivo. Vemos, então, que este sistema elimina a necessidade de total remoção da *smear layer*, incorporando-a a camada híbrida e interagindo com a dentina subjacente desmineralizada pela infiltração do monômero adesivo.

Contudo devemos ressaltar uma diferença crucial da situação *in vivo* e *in vitro* na questão permeabilidade. Ao removermos a *smear layer in vivo* a permeabilidade aumenta e o fluido dentinário aflora para a superfície, fato que não ocorre *in vitro*. Ou seja, *in vivo* a própria água do fluido auxilia a manutenção da rede de fibras colágenas pós-condicionamento ácido e a hidrofília do sistema adesivo indispensável para garantir sua penetração. *In vitro* a situação torna-se mais crítica, pois não há fluido nos túbulos e o controle sobre o ressecamento ainda mais necessário para evitar o colapso da malha colágena, recurso este compartilhado com a alta capacidade de penetração dos monômeros como o HEMA (ANIDO³, 2005; GONÇALVES et al.³⁶, 1999).

O instrumento de análise morfológica utilizado foi o Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) pois possui grande resolução, profundidade de foco, facilidade de preparação e interpretação da imagem de superfícies não-planas (ESTRELA²⁸, 2001). Assim a combinação dessas propriedades tornou o MEV especialmente indicado para o estudo das superfícies, sendo uma ferramenta indispensável em pesquisas e desenvolvimento científico no campo de estudo dos materiais

(GABRIEL³², 1985). Dentro dos estudos odontológicos, vários autores utilizaram este instrumento para o estudo da zona de hibridização, assim foi possível a comparação da nossa metodologia com trabalhos existentes na literatura (PERDIGÃO et al.^{81e82}, 1994 e 1995; TAY et al.¹⁰⁴, 1996; YOSHIYAMA et al.¹²⁹, 1996; VAN MEERBEEK et al.¹¹⁹, 2000; MACARI et al.⁵³, 2002; ANIDO³, 2005; GONÇALVES³⁷, 2005).

A microscopia eletrônica baseia-se na interação de um feixe de elétrons produzido por um filamento de tungstênio ou de hexaboreto de lantânio que é reduzido por meio de lentes eletromagnéticas ao diâmetro de um nanômetro. Através de dispositivos eletrônicos este feixe é controlado de modo a varrer a superfície da amostra analisada. Os átomos da amostra são excitados ao serem impactados pelo feixe de elétrons e emitem fótons que são coletados por um detector de partículas, gerando um sinal que é amplificado e usado para modular o brilho de um tubo de raios catódicos, que é varrido simultaneamente com o feixe de elétrons. Assim, é possível obtermos imagens tri-dimensionais, facilitando a análise de superfícies, qualidade de instrumentais odontológicos, quanto ao acabamento e polimento, análise morfológica, quantitativo e qualitativo de estruturas biológicas e não biológicas (GABRIEL³², 1985; JUNQUEIRA e CARNEIRO⁴³, 1999; KITAJIMA e LEITE⁴⁷, 1999; VAN MEERBEEK et al.¹¹⁹, 2000; ESTRELA²⁸, 2001).

Realizamos em nosso estudo, o procedimento usual para análise das interfaces adesivas em MEV: desafio ácido-base que constitui na exposição das amostras ao ácido clorídrico (HCl) para desmineralizar qualquer mineral dentro da camada híbrida que não esteja protegido pela infiltração da resina, seguido pela exposição dos espécimes ao hipoclorito de sódio a 1% (NaOCl), o qual solubiliza toda a matriz dentinária desmineralizada desprotegida abaixo da camada híbrida e a matriz dentinária desmineralizada pelo HCl.

Segundo Perdigão et al.⁸¹, em 1994, o desafio do preparo da amostra para microscopia eletrônica de varredura (desafio ácido- base, fixação, desidratação, secagem e vácuo) é uma forma considerável de expor resultados relevantes da qualidade da união entre o substrato dental, os sistemas adesivos e a resina composta.

6.2 Resultados

6.2.1 Espessura de hibridização

Observamos em todos os espécimes examinados a formação da camada híbrida entre a dentina e a resina composta, independente da condição experimental. Visualizamos a camada híbrida como uma faixa mais clara do que o restante da amostra, por ser mais elétron-densa, representada nas Figuras 14, 15 e 21 a 26.

Segundo Nakabayashi e Pashley⁶⁵ em 1998, a dentina hibridizada de alta qualidade resiste tanto ao ataque ácido quanto ao proteolítico e deve resistir ao desenvolvimento de cáries recorrentes. Esta afirmativa indica que em nosso estudo obtivemos zonas de hibridização suficientemente resistentes para serem visualizadas em microscopia eletrônica de varredura.

Autores afirmam que a espessura da camada híbrida pode variar de 1 a 5µm (NAKABAYASHI et al.⁶³, 1982; VAN MEERBEEK et al.^{121e118}, em 1993 e 1994). No presente trabalho, a espessura de hibridização variou de 1,04µm a 2,71µm estando na faixa de variação encontrada pelos autores acima.

Em nossos resultados verificamos que a maior média de espessura de camada híbrida ocorreu nas amostras que receberam a aplicação do sistema adesivo *Clearfil SE Bond*, seguida pela irradiação com laser Nd:YAG com 140mJ/cm² (1,91±0,16µm). Em contraste, a

menor média de espessura da camada híbrida ocorreu no Grupo Controle com o sistema adesivo *Clearfil SE Bond* ($1,36 \pm 0,14 \mu\text{m}$), Tabelas 1 e 3. Baseados nestas informações podemos afirmar, que o sistema adesivo autocondicionante *Clearfil SE Bond* apresentou comportamentos distintos entre as amostras submetidas à irradiação laser em comparação àquelas não-irradiadas, o que mostra que o laser teve efeito crucial para o sistema adesivo autocondicionante, pois em toda a literatura e neste estudo observamos dados de menor espessura de hibridização para esses sistemas quando comparados aos convencionais sem o uso do laser.

Além disso, observamos que as amostras irradiadas pelo laser Nd:YAG com $140\text{mJ}/\text{cm}^2$, também, apresentaram as maiores médias de espessura da camada híbrida, independentemente do sistema adesivo utilizado, Tabela 2.

Verificamos também, que a atuação do sistema adesivo na espessura da hibridização não foi a mesma em cada tipo de tratamento. No grupo que não recebeu a irradiação com laser a diferença de medidas de espessura, em função do sistema adesivo empregado, é muito mais acentuada do que nos demais, sendo ($1,78 \pm 0,12 \mu\text{m}$) para o *Adper Single Bond* e ($1,36 \pm 0,14 \mu\text{m}$) para o *Clearfil SE Bond*, Tabela 1 e Figura 17. Podemos visualizar estes diferentes padrões de hibridização nas Figuras 21 e 22. Neste grupo, verificamos que os nossos resultados se assemelham aos de vários estudos que também encontraram superioridade de valores de espessura da camada híbrida para o sistema adesivo convencional *Adper Single Bond* em comparação aos valores de espessura para o sistema adesivo autocondicionante *Clearfil SE Bond* (YOSHIYAMA et al.¹²⁹, 1996; PRATI et al.⁸⁷, 1998; KWONG et al.⁵⁰, 2000; BOUILLAGUET et al.⁹, 2001; ANIDO³, 2005).

Prati et al.⁸⁷, 1998 relataram espessura de camada híbrida de 1,5 a $2,5\mu\text{m}$ para o *Single Bond* e de 0,5 a $1,5\mu\text{m}$ para *Clearfil Liner Bond 2*, resultados semelhantes aos nossos. Também corroboram com este estudo, os resultados semelhantes encontrados por Arrais e Gianini,

2002⁸ e Anido³ em 2005, cujas médias de espessura de hibridização para o sistema adesivo autocondicionante *Clearfil SE Bond* foram ($1,22 \pm 0,45 \mu\text{m}$) e ($1,53 \pm 0,11 \mu\text{m}$), respectivamente.

Toledano et al.¹¹², em 2003 obtiveram em seu estudo valores de hibridização mais altos do que os encontrados em nossa análise, foram de $4 \mu\text{m}$ para o *Adper Single Bond* e de $2,5 \mu\text{m}$ para o *Clearfil SE Bond*, devendo-se ao fato de que os autores empregaram MET, que possui maior profundidade de campo, com mais riqueza de detalhes. Além disso, o desafio ácido foi realizado com EDTA, que pode ter mantido maior remanescente de adesão.

As amostras que receberam a irradiação com laser a 60mJ/cm^2 apesar de apresentaram médias maiores para os mesmos sistemas adesivos ($1,82 \pm 0,14 \mu\text{m}$) para o *Adper Single Bond* e ($1,71 \pm 0,25 \mu\text{m}$) para o *Clearfil SE Bond*, apresentaram comportamento semelhante àquelas do grupo controle, demonstrando superioridade de média de espessura de camada híbrida para o sistema adesivo convencional *Adper Single Bond*, Tabela 1 e Figura 17.

Com relação aos grupos tratados com o laser Nd:YAG, não encontramos na literatura, estudos semelhantes para compararmos com os nossos resultados.

Constatamos que apesar do comportamento distinto resultante da interação provocada pelos diferentes parâmetros de 60 e 140mJ testados, o laser Nd:YAG influenciou positivamente na espessura da zona de hibridização. Sugerimos que esta influência em maior ou menor grau, variando com o parâmetro utilizado, se deva provavelmente, à possíveis alterações químicas e físicas, provenientes da interação da luz laser com o conjunto dentina-adesivo.

Estudos mostram que a irradiação com laser Nd:YAG, promove alterações na morfologia do substrato dentinário, provenientes da diminuição da porcentagem de cálcio e fósforo da estrutura, causando mudanças na composição orgânica da hidroxiapatita que resulta na

recristalização da mesma (KINNEY et al.⁴⁶, 1996; GONÇALVES et al.³⁶, 1999; MATSUMOTO et al.⁵⁸, 2001; SAZAK et al.⁹⁸, 2001).

Frente a estes achados, podemos afirmar que o laser Nd:YAG principalmente quando utilizado com 140mJ/cm^2 , influencia a formação da zona de hibridização, independente da estratégia de adesão, convencional ou autocondicionante. Podemos sugerir que o mecanismo de ação do laser Nd:YAG, provavelmente, promove alterações tanto no comportamento do substrato dentinário como no comportamento dos sistemas adesivos, modificando a interação destes durante o processo de adesão.

6.2.2 Análise morfológica da presença de falhas na camada híbrida

Segundo Prati et al.⁸⁹, 2000 independente da espessura da camada híbrida que é formada, a característica mais importante é a qualidade da mesma.

De acordo com Paul et al.⁷⁹, 1999 o grau de infiltração dos monômeros resinosos por toda a dentina desmineralizada, bem como a área de contato na base desta superfície, parecem ser os fatores mais relacionados com a resistência adesiva.

Quando a dentina é submetida à desmineralização por ácido, a fase mineral densa é removida e substituída por resina. Caracteristicamente, mais macia, a camada híbrida resultante não é homogênea e contém concentrações variáveis de resina. Assim, existe o risco de que instrumentos de análise de superfície como o MEV, que são usados para analisar camadas híbridas, possam danificá-las, produzindo artefatos (MILLER et al.^{59e60}, 1993 e 1994). Estes artefatos, segundo Carvalho et al.¹⁵, em 1996 e Raspanti et al.⁹⁰, em 1996 são encolhimentos nos espécimes que podem ocorrer durante o processamento e no alto vácuo do microscópio, a menos que os espécimes estejam perfeitamente infiltrados com resina. Desse modo, podemos dizer que regiões da

dentina desmineralizada e pobremente infiltradas por resina, assim como regiões fracamente aderidas, poderão apresentar encolhimentos, representados por fendas ou porosidades que são caminhos para a penetração de fluídos. Esta penetração pode causar a extração de monômeros solúveis em água e também de oligômeros de baixo peso molecular, levando à degradação da união adesiva entre resina e dentina.

Neste contexto, atribuímos escores para os níveis de presença de fendas e porosidades nas imagens obtidas para as seis condições experimentais (Quadro 3 e Figura 14).

Avaliamos a presença de falhas nas camadas híbridas, considerando que a ausência de fendas e porosidades, representada pelo escore zero, indica um melhor desempenho quanto à qualidade de sua formação.

Sabemos que uma camada híbrida homogênea promove um melhor selamento das restaurações, possibilitando maior longevidade da mesma. Quando há a presença de falhas, estas podem aumentar tornando a camada híbrida susceptível à alterações morfológicas com o passar do tempo (HASHIMOTO et al.⁴⁰, 2000).

Uma das hipóteses desse estudo foi a de que a irradiação com o laser Nd:YAG formaria uma zona de hibridização mais homogênea, em relação à condição de não-irradiação, independente do tipo de sistema adesivo utilizado.

Em nossos resultados verificamos em termos proporcionais que as amostras que receberam o sistema adesivo convencional *Adper Single Bond*, associado com a irradiação pelo laser com 140mJ/cm² apresentaram menor prevalência do escore 0 (20,8%), enquanto que a maior prevalência (62,5%) foi encontrada pelas amostras que receberam o sistema adesivo autocondicionante *Clearfil SE Bond*, associado com a irradiação pelo laser com 60mJ/cm², indicando um melhor desempenho para este grupo, na análise de falhas na camada híbrida (Tabela 7 e Figura 19). A segunda melhor prevalência de escore

zero foi encontrada pelas amostras que receberam o sistema adesivo autocondicionante *Clearfil SE Bond*, associado com a irradiação pelo laser com $140\text{mJ}/\text{cm}^2$. Baseados nestas informações podemos afirmar, que o laser Nd:YAG influenciou favoravelmente a hibridização, no que diz respeito a menor presença de falhas, nos dois parâmetros utilizados (60 ou $140\text{mJ}/\text{cm}^2$), demonstrando superioridade para o parâmetro de $60\text{mJ}/\text{cm}^2$ e apresentou, para esta análise, interação na hibridização susceptível ao tipo de sistema adesivo empregado, mostrando resultados mais favoráveis quando a irradiação se deu sobre o sistema adesivo *Clearfil SE Bond*.

Segundo alguns estudos o laser Nd:YAG promove mudanças físicas, morfológicas e químicas na camada superficial da dentina (WHITE et al.¹²⁴, 1991; MATSUMOTO e NAKAYAMA⁵⁷, 1992; TAKEDA et al.¹⁰⁹, 1998). Em estudos de análise em MEV, o laser Nd:YAG promoveu vaporização de componente orgânico e aumento de componente mineral da dentina (WHITE et al.¹²⁴, 1991; MATSUMOTO e NAKAYAMA⁵⁷, 1992), criando uma superfície irregular com múltiplas microcavidades, presumivelmente do processo de fusão e recristalização (MATSUMOTO e NAKAYAMA⁵⁷, 1992). A *smear layer* conseqüentemente, evaporada ou fundida (TAKEDA et al.¹⁰⁹, 1998), e túbulos dentinários parcialmente fechados (MATSUMOTO e NAKAYAMA⁵⁷, 1992). É possível que esta atuação do laser Nd:YAG sobre a *smear layer* favoreça o comportamento do sistema adesivo autocondicionante *Clearfil SE Bond*, uma vez, que este tem como estratégia adesiva a interação com a *smear layer*, ao contrário do sistema adesivo convencional cuja estratégia depende da remoção total desta para garantir uma interface adesiva efetiva.

Frente a esses achados, podemos sugerir que a interação do laser Nd:YAG com o conjunto adesivo-dentina, promove uma camada híbrida quimicamente diferente nas concentrações de cálcio e fosfato e com possível fusão do sistema adesivo à estrutura dentinária, conferindo

assim, uma maior homogeneidade na hibridização, e provavelmente, um aumento na resistência adesiva.

Verificamos também em nossos resultados que, em termos proporcionais, independente da irradiação com laser, as menores prevalências de escore 0, ou seja, pior desempenho, ocorreram nas amostras que receberam o sistema adesivo convencional *Adper Single Bond* se comparadas àquelas que receberam o *Clearfil SE Bond* (Tabelas 4, 5, 6 e Figuras 19), resultados estes também encontrados por Rauscher em 2003. Esta diferença entre os sistemas adesivos foi mais evidente para as amostras irradiadas pelo laser com $140\text{mJ}/\text{cm}^2$, onde foi constatada uma diferença estatisticamente significativa. O contraste entre os sistemas adesivos pode ser visualizado nas Figuras 21 a 26. Sendo bem evidente a presença de falhas nas Figuras 21, 23 e 25, que representam o *Adper Single Bond*.

A característica de uma camada híbrida mais homogênea, sem a presença de falhas nas amostras que receberam o sistema adesivo *Clearfil SE Bond* está evidente na Figuras 22, 24 e 26B.

Os sistemas adesivos convencionais podem ser considerados altamente sensíveis à técnica, aumentando a possibilidade de uma interação adesiva ineficiente com a dentina. Há a possibilidade de falhas no tempo de condicionamento ácido da dentina, falhas no controle da umidade no substrato antes da penetração do adesivo, diferenças na difusibilidade dos agentes adesivos, da necessidade da realização da evaporação do solvente, além de toda a subjetividade inerente a estas práticas, tornando o resultado de união efetiva mais difícil de se alcançar (PASHLEY et al.⁷⁴, 1992; CARVALHO¹⁶, 1998). Visando minimizar a sensibilidade técnica, realizamos uma padronização dos passos laboratoriais, assim, o resultado deste estudo pode estar relacionado mais diretamente a outros fatores, como a composição química dos adesivos e do substrato dentinário, além da interação com a irradiação laser.

Já os sistemas adesivos autocondicionantes apresentam uma menor sensibilidade técnica por que eliminam vários passos nos quais erros podem acontecer, além da vantagem na simplificação do procedimento adesivo, pela eliminação do condicionamento ácido antes da sua aplicação (RAUSCHER⁹¹, 2003; SUNDFELD et al.¹⁰¹, 2005). Em contrapartida, Carvalho et al.²⁰, em 2005 observaram que alguns adesivos autocondicionantes podem hibridizar incompletamente a dentina por seu baixo potencial acídico e presença de componentes hidrofílicos não polimerizados, resultando em sítios de degradação da união.

Nossos resultados concordam com outras pesquisas realizadas com o auxílio de MEV que mostraram que nem sempre os sistemas adesivos são capazes de criar uma interface adesiva perfeita, livre de falhas, deixando de constituir uma barreira biológica hermética (PERGIGÃO et al.⁸¹, 1994; RAUSCHER⁹¹, 2003).

Ainda, alguns autores observaram a formação de porosidades na camada híbrida com a utilização de sistemas convencionais como o *Adper Single Bond* (PERDIGÃO et al.⁸⁴, 1999; LI et al.⁵¹, 2001; TOLEDANO et al.¹¹¹, 2001). Li et al.⁵¹, 2001 observaram a penetração de corante ao longo da base da camada híbrida de forma contínua com o *Single Bond* e com o adesivo *Clearfil SE Bond*, a penetração de corante ocorreu de forma difusa e intermitente na zona de hibridização, assim como observado também por Tay et al.¹⁰⁸, 2003 e Carvalho et al.²⁰, 2005. Estes achados apóiam a idéia de que os sistemas convencionais falham com uma incompleta hibridização da dentina desmineralizada, enquanto os sistemas autocondicionantes não apresentam freqüentemente estas falhas, mas apresentam falhas em sua própria estrutura polimérica altamente permeável, o que é justificável, provavelmente, por suas características químicas finais instáveis em longo prazo (ANIDO³, 2005). Os resultados obtidos por nós com relação à presença de falhas na camada híbrida, segundo a utilização dos sistemas adesivos *Adper Single Bond* e *Clearfil SE Bond*, podem provavelmente

ser explicados por estes achados, com relação às características da hibridização formada para cada sistema adesivo.

Podemos afirmar que o laser Nd:YAG, influenciou positivamente a qualidade de hibridização, independente do parâmetro utilizado, principalmente quando associado ao sistema adesivo autocondicionante *Clearfil SE Bond*, diminuindo a prevalência de fendas e porosidades.

6.2.3 Análise morfológica da presença de *tags* e *microtags* na camada híbrida

Na formação da camada híbrida, após a desmineralização da dentina deve ocorrer a infiltração e interpenetração de monômeros que serão polimerizados na intimidade da dentina. Embora a camada híbrida seja a dentina intertubular desmineralizada infiltrada com resina, esta também é usualmente atravessada por prolongamentos de resina (*tags*) em cada túbulo dentinário. Teoricamente, os *tags* podem contribuir para a retenção da resina se eles estiverem firmemente unidos às paredes dos túbulos (NAKABAYASHI e PASHLEY⁶⁵, 1998).

Segundo Pashley et al.⁷⁸ em 1993, a retenção mecânica obtida pela camada híbrida com os *tags* e as ramificações laterais, podem ser consideradas, em essência, como a base da adesão a dentina na odontologia moderna.

Segundo Nakabayashi e Pashley⁶⁵ 1998, a integração dos *tags* dentro da camada híbrida é muito importante para produzir um selamento da superfície dentinária.

Sabemos que por meio do condicionamento ácido, a dentina peritubular é removida nos primeiros micrometros dos túbulos dentinários (de acordo com idade, profundidade, presença de esclerose dentinária), alargando o diâmetro do lúmen em cerca de 1 a 3µm. Este aumento no diâmetro promove um aumento na área de superfície na

parede tubular disponível para a difusão de resina. A maior desmineralização no topo do túbulo, confere ao mesmo um formato de funil, apresentado também nos *tags*, como resultado da infiltração de resina no seu interior. Podemos verificar o aspecto de funil dos *tags* formados após a aplicação do sistema adesivo convencional *Adper Single Bond* nas Figuras 21 e 23. (PASHLEY e CARVALHO⁷⁶, 1997; NAKABAYASHI e PASHLEY⁶⁵, 1998).

Segundo, Eick et al.²⁷, 1997 e Ferrari e Davidson²⁹, 1996, a difusão de monômeros no interior das fibrilas colágenas ao redor do lúmen do túbulo desmineralizado também confere resistência. Ao redor dos *tags* ocorre uma microhibridização nas paredes dos canalículos dentinários, que foi descrita por Van Meerbeek et al.¹²² em 2001, como uma terceira via de hibridização, além da hibridização da dentina intertubular e peritubular, cuja resistência adesiva é maior do que a resistência coesiva apresentada pelos *tags* (EICK et al.²⁷, 1997). As amostras analisadas neste estudo apresentaram a formação de *tags* com prolongamentos laterais (*microtags*) para os dois tipos de sistemas adesivos, mas em maior número para o sistema adesivo *Adper Single Bond*, como verificado ao compararmos as Figuras 21 a 26.

No geral encontramos em nossas imagens a ocorrência de *tags* em formato de funil, com maior diâmetro e presença de *microtags* nas amostras que receberam o sistema adesivo *Adper Single Bond*, independente da irradiação ou não com o laser Nd:YAG, como podemos ver nas Figuras 21, 23 e 25. Estes resultados também foram observados nos estudos de Giachetti et al.³⁴, 2004 e Anido³, 2005.

A aparência rugosa e irregular dos *tags* indica uma boa adaptação da resina à parede de dentina peritubular (PERDIGÃO e SWIFT JUNIOR⁸⁰, 1994; FERRARI e DAVIDSON²⁹, 1996; EICK et al.²⁷, 1997; VAN MEERBEEK et al.¹¹⁹, 2000). Este fenômeno conhecido como hibridização da parede peritubular é favorável ao selamento hermético do complexo dentinopulpar à microinfiltração e ingresso de microrganismos

quando ocorrer falha na adesão no topo ou na base da camada híbrida, vias frágeis na união micromecânica (VAN MEERBEEK et al.¹²², 2001).

Já para o sistema adesivo *Clearfil SE Bond* encontramos uma maior ocorrência de *tags* mais estreitos e cilíndricos desde sua origem, com menor ocorrência de *microtags* com extensão reduzida (Figuras 22, 24 e 26), assim com observado por Perdigão et al.⁸², 1994, Ferrari e Davidson²⁹, 1996 e Anido³, 2005.

Para a análise da presença de *tags* e *microtags*, atribuímos escores nas imagens obtidas para as seis condições experimentais (Quadro 4 e Figura 15).

Avaliamos a presença de *tags* e *microtags* nas camadas híbridas, considerando que a presença de ambos, representada pelo escore dois, indica um melhor desempenho desta condição experimental na formação da zona de hibridização.

Em nossos resultados verificamos em termos proporcionais que as amostras que receberam o sistema adesivo autocondicionante *Clearfil SE Bond* associado com a irradiação pelo laser com 140mJ/cm² apresentaram menor prevalência do escore dois (16,6%), enquanto que a maior prevalência (58,3%) foi encontrada pelas amostras que receberam o sistema adesivo convencional *Adper Single Bond*, associado com o mesmo parâmetro de irradiação pelo laser. Dentro do mesmo tratamento, podemos perceber que o sistema adesivo teve uma influência importante, uma vez que a sua variação promoveu a melhor e a pior situação de prevalência do escore 2, representando a presença de *tags* e *microtags* resinosos (Tabela 11 e Figura 20). A segunda melhor prevalência de escore dois foi encontrada pelas amostras que receberam o sistema adesivo convencional *Adper Single Bond*, associado com a irradiação pelo laser com 60mJ/cm². Baseados nestas informações podemos afirmar, que o laser Nd:YAG influenciou favoravelmente a hibridização, no que diz respeito à presença de *tags* e *microtags*, nos dois parâmetros utilizados (60 ou 140mJ/cm²), demonstrando superioridade

para o parâmetro de $140\text{mJ}/\text{cm}^2$ e apresentou também, para esta análise, interação na hibridização susceptível ao tipo de sistema adesivo empregado, mostrando resultados mais favoráveis quando a irradiação se deu sobre o sistema adesivo *Adper Single Bond*.

Para a análise de presença de *tags* e *microtags* vemos que o melhor desempenho é encontrado para o sistema adesivo *Adper Single Bond*, resultado também encontrado por outros autores (PERDIGÃO et al.⁸¹, 1994; FERRARI e DAVIDSON²⁹, 1996; GIACHETTI et al.³⁴, 2004; ANIDO³, 2005).

Verificamos também em nossos resultados que, em termos proporcionais, independente da irradiação com laser, as menores prevalências de escore 2, ou seja pior desempenho, ocorreram nas amostras que receberam o sistema adesivo convencional *Clearfil SE Bond* se comparadas àquelas que receberam o *Adper Single Bond* (Tabelas 7, 8, 9 e Figura 20). Esta diferença entre os sistemas adesivos foi mais evidente para as amostras irradiadas pelo laser com $140\text{mJ}/\text{cm}^2$, onde foi constatada uma diferença estatisticamente significativa, demonstrando uma superioridade para o *Adper Single Bond*. O contraste entre os sistemas adesivos pode ser visualizado nas Figuras 21 e 22, 25A e 26B, sendo bem evidente a presença de *microtags* nas Figuras 21, 23 e 25, que representam o sistema adesivo *Adper Single Bond*.

A comparação da prevalência de escore 2 entre os Grupos para o sistema adesivo *Adper Single Bond*, não apresentou diferenças estatisticamente significante. Já na comparação para o sistema adesivo *Clearfil SE Bond* houve diferença estatisticamente significante entre os grupos. Verificamos que em relação aos demais grupos, a irradiação por Nd:YAG com $60\text{mJ}/\text{cm}^2$ nas amostras que receberam este sistema adesivo, houve aumento significativo da prevalência de escore dois. Novamente vemos aqui, o mesmo ocorrido nos outros aspectos analisados em nosso trabalho, ou seja, que o laser Nd:YAG teve influência positiva na qualidade de hibridização também quanto à

presença de *tags* e *microtags*, provavelmente pelos mesmos motivos já descritos anteriormente.

Segundo Griffiths et al.³⁸1999, a formação de um efetivo selamento e conseqüente eliminação da infiltração marginal está mais baseada na habilidade do sistema adesivo em ocluir os túbulos dentinários, do que na extensão absoluta dos *tags* de resina. Além disso, uma vez que os sistemas adesivos são capazes de permear o substrato dentinário desmineralizado, espera-se o movimento de fluidos através da dentina seja completamente eliminado, desde que os túbulos dentinários estejam, pelo menos, fisicamente ocluídos pela formação dos *tags* de resina.

No entanto, a eficiência dos *tags* de resina ainda não foi totalmente avaliada e a sua capacidade de selar túbulos dentinários ainda não está totalmente esclarecida na literatura. Alguns autores acreditam que o papel dos *tags* e *microtags* na camada híbrida seja secundário. Segundo Braga e Ferracane¹¹, 2002 a importância de um selamento efetivo promovido pelos *tags* no interior dos túbulos é desconhecido, mas a união com a dentina peritubular deve ser de fundamental importância para a longevidade das uniões adesivas.

Estabelecendo uma comparação entre os aspectos avaliados em nosso trabalho, verificamos que tanto para presença de falhas, como para *tags* e *microtags* o sistema adesivo *Clearfil SE Bond* apresentou melhor desempenho quando associado ao laser no parâmetro de 60mJ. Enquanto que no aspecto espessura da camada híbrida, ocorreu o contrário, o melhor desempenho para este sistema adesivo se deu na associação com o parâmetro de 140mJ.

Com relação ao sistema adesivo *Adper Single Bond* vemos que para presença de falhas seu melhor desempenho foi quando associado ao laser com 60mJ e para presença de *tags* e *microtags* foi com 140mJ. Enquanto no aspecto espessura da camada híbrida, o

melhor desempenho para este sistema adesivo se deu na associação com o parâmetro de 140mJ.

Esta mudança de comportamento dos sistemas adesivos com relação à variação do parâmetro da irradiação com laser Nd:YAG, se deve provavelmente à diferença na intensidade de energia emitida pelo laser que no parâmetro de 140mJ/cm² é aproximadamente 133% maior do que no parâmetro de 60mJ/cm². Esta maior intensidade de energia, possivelmente promove uma maior intensidade de ação intensificando as alterações físicas, químicas e morfológicas já descritas anteriormente.

Podemos observar que para todos os aspectos avaliados nesse estudo com relação à qualidade de hibridização na dentina bovina, o laser Nd:YAG influenciou positivamente, com a ressalva da diferença de intensidade de energia utilizada.

Provavelmente isso ocorre porque além dos muitos fatores que podem interferir na formação da camada híbrida relacionados ao substrato dentinário e ao sistema adesivo, sabemos que os efeitos produzidos pelos lasers no tecido dentinário variam de acordo com a intensidade de energia e da dose aplicada (GONÇALVES³⁵, 1997; GONÇALVES et al.³⁶, 1999).

Com relação às alterações químicas, sabemos que o laser Nd:YAG promove aumento nas concentrações de cálcio e fosfato da dentina (SAZAK et al.⁹⁸, 2001; KOBAYASHI et al.⁴⁸, 2003). De acordo com Yoshida, alguns monômeros acídicos, como 10-MDP, 4-META e fenil-P, freqüentemente presentes nos sistemas adesivos autocondicionantes, têm adesão química ao cálcio da hidroxiapatita remanescente do colágeno parcialmente condicionado. Além disso, segundo Kobayashi et al.⁴⁸, em 2003 um aumento na concentração de cálcio, promove maior adesão química entre o grupo carboxilato do ácido poliacrílico presente em sistemas adesivos convencionais e o cálcio da dentina. Neste contexto podemos sugerir que em nosso estudo, a irradiação com o laser Nd:YAG pode ter promovido um aumento na concentração de cálcio e

uma interação química maior dos monômeros acídicos do *Clearfil SE Bond*, bem como, favorecido o aumento de ligações moleculares (polares e iônicas) do grupo carboxilato de ácido poliacrílico presente no *Adper Single Bond* com o cálcio da dentina.

Consideramos a importância de respostas por meio da análise da composição química da camada híbrida associada à irradiação com laser Nd:YAG, bem como, estudos analisando parâmetros adequados para aumentar a efetividade da interação adesiva entre resina e substrato dentinário, além do melhor sistema adesivo que promova através da associação com o laser Nd:YAG, melhores resultados.

Baseados no presente estudo, acreditamos que o laser Nd:YAG, utilizado nesta metodologia, após realizados os devidos esclarecimentos por nós sugeridos, poderá tornar-se uma ferramenta promissora para formação de uma camada híbrida de qualidade, capaz de um selamento eficiente que reduza ao máximo a micro e nanoinfiltrações, aumentando significativamente a longevidade de nossas restaurações adesivas.

7 CONCLUSÃO

- a) A associação da irradiação com laser Nd:YAG no parâmetro de 140mJ/cm^2 após a aplicação do sistema adesivo, previamente à fotopolimerização promoveu as maiores médias de espessura da camada híbrida, independente do sistema adesivo empregado;
- b) A menor espessura da camada híbrida foi apresentada pelas amostras que receberam a aplicação do sistema adesivo autocondicionante *Clearfil SE Bond* e não foram irradiadas pelo laser Nd:YAG;
- c) A irradiação com laser Nd:YAG no parâmetro de 140mJ/cm^2 após a aplicação do sistema adesivo autocondicionante *Clearfil SE Bond* promoveu melhor desempenho, representado por meio da formação de camadas híbridas mais homogêneas, com menor presença de fendas e porosidades;
- d) A irradiação com laser Nd:YAG no parâmetro de 140mJ/cm^2 após a aplicação do sistema adesivo convencional *Adper Single Bond* promoveu melhor desempenho, representado por meio da presença de *tags* e *microtags* nas camadas híbridas.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

1. American National Standard for the Safe Use of Lasers in Health Care Facilities. ANSI Z136.3-2007. Orlando, Florida: The Laser Institute of America, 1996.
2. Anido AA. Dentina humana e bovina, estudo comparativo da resistência adesiva em três diferentes profundidades: teste de cisalhamento [dissertação]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista; 2001.
3. Anido AA. Dentina humana e bovina - estudo da profundidade de desmineralização e da espessura da hibridização empregando-se um sistema adesivo convencional ou autocondicionante: análise em MEV [tese]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista; 2005.
4. Araújo RM. Avaliação da microinfiltração em restaurações de resina composta, influência do laser no preparo cavitário e no pré-tratamento dentinário [tese]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista; 2000.
5. Araújo RM, Araujo MAM, Silva RCSP, Gonçalves SEP, Huhtala MFRL, Rodrigues JR. Influência de diferentes meios de armazenamento de dentes extraídos na infiltração marginal. J Bras Clin Estet Odontol. 1999; 3(14): 31-5.
6. Araújo RM, Eduardo CP, Duarte Junior SL, Araujo MAM, Loffredo LC. Microleakage and nanoleakage: influence if laser in cavity

*Baseado em:

Internacional Comité of Medical Journal Editors. Bibliographic Services Division. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals: simple referents [homepage na Internet]. Bethesda: US Nacional Library; c2003 [disponibilidade em 2006 fev; citado em 20 mar.]. Disponível em : http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

- preparation and dentin pretreatment. *J Clin Laser Med Surg*. 2001 Dec; 19(6):325-32.
7. Ariyaratnam MT, Wilson MA, Blinkhorn AS. An analysis of surface roughness, surface morphology and composite dentin bond strength of human dentin following the application of the Nd:YAG laser. *Dent Mater*. 1999; 15: 223-8.
 8. Arrais CA, Giannini M. Morphology and thickness of the diffusion of resin through demineralized or unconditioned dentinal matrix. *Pesqui Odontol Bras*. 2002 Apr-Jun; 16(2):115-20.
 9. Bouillaguet S, Gysi P, Wataha JC, Ciucchi B, Cattani M, Godin C et al. Bond strength of composite to dentin using conventional, one step, and self-etching adhesive systems. *J Dent*. 2001; 29(1):55-61.
 10. Boyde A, Wood C. Preparation of animal tissues for surface scanning electron microscopy. *J. Microsc*. 1969; 90(3):221-49.
 11. Braga RR, Ferracane JL. Contraction stress related to degree of conversion and reaction kinetics. *J Dent Res*. 2002 Feb; 81(2):114-8.
 12. Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res*. 1955 Dec; 34(6):849-53.
 13. Camps J, Baudry X, Bordes V, Dejou J, Pignoly C, Ladeque P. Influence of tooth cryopreservation and storage time on microleakage. *Dent Mater*. 1996 Mar; 12(2):121-6.
 14. Carvalho RM, Yoshiyama M, Brewer PD, Pashley DH. Dimensional changes of demineralized human dentine during preparation for scanning electron microscopy. *Arch Oral Biol*. 1996 Apr; 41(4):379-86.
 15. Carvalho RM, Yoshiyama M, Pashley EL, Pashley DH. In vitro study on the dimensional changes of human dentine after demineralization. *Arch Oral Biol*. 1996 Apr; 41(4):369-77.

16. Carvalho RM. Adesivos dentinários. Fundamentos para aplicação clínica. *Rev Dent Rest* 1998;1(2):62-69.
17. Carvalho RM, Fernandes CAO, Villanuova R, Wang L, Pashley DH. Dentin Strength as a Function of Tubule Orientation and Density. *J. Dent. Res.* 1999; 78:284-284.
18. Carvalho RM, Ciucchi B, Sano H, Yoshiyama M, Pashley D H. Resin diffusion through demineralized dentin matrix. *Rev Odontol Univ São Paulo.* 1999 out/dez; 13(4):417-24.
19. Carvalho RM, Carrilho MRO, Pereira LCG, Garcia FCP, Marquezini Jr L. Durabilidad de la unión resina-dente : una dimensión olvidada. Henostroza H, Gilberto editor. *Adhesión en odontologia restauradora* Curitiba: Maio, 2003.
20. 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(1):1035-42.
21. Corrêa MD, Anauate-Netto C, Youssef MN, Carmo ARP, Kuchinski FB. Estudo micromorfológico comparativo entre dentina bovina e humana ao MEV. *Rev Pós Grad.* 2003; 10(4):312-6.
22. Cunha MRB, De Goes MF, Montes MAJR. Comparação da resistência de união de sistemas adesivos sobre a dentina aos 10 minutos e 24 horas. *Pesq Odontol Brás.* 2000; 14:71.
23. Dametto FR. Avaliação in vitro da influência de substâncias químicas auxiliares ao tratamento endodôntico na nanoinfiltração, na resistência de união e coesiva da dentina da câmara pulpar [tese]. Piracicaba: Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas; 2006.
24. Dederich DN, Zakariasen KL, Tulip J. Scanning electron microscopic analysis of canal wall dentin following neodymium Yttrium-Aluminum-Garnet laser irradiation. *J Endod.* 1984; 10(9):428-31.

25. Eduardo CP, Oliveira WT Junior, Myaki SI, Zezell DM. Estudo comparativo da resistência à força de cisalhamento da resina composta ao esmalte dental condicionado com ácido fosfórico ou laser Nd:YAG. *Rev Odontol Univ São Paulo*. 1997; 110: 245-8.
26. Eick JD, Cobb CM, Chappell RP, Spencer P, Robinson SJ. The dentinal surface: its influence on dentinal adhesion. Part I. *Quintessence Int*. 1991 Dec; 22(12):967-77.
27. Eick JD, Gwinnett AJ, Pashley DH, Robinson SJ. Current concepts on adhesion to dentin. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1997; 8(3):306-35.
28. Estrela C. Metodologia científica. São Paulo: Artes Médicas; 2001. 483 p.
29. Ferrari M, Davidson CL. In vivo resin-dentin interdiffusion and tag formation with lateral branches of two adhesive systems. *J Prosthet Dent*. 1996 Sep;76(3):250-3.
30. Franke M, Taylor AW, Lago A, Fredel MC. Influence of Nd:YAG laser irradiation on an adhesive restorative procedure. *Oper Dent*. 2006 Sep-Oct;31(5):604-9.
31. Fusayama T, Iwaku M, Kurosaki N, Nakamura M. Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. *J Dent Res*. 1979; 58(4):1364-70.
32. Gabriel BL. SEM: a user's manual for materials science. 3.ed. Ohio: Carnes Publication Services; 1985. 173p.
33. Garberoglio R, Brännstrom M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Archs Oral Biol*. 1976 Jun; 21(6):355-62.
34. Giachetti L, Bertini F, Russo DS. A scanning electron microscopic morphological analysis of demineralized bonded dentin. *J Prosthet Dent*. 2004 Sep ;92 (3):233-8.
35. Gonçalves SEP. Pré-tratamento dentinário: influência do condicionamento ácido, irradiação laser e hipermineralização na resistência ao cisalhamento de sistema adesivo Multi-Uso [tese].

- São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista; 1997.
36. Gonçalves SEP, Damião AJ, Araújo MAM. Dentin bond strength: influence of laser irradiation, acid etching and hypermineralization. *J Clin Laser Med Surg.* 1999; 17(2):77-85.
 37. Gonçalves SEP. Dentina humana e bovina - estudo comparativo das propriedades físicas e características da hibridização de sistemas adesivos convencionais ou Grandier modificados: análise em MEV [tese]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista; 2005.
 38. Griffiths BM, Watson TF, Sherriff M. The influence of dentine bonding systems and their handling characteristics on the morphology and micropermeability of the dentine adhesive interface. *J Dent.* 1999 Jan;27(1):63-71.
 39. Gutknecht N, Moritz A, Conrads G, Sievert T, Lampert F. Bactericidal effect of the Nd:YAG laser in in vitro root canals. *J Clin Laser Med Surg.* 1996 Apr; 14(2):77-80.
 40. 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 Jun;79(6):1385-91.
 41. Hecht J. Nd:YAG lasers prove versatile over three decades. *Laser Focus World.* 1992; 4:126-32.
 42. Huhtala MFRL. Avaliação laboratorial da resistência ao cisalhamento de discos de porcelana e de um polímero de vidro à dentina bovina com o emprego de cimentos adesivos [tese]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista; 1999.
 43. Junqueira LC, Carneiro J. Histologia básica. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999. 427p.
 44. Kanca Jr III. Resin bonding to wet substrate. 1. Bonding to dentin. *Quintessence Int.* 1992 Jan; 23(1):39-41.

45. Kawabata A, Kawabata H, Yagasaki A, Iwasaki H, Miyazawa H. Effects of laser irradiation on dentin in vitro morphological study following application of various type of laser. *Pediatr Dent*. 1999; 9(1):83-9.
46. Kinney JH, Balooch M, Haupt DL Jr, Marshall SJ, Marshall GW Jr. Mineral distribution and dimensional changes in human dentin during demineralization. *J Dent Res*. 1995 May; 74(5):1179-84.
47. Kitajima EW, Leite B. Curso introdutório de microscopia eletrônica de varredura. Piracicaba: NAP/MEPA, 1999. 47p. (Apostila do 25º curso de microscopia eletrônica de varredura).
48. Kobayashi CA, Fujishima A, Miyazaki T, Kimura Y, Matsumoto K, Osada T, Fukunaga H, Kawawa T. Effect of Nd:YAG laser irradiation on shear bond strength of glass-ionomer luting cement to dentin surface. *Int J Prosthodont*. 2003 Sep-Oct; 16(5):493-8.
49. Kuwana AS. Estudo morfológico e da resistência ao cisalhamento de uma resina composta à dentina bovina normal, desmineralizada e hipermineralizada após irradiação com os lasers Er:Yag e Nd:Yag, empregando um sistema adesivo autocondicionante [dissertação]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista; 2005.
50. Kwong SM, Cheung GSP, Kei LH, Itthagarun A, Smales RJ, Tay FR et al. Micro-tensile bond strengths to sclerotic dentin using a self-etching and a total-etching technique. *Dent Mater*. 2000; 18(5):359-69.
51. Li HP, Burrow MF, Tyas MJ. The effect of long-term storage on nanoleakage. *Oper Dent*. 2001 Nov-Dec; 26(6):609-16.
52. Luz MA, Arana-Chavez VE, Netto NG. Scanning electron microscopy examination of 3 different adhesive systems *Quintessence Int*. 2005 Oct; 36(9):687-94.

53. Macari S, Gonçalves M, Nonaka T, Santos JM. Scanning electron microscopy evaluation of the interface of three adhesive systems. *Braz Dent J.* 2002; 13(1): 33-8.
54. Marshall GW Jr. Dentin: microstructure and characterization. *Quintessence Int;* 1993; 24(9):606-17.
55. Matos AB, Oliveira DC, Kuramoto M Jr, Eduardo CP, Matson E. Nd:YAG laser influence sound dentin bond strength. *J Clin Laser Med Surg.* 1999; 17(4):165-9.
56. Matos AB, Oliveira DC, Navarro RS, Eduardo CP, Matson E. Nd:YAG laser influence on tensile bond strength of self-etching adhesive system. *J Clin Laser Med Surg.* 2000 Oct; 18(5):253-7.
57. Matsumoto K, Nakayama T. A morphological study on the enamel and dentin irradiated by pulsed Nd:YAG laser (DLase300). *ISLD Proceedings Third Int'l Congress on Lasers in Dentistry, Salt Lake City.* 1992 UT:135-36.
58. Matsumoto, K. et al. SEM and TEM findings of human dentin irradiated by Nd:YAG laser. *J Oral Laser Applic.* 2001; 1(3):195-9.
59. Miller RG, Bowles CQ, Eick JD, Gutshall PL. Auger electron spectroscopy of dentin: elemental quantification and the effects of electron and ion bombardment. *Dent Mater.* 1993 Jul; 9(4):280-5.
60. Miller RG, Bowles CQ, Gutshall PL, Eick JD. The effects of ion sputtering on dentin and its relation to depth profiling. *J Dent Res.* 1994 Aug; 73(8):1457-61.
61. Moritz A, Doertbudak O, Gutknecht N, Goharkhay K, Schoop U, Sperr W. Nd:YAG laser irradiation of infected root canals in combination with microbiological examinations. *J Am Dent Assoc.* 1997 Nov; 128(11):1525-30.
62. Nakabayashi N, Ashizawa M, Nakamura M. Identification of a resin-dentin hybrid layer in vital human dentin created in vivo: durable bonding to vital dentin. *Quintessence Int.* 1992; 23(2):135-41.

63. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara, E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrate. J Biomed Mater Res. 1982; 16:265-73.
64. Nakabayashi N, Nakamura M, Yasuda N. Hybrid layer as a dentin bonding mechanism. J Esthet Dent. 1991; 3(4):133-8.
65. Nakabayashi N, Pashley DH. Hybridization of dental hard tissues. Tokio: Quintessence Books, 1998. 129p.
66. Nakabayashi N, Takarada K. Effect of HEMA on bonding to dentin. Dent Mater. 1992 Mar; 8(2):125-30.
67. Nakajima M, Sano H, Burrow MF, Tagami J, Yoshiyama M, Ebisu S et al. Tensile Bond Strength and SEM evaluation of caries-affected dentin using dentin adhesives. J Dent Res. 1995 Oct; 74(10):1679-88.
68. Nakajima M, Kanemura N, Pereira PN, Tagami J, Pashley DH. Comparative microtensile bond strength and SEM analysis of bonding to wet and dry dentin. Am J Dent. 2000 Dec; 13(6):324-8.
69. Nakamichi I, Iwaku M, Fusuyama, T. Bovine teeth as possible substitutes in the adhesion test . J Dent Res. 1983; 62(10):1076-81.
70. Oda M, Oliveira DC, Liberti EA. Avaliação morfológica da união entre adesivo/resina composta e dentina irradiada com laser Er:YAG e laser Nd:YAG: estudo comparativo por microscopia de varredura. Pesq Odontol Brás. 2001; 15(4):283-9.
71. Ogata M, Okuda M, Nakajima M, Pereira PN, Sano H, Tagami J. Influence of the direction of tubules on bond strength to dentin. Oper Dent. 2001 Jan-Feb; 26(1):27-35.
72. Pashley DH. *Smear layer*: physiological considerations. Oper Dent Suppl. 1984; 3:13-29.
73. Pashley DH, Tao L, Boyd L, King GE, Horner JA. Scanning electron microscopy of the substructure of *smear layers* in human dentine. Arch Oral Biol. 1988; 33(4):265-70.

74. Pashley DH, Horner JA, Brewer PD. Interactions of conditioners on the dentin surface. *Oper Dent*. 1992; Suppl 5:137-50.
75. Pashley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: a review. *Dent Mater*. 1995 Mar;11(2):117-25.
76. Pashley DH, Carvalho RM. Dentin permeability and dentin adhesion. *J Dent*. 1997; 25(5):355-72.
77. Pashley DH, Zhang Y, Agee KA, Rouse CJ, Carvalho RM, Russell CM. Permeability of demineralized dentin to HEMA. *Dent Mater*. 2000 Jan; 16(1):7-14.
78. Pashley EL, Tao L, Matthews WG, Pashley DH. Bond strength to superficial, intermediate and deep dentin in vivo with four dentin bonding systems. *Dent Mater*. 1993 Jan; 9(1):19-22.
79. Paul SJ, Welter DA, Ghazi M, Pashley D. Nanoleakage at the dentin adhesive interface vs microtensile bond strength. *Oper Dent*. 1999 May-Jun; 24(3):181-8.
80. Perdigão J, Swift EJ. Analysis of dental adhesive systems using scanning electron microscopy. *Int Dent J*. 1994; 44(4):349-59.
81. Perdigão J, Swift EJ, Jr, Denehy GE, Wefel JS, Donly KJ. In vitro bond strength and SEM evaluation of dentin bonding systems to different dentin substrates. *J Dent Res*. 1994 Jan; 73(1):44-55.
82. Perdigão J, Lambrechts P, Van Meerbeek B, Vanherle G, Lopes AL. Field emission SEM comparison of four postfixation drying techniques for human dentin. *J Biomed Mater Res*. 1995; 29:1111-20.
83. Perdigão J, Lambrechts P, Van Meerbeek B, Braem M, Yildiz E, Yücel T et al. The interaction of adhesive systems with human dentin. *Am J Dent*. 1996 Aug; 9(4):167-73.
84. Perdigão J, Van Meerbeek B, Lopes M, Ambrose WW. The effect of a re-wetting agent on dentin bonding. *Dent Mater*. 1999; 15:282-95.

85. Perdigão J, May KN Jr, Wilder AD Jr, Lopes M. The effect of depth of dentin demineralization on bond strengths and morphology of hibrid layer. *Oper Dent*. 2000 May-Jun; 25(3):186-94.
86. Peumans M, Kanumilli P, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: a systematic review of current clinical trials. *Dent Mater*. 2005 Sep; 21(9): 864-81.
87. Prati C, Chersoni S, Mongiorgi R, Pashley DH. Resin-infiltrated dentin layer formation of new bonding systems. *Oper Dent*. 1998 Jul-Aug;23(4):185-94.
88. Prati C, Chersoni S, Mongiorgi R, Montanari G, Pashley DH. Thickness and morphology of resin-infiltrated dentin layer in young, old, and sclerotic dentin. *Oper Dent*. 1999 Mar-Apr; 24(2):66-72.
89. Prati C, Pashley DH, Chersoni S, Mongiorgi R. Marginal hybrid layer in Class V restorations. *Oper Dent*. 2000 May-Jun; 25(3):228-33.
90. Raspanti M, Alessandrini A, Gobbi P, Ruggeri A. Collagen fibrils surface: TAMFM, FEG-SEM and freeze-etching observations. *Microsc Res Tech*. 1996; 35:87-93.
91. Rauscher FC. Avaliação in vitro da qualidade da interface de adesão formada entre um sistema adesivo convencional e um autocondicionante e a dentina bovina normal e hipermineralizada: estudo em MEV [dissertação]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista; 2003.
92. Reis A, Carrilho MRO, Louguercio AD, Grande. RHM. Sistemas adesivos atuais. *J Bras Clin Odontol Integr*. 2001 Nov/Dez; 5(30):455-67.
93. Reis AF, Giannini M, Kavaguchi A, Soares CJ, Line SR. Comparison of microtensile bond strength to enamel and dentin of

- human, bovine, and porcine teeth. *J Adhes Dent.* 2004 Summer; 6(2):117-21.
94. Ribeiro CF. Avaliação da resistência adesiva à dentina tratada com os lasers Er:YAG e Nd:YAG [dissertação]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista; 2005.
 95. Sano H, Ciucchi B, Matthews WG, Pashley DH. Tensile properties of mineralized and demineralized human and bovine dentin. *J Dent Res.* 1994 Jun; 73(6):1205-11.
 96. Sano H, Yoshikawa T, Pereira PN, Kanemura N, Morigami M, Tagami J et al. Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. *J Dent Res.* 1999; 78(4): 906-11.
 97. Saunders WP. The shear impact retentive strengths of four dentine bonding agents to human and bovine dentine. *J Dent.* 1988; 16(5):233-8.
 98. Sazak H, Türkmen C, Günday M. Effects of Nd:YAG laser air-abrasion and acid-etching on human enamel and dentin. *Oper Dent.* 2001; 26(5): 476-81.
 99. Schaller HG, Weihing T, Strub JR. Permeability of dentine after Nd:YAG laser treatment: an in vitro study. *J Oral Rehabil.* 1997; 24: 274-81.
 100. Schilke R, Lisson JA, Bauss O, Geurtsen W. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. *Arch Oral Biol.* 2000; 45:355-61.
 101. Sundfeld RH, Valentino TA, de Alexandre RS, Briso AL, Sundfeld ML. Hybrid layer thickness and resin tag length of a self-etching adhesive bonded to sound dentin. *J Dent.* 2005 Sep;33(8):675-81.

102. Susin AH, Oliveira Junior OB, Achutti MAC. Espessura de camada híbrida: influência de sistemas adesivos e condições do substrato dentinário. J Bras Dent Estét. 2003 July-Set; 2(7):226-35.
103. Tagami J, Tao L, Pashley DH. Correlation among dentin depth, permeability and bond strength of adhesive resins. Dent Mater. 1990 Jan; 6(1):45-50.
104. Tay FR, Gwinnett JA, Wei SHY. Micromorphological spectrum from overdrying to overwetting acid-conditioned dentin in water-free, acetone-based, single-bottle primers/adhesives. Dent Mater. 1996 July; 12:236-44.
105. Tay FR, Gwinnett JA, Wei SH. Micromorphological spectrum of acid-conditioned dentin following the application of a water-based adhesive. Dent Mater. 1998 Sep; 14(5):329-38.
106. Tay FR, Kwong SM, Itthagarun A, King NM, Yip HK, Moulding KM et al. Bonding of a self-etching primer to non-carious cervical sclerotic dentin: interfacial ultrastructure and microtensile bond strength evaluation. J Adhes Dent. 2000; 2(1):9-28.
107. Tay FR, Pashley DH. Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin *smear layers*. Dent Mater. 2001 Jul;17(4):296-308.
108. Tay FR, Pashley DH, Peters MC. Adhesive permeability affects composite coupling to dentin treated with a self-etch adhesive. Oper Dent. 2003 Sep-Oct;28(5):610-21.
109. Takeda FH, Harashima T, Kimura Y, Matsumoto K. Comparative study about the removal of *smear layer* by three types of laser devices. J Clin Laser Med Surg. 1998 Apr; 16(2):117-22.
110. Titley KC, Chernecky R, Rossouw PE, Kulkarni GV. The effect of various storage methods and media on shear-bond strengths of dental composite resin to bovine dentine. Arch Oral Biol. 1998 Apr; 43(4):305-11.

111. Toledano M, Osorio R, de Leonardi G, Rosales-Leal JI, Ceballos L, Cabrerizo-Vilchez MA. Influence of self-etching primer on the resin adhesion to enamel and dentin. *Am J Dent*. 2001 Aug; 14(4):205-10.
112. Toledano M, Osorio R, Ceballos L, Fuentes MV, Fernandes CA, Tay FR et al. Microtensile bond strength of several adhesive systems to different dentin depths. *Am J Dent*. 2003 Oct; 16(5):292-8.
113. Tonami, K. Effect of storage on tensile strength of bovine dentin [abstract 2161]. *J Dent Res*. 1996; 75(sp.iss): 288.
114. Torii Y, Itou K, Nishitani Y, Ishikawa K, Suzuki K. Effect of phosphoric acid etching prior to self-etching primer application on adhesion of resin composite to enamel and dentin. *Am J Dent*. 2002 Oct; 15(5):305-8.
115. Torres CRG, Araújo MAM, Torres ACM. Effects of dentin collagen removal on microleakage of bonded restorations. *J Adhes Dent*. 2004; 5(1) 33-42.
116. Van Meerbeek B, Peumans M, Verschueren M, Gladys S, Braem M, Lambrechts P et al. Clinical status of ten dentin adhesive systems. *J Dent Res*. 1994 Nov; 73(11):1690-702.
117. Van Meerbeek B, Lambrechts P, Inokoshi S, Braem M, Vanherle G. Factors affecting adhesion to mineralized tissues. *Oper Dent*. 1992; Suppl 5:111-24.
118. Van Meerbeek B, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological characterization of the interface between resin and sclerotic dentine. *J Dent*. 1994; 22(3): 141-6.
119. Van Meerbeek B, Vargas M, Inoue S, Yoshida Y, Perdigão J, Lambrechts P et al. Microscopy investigations. Techniques, results, limitations. *Am J Dent*. 2000 Nov; 13(Spec No):3D-18D.

120. Van Meerbeek B, Van Landuyt K, De Munck J, Hashimoto M, Peumans M, Lambrechts P et al. Technique-sensitivity of contemporary adhesives. *Dent Mater J*. 2005 Mar; 24(1):1-13.
121. Van Meerbeek B, Dhem A, Goret-Nicaise M, Braem M, Lambrechts P, VanHerle G. Comparative SEM and TEM examination of the ultrastructure of the resin-dentin interdiffusion zone. *J Dent Res*. 1993 Feb;72(2):495-501.
122. Van Meerbeek B, Vargas M, Inoue S, Yoshida Y, Peumans M, Lambrechts P et al. Adhesives and cements to promote preservation dentistry. *Oper Dent*. 2001; 6:119-44.
123. Watanabe I, Nakabayashi N, Pashley DH. Bonding to ground dentin by a phenyl-P self-etching primer. *J Dent Res*. 1994; 73(6):1212-20.
124. White JM, Goodis HE, Rose CM, Khosrovi PM, Hornbourgen B. Shear bond strength of Nd-YAG laser treated dentin. *J Dent Res* 1991; 70: 440.
125. White JM, Goodis HE. Laser interactions with dental hard tissues-effects on the pulp/dentin complex. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON DENTIN/PULP COMPLEX, 95, 1996, Tokyo. Proceedings, Tokyo: Quintessence, p.11, 1996.
126. White JM, Neev J, Goodis HE, Berns MW. Surface temperature and thermal penetration depth of Nd:YAG laser applied to enamel and dentin. *SPIE*. 1992; 1643:423-36.
127. White JM, Goodis HE, Rose CL. Use of the pulsed Nd:YAG laser for intraoral soft tissue surgery. *Lasers Surg Med*. 1987; 7: 207-213.
128. Wigdor H, Ashrafi S, Abt E. SEM evaluation of CO₂, Nd:YAG and Er:YAG laser irradiation of dentin in vitro. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON LASERS IN DENTISTRY, 1992, Salt Lake City. Proceedings, Salt Lake City: International Society of Lasers in Dentistry, 1992. p. 131-32.

129. Yoshiyama M, Sano H, Ebisu S, Tagami J, Ciucchi B, Carvalho RM et al. Regional strengths of bonding agents to cervical sclerotic root dentin. J Dent Res. 1996 Jun; 75(6):1404-13.
130. Yoshiyama M, Matsuo T, Ebisu S, Pashley D. Regional bond strengths of self-etching/self-priming adhesive systems. J Dent. 1998 Sep;26(7):609-16.
131. Zar JH. Biostatistical Analysis. 4.ed. Prentice-Hall; 1999. 564p.

APÊNDICE

Apêndice A

Medidas em μm da espessura da camada híbrida obtidas nos diferentes corpos-de-prova.

Controle	Controle	G1	G1	G2	G2
SB	CSEB	SB	CSEB	SB	CSEB
2,15	1,77	1,50	1,45	2,03	1,74
1,76	1,62	1,55	1,26	2,22	1,93
1,84	1,72	2,03	1,26	1,74	1,74
2,23	1,21	1,45	1,35	1,50	2,32
1,67	1,43	1,50	1,11	2,08	1,98
1,77	1,96	1,79	2,08	1,89	1,74
1,89	1,41	2,18	1,45	1,93	1,69
1,91	1,17	2,03	1,45	2,03	1,89
1,48	1,40	1,50	1,93	2,13	1,98
1,57	1,35	2,27	2,32	1,74	2,08
1,64	1,35	1,89	1,93	1,35	2,03
2,08	1,23	2,03	2,03	1,50	1,89
2,01	1,11	2,37	2,37	2,71	2,03
1,43	1,38	1,26	1,35	1,93	2,13
1,65	1,31	1,59	1,30	1,84	1,89
1,89	1,09	1,45	1,79	1,98	2,52
2,16	1,16	1,59	1,64	1,79	1,74
2,06	1,31	2,37	1,40	1,79	1,50
1,47	1,33	2,03	1,84	1,98	1,74
1,45	1,28	1,55	2,27	1,45	1,64
1,59	1,72	2,22	2,08	1,98	1,93
1,62	1,19	1,79	1,93	1,69	1,93
1,48	1,23	1,89	1,74	1,93	1,79
1,89	1,04	1,98	1,69	2,03	1,93

Apêndice B

Escores atribuídos para presença de falhas na camada híbrida, nos diferentes corpos-de-prova.

Controle	Controle	G1	G1	G2	G2
SB	CSEB	SB	CSEB	SB	CSEB
0	1	2	1	3	3
0	1	0	0	1	3
0	0	1	0	1	3
0	0	1	1	1	2
3	1	1	0	1	0
3	0	1	3	1	0
0	1	3	1	1	0
0	1	3	1	0	0
0	0	0	2	0	1
1	1	1	1	1	0
1	0	0	1	3	0
1	1	0	0	0	0
3	0	1	0	1	2
3	0	0	0	2	1
1	0	1	0	1	3
1	1	1	0	3	1
3	0	0	0	0	0
2	1	0	0	3	0
1	0	0	0	1	0
1	0	0	0	0	0
1	2	1	0	1	1
0	2	1	1	2	0
0	1	0	0	1	0
1	0	1	0	1	3

Apêndice C

Escores atribuídos para presença de tags e microtags na camada híbrida, nos diferentes corpos-de-prova.

Controle	Controle	G1	G1	G2	G2
SB	CSEB	SB	CSEB	SB	CSEB
1	1	2	2	2	2
1	1	2	0	2	2
1	1	2	0	2	2
1	1	2	0	2	1
2	1	2	1	2	0
2	2	2	0	2	0
2	0	1	2	2	0
2	1	2	2	0	0
1	0	0	1	1	1
1	1	0	2	2	0
2	1	0	1	1	0
2	1	0	2	0	0
2	2	1	0	2	1
1	2	2	0	1	1
2	0	2	2	0	2
1	0	2	2	2	0
1	1	1	2	0	0
2	1	1	2	0	0
2	2	0	2	0	0
2	1	1	2	2	0
1	1	2	2	1	0
2	2	2	1	2	0
1	1	2	0	2	0
0	2	0	0	2	0

Apêndice D

Cópia de aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa-Local envolvendo animais.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Av. Eng. Francisco José Longo, 777 - Jd. São Elzevir
CEP: 13201-070 - F: (15) 3943-0028 / 3903
Fax: (15) 3943-0848 - agottih@fopas.unesp.br / hbrandao@fopas.unesp.br



CERTIFICADO
Comitê de Ética em Pesquisa
Envolvendo Animais

CERTIFICAMOS, que o protocolo nº 11/2007-PA/CEP, sobre
 “Influência da irradiação com laser Nd:YAG na qualidade da
 hibridização da dentina bovina empregando sistema adesivo
 convencional ou autocondicionante: Análise em MEV, sob
 responsabilidade de ANDRESSA DA SILVA KUWANA, está de acordo
 com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio
 Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo
 Comitê de Ética em Pesquisa.

São José dos Campos, 10 de abril de 2007.



Profa. Dra. ADRIANA AIGOTTI HABERBECK BRANDÃO
 Coordenadora do CEP/ANIMAIS/FOSJC

KUWANA AS. Nd:YAG laser influence on the hybridization quality of bovine dentine using conventional or self-etching adhesive system: analysis in MEV [Doctorate thesis]. São José dos Campos: School of Dentistry of São José dos Campos, UNESP – São Paulo State University; 2008.

ABSTRACT

The aim of this study was to assess through analyses in scanning electronic microscopy (SEM), the Nd:YAG laser influence on the hybridization quality of bovine dentine, using conventional adhesive system Adper Single Bond - 3M ESPE (SB) or self-etching adhesive system - Clearfil SE Bond - Kuraray (CSEB). Twelve extracted and frozen bovine incisors were used. The teeth were sectioned and divided in half mesio-distal section built-in acrylic resin. The buccal dentinal surface was worn out until the dentin medium depth was reached. Each specimen of the same tooth was treated on its incisal portion with SB and with CSEB in its cervical portion. The samples were divided into 3 groups with 6 specimens in each: Control group - after the application of the adhesive systems the polymerization was done; G1 - after the application of the adhesive systems the samples were lased with 60mJ /pulse and polymerized and G2 - after the application of the adhesive systems the samples were lased with 140mJ /pulse and also polymerized. All the samples received the composite resin (Filtek Z350 - 3M ESPE) increments. After 24h storage in distilled water at 37°C, the adhesion profiles were polished, submitted to the acid-base challenge, and the presence of imperfections and tags or microtags in the hybrid layer analysed using the SEM. Four measures and the mean value of each sample were obtained. The results were submitted to Analysis of Variance (ANOVA) and Tukey statistical tests ($p \leq 0,05$). Independent of the adhesive system used the G2 presented the higher average of hybrid layer thickness ($1,89 \pm 0,15$) and the Control group with the Clearfil SE Bond presented the smaller hybrid layer thickness presenting significant statistical difference from the other groups. Different scores were attributed for the degree of imperfections (0-3) and for the degree of presence of tags and microtags (0-2). The multiple comparison of ratio test determined that the lesser prevalence of imperfections was observed in the G2 treated with Clearfil SE Bond and that the best performance for the presence of tags and microtags was found in G1 treated with Adper Single Bond. Independent of the adhesive system used, the Nd:YAG laser, according to the parameter applied, had a positive influence on the hybridization quality.

KEYWORDS: Nd:YAG Laser; Dentine; Dentin-bonding agents; Hybridization ; in vitro;