



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA



Thiago Henrique Scarabello Stape

**Influência da clorexidina na resistência de união à dentina,  
morfologia de interface adesiva e nanoinfiltração de cimentos  
resinosos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica.

Uberlândia, 2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Thiago Henrique Scarabello Stape

**Influência da clorexidina na resistência de união à dentina,  
morfologia de interface adesiva e nanoinfiltração de cimentos  
resinosos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Quagliatto

Banca examinadora:

Prof. Dr. Paulo Sérgio Quagliatto

Prof. Dr. Murilo de Sousa Menezes

Prof. Dr. Fernando Mandarino

Uberlândia, 2010

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA**

A Comissão Julgadora dos trabalhos de defesa de Dissertação de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Odontologia, em sessão pública realizada em 30 de agosto de 2010, considerou o candidato Thiago Henrique Scarabello Stape \_\_\_\_\_.

1. Prof. Dr. Paulo Sérgio Quagliatto (Orientador) \_\_\_\_\_

2. Prof. Dr. Murilo de Sousa Menezes \_\_\_\_\_

3. Prof. Dr. Fernando Mandarinó \_\_\_\_\_

**Dedico este trabalho**

**a Deus**

Por abençoar todos os dias da minha vida e iluminar meu caminho,  
por me guiar nas minhas escolhas, por me ajudar nas horas difíceis  
e por me dar forças para seguir sempre em frente.

*“Uma vida não é importante, a não ser pelo seu impacto em outras  
vidas.”*

*(Jackie Robson)*

### **Aos meus pais Luceni e José Luiz,**

Que com seu carinho, paciência, sabedoria e amor me educaram e incentivaram a perseguir meus sonhos. Obrigado pela educação, base para minha vida, e pelo inesgotável apoio aos meus estudos. Obrigado por todos os exemplos de perseverança e de dedicação e acima de tudo, pela eterna compreensão. Sou grato por todos os esforços feitos para que eu conseguisse chegar aonde cheguei e deixo claro que sem seu apoio incondicional, tudo isso seria impossível. Obrigado por tudo!

### **À minha namorada Tássia Carolina,**

Que sempre foi amiga, companheira e minha confidente, obrigado por me apoiar nos momentos difíceis, pelo carinho e por toda compreensão. Sem seu apoio nada disso seria possível!

### **Ao meu irmão Glauco,**

Distante fisicamente, porém presente em meu coração, obrigado pela paciência nos momentos difíceis, pelas conversas e pelas boas risadas. Que a distância nunca seja um empecilho na nossa amizade e que nossa união se intensifique dia após dia.

### **À minha família,**

Que apesar da distância, me incentivou e ajudou em tudo que precisei.

## **Minha homenagem**

Ao meu orientador **Prof. Dr. Paulo Sérgio Quagliatto**,

Meu reconhecimento e agradecimento pela oportunidade a mim concedida. Com seu jeito irreverente, amistoso e alegre conduziu minha orientação me dando liberdade e apoiando minhas ideias, sempre me deixando extremamente à vontade e confortável para exercer todas as atividades do curso de Mestrado. Além de tudo, me levou para dentro de sua casa, permitindo que eu me aproximasse e participasse da sua vida familiar. Deixo aqui minha eterna gratidão pela confiança e pelos ensinamentos clínicos, laboratoriais e especialmente pelas inestimáveis lições de bom relacionamento humano e sempre com demonstrações de humildade e honestidade.

## Meus agradecimentos especiais

*"O importante não é vencer todos os dias, mas sim lutar sempre."*

*(Waldemar Valle Martins)*

Ao **Prof. Dr. Murilo de Sousa Menezes**, exemplo de honestidade e competência, que nos meus momentos de maior dificuldade acreditou na minha capacidade e mesmo sempre extremamente atarefado disponibilizou tempo para esclarecer dúvidas e passar adiante ensinamentos em relação à realização de várias etapas laboratoriais realizados nessa dissertação. Obrigado por me aconselhar, me instruir para que eu conseguisse seguir em frente e pela amizade.

Ao **Prof. Dr. Carlos José Soares** por incentivar e despertar o desenvolvimento do senso crítico científico em todos os seus alunos.

Ao magnífico reitor da UFU **Prof. Dr. Alfredo Júlio Fernandes Neto** pelo exemplo de humildade e competência e pelo constante incentivo para que seus alunos busquem sempre qualificação e crescimento pessoal e profissional.

Aos membros da banca de qualificação, **Prof. Dr. Paulo Vinícius, Prof. Dr. Paulo César e Prof. Dr. Márcio Magno Costa**, não só pela amizade, mas também pela excelente convivência nesses últimos anos e, da mesma forma, aos demais professores da FOUFU que contribuíram direta ou indiretamente para realização desse trabalho **Prof.<sup>a</sup> Veridiana, Prof.<sup>a</sup> Gisele, Prof. Jonas e Prof. Dr. Denildo**.

A meus amigos **Sérgio Sargentti, Guilherme Sargentti, Leandro Zuccoli, Alexandre Aurélio de Moraes** pela grande amizade, pelos conselhos, pelos momentos de descontração, pelo apoio nas dificuldades, pela paciência, transparência, preocupação e sinceridade. Ser amigo é *dizer o que se pensa e falar com a razão, dar o ombro e jamais se ausentar nas horas difíceis. Obrigado por me tratarem dessa forma tão especial e com tanto respeito. Só existe uma coisa melhor do que fazer novos amigos: conservar os antigos.*

*A todos meus amigos do mestrado, **Gabriela Mesquita, Luciana Zaramela, Bruno Barreto, Crisnicaw Veríssimo, Luis Raposo, João Paulo Lyra Silva, Lucas Dantas, João Paulo Neto, George** que de diferentes formas contribuíram para a realização desse trabalho. Obrigado pela amizade, pelo apoio e pelo incentivo.*

*À essa grande casa e família, **Área de Dentística e Materiais Odontológicos da FOUFO**, composta por todos os colegas que ali compartilharam o mesmo local de trabalho e estudo.*



## **Meus Agradecimentos**

À Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia (FOUFU), casa me acolheu e que tanto me orgulho.

Ao Sr. Advaldo sempre bem humorado e disposto a ajudar e solucionar problemas.

À Abigail e Graça, secretárias do programa de mestrado da FOUFU, profissionais competentes que trabalham nos bastidores fazendo com que tudo funcione sempre de forma gentil, humana e bem humorada.

Ao Prof. Dr. Elliot W. Kitajima, responsável pelo Núcleo de apoio a Pesquisa em Microscopia Eletrônica de Varredura Aplicada a Agronomia NAP-MEPA da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, pelo auxílio nas microscopias e por abrir as portas de seu laboratório para a realização das microscopias desse trabalho.

## SUMÁRIO

LISTAS .....	12
I. Figuras.....	12
II. Tabelas.....	15
III. Siglas e Abreviaturas.....	16
IV. Palavras Estrangeiras.....	17
RESUMO .....	18
ABSTRACT .....	19
1. INTRODUÇÃO .....	20
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	24
3. PROPOSIÇÃO.....	54
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	56
4.1 - Seleção e Preparo Oclusal dos Dentes.....	57
4.2 - Confecção das restaurações indiretas.....	59
4.3 - Divisão dos grupos.....	60
4.4- Tratamento das restaurações indiretas.....	61
4.5 – Cimentação.....	61
4.6 - Secção dos Palitos.....	67
4.7 - Ensaio de Microtração.....	70
4.8 - Análise da interface adesiva.....	71
4.9 – Nanoinfiltração.....	72

5. RESULTADOS.....	74
5.1 – Microtração.....	75
5.2 - Morfologia da interface adesiva.....	76
5.2 – Nanoinfiltração.....	79
6. DISCUSSÃO.....	81
7. CONCLUSÃO.....	89
REFERÊNCIAS.....	91

## LISTAS DE FIGURAS E SIGLAS

### 1. Figuras

**Figura 1.** Inclusão dos dentes em resina de poliestireno: (A) fixação do dente com cera utilidade dentro do tubo de PVC, (B) nivelamento das cúspides com delineador, (C) colocação da resina de poliestireno dentro do tubo de PVC, (D) polimerização da resina e (E) remoção do tubo de PVC.

**Figura 2.** Planificação oclusal: (A) fixação do conjunto dente/resina de poliestireno no dispositivo de suporte, (B) remoção do esmalte e parte da dentina superficial e (C) dente com “*smear layer*” padronizado após a verificação da completa ausência de esmalte.

**Figura 3.** Confeção das restaurações indiretas em resina composta: (A) matriz de teflon e resina composta utilizadas, (B) acomodação do primeiro incremento de 2 mm resina dentro da matriz, (C) verificação da adaptação do incremento de resina composta no interior da matriz, (D) fotopolimerização por 40 segundos, (E) repetição dos passos C e D para o completo preenchimento da matriz e (F) blocos de resina sacados do interior da matriz após polimerização.

**Figura 4.** Cimentação do grupo ARC: (A) condicionamento ácido da dentina por 15 segundos, (B) lavagem por 30 segundos e controle de umidade com tiras de papel absorvente, (C) aplicação do primer e secagem para evaporação do solvente, (D) aplicação do adesivo, (E) fotopolimerização do sistema adesivo por 20 segundos, (F) manipulação em placa de vidro e aplicação do cimento RelyX ARC na superfície dentinária, (G) posicionamento da restauração e aplicação da carga de 3 Kg por 3 minutos e (H) fotopolimerização do cimento resinoso.

**Figura 5.** Cimentação do grupo U100: (A) controle de umidade da superfície dentinária, (B) manipulação em placa de vidro e aplicação do cimento RelyX U100 sobre a dentina, (C) posicionamento da restauração e aplicação da carga de 3KG por 3 minutos e (D) fotopolimerização do cimento resinoso.

**Figura 6.** Cimentação do grupo ARC/CHX: (A) condicionamento ácido da dentina por 15 segundos, (B) lavagem por 30 segundos (C) controle de umidade com tiras de papel absorvente, (D) aplicação da CHX por 60 segundos, (E) controle de umidade com tiras de papel absorvente, (F) aplicação do primer e secagem para evaporação do solvente, (G) aplicação do adesivo, (H) fotopolimerização do sistema adesivo por 20 segundos, (I) manipulação em placa de vidro e aplicação do cimento RelyX ARC na superfície dentinária, (J) posicionamento da restauração e aplicação da carga de 3 Kg por 3 minutos e (K) fotopolimerização do cimento resinoso.

**Figura 7.** Cimentação do grupo U100: (A) controle de umidade da superfície dentinária, (B) aplicação da CHX por 1 minuto, (C) controle da umidade com tiras de papel absorvente (D) manipulação em placa de vidro e aplicação do cimento RelyX U100 sobre a dentina, (E) posicionamento da restauração e aplicação da carga de 3 Kg por 3 minutos e (F) fotopolimerização do cimento resinoso.

**Figura 8.** Secção dos palitos: (A) Inclusão do conjunto dente-restauração em molde metálico de base quadrada, (B) remoção do conjunto dente-restauração do molde metálico, (C) colagem em placa de acrílico, (D) demarcação do perímetro da base quadrada na placa de acrílico, (E) secção no ocluso-gengival no sentido mesio-distal com disco diamantado na cortadeira de precisão, (F) remoção da placa de acrílico, rotação de 90° e recolagem na placa de acrílico, (G) proteção da porção coronária com godiva e secção ocluso-gengival no sentido vestibulo-lingual, (H) secção da porção coronária com disco diamantado e (I) à direita, a porção coronária com os palitos no seu interior e à esquerda, base de resina de poliestireno com remanescente da raiz no seu interior.

**Figura 9.** Fixação dos palitos na garra do dispositivo de Geraldelli para o ensaio de Microtração: (A) colocação do adesivo a base de cianocrilato nas extremidades do palito, (B) posicionamento do palito na garra e colocação do adesivo cobrindo toda a extremidade do palito para obtenção uma colagem efetiva, (C) aplicação do acelerador de cura para adesivos a base de

cianocrilato e (D) fixação da garra no dispositivo de Geraldeli para realização do ensaio de microtração.

**Figura 10.** MEV representativa em modo elétron secundário da interface adesiva do grupo ARC, aumento 3.660X. Notar a presença de camada híbrida e a homogeneidade dos “tags” resinosos que apresentam superfícies lisas.

**Figura 11.** MEV representativa em modo elétron secundário da interface adesiva do grupo ARC/CHX, aumento 5.000X. Notar o aspecto granuloso na superfície dos “tags” resinosos.

**Figura 12.** MEV representativa em modo elétron secundário da interface adesiva do grupo U100, aumento 2.000X. Notar a ausência de uma camada híbrida bem estabelecida.

**Figura 13.** MEV representativa em modo elétron secundário da interface adesiva do grupo U100/CHX, aumento 1.490X. Notar a grande quantidade de espaços vazios próximos à dentina pré-tratada com CHX e a separação do cimento resinoso do substrato dentinário frequentemente observada nesse grupo.

**Figura 14.** MEV representativa em modo elétron retroespalhado, aumento 2.000X, para análise de nanoinfiltração da interface adesiva do grupo ARC (A) e do grupo ARC/CHX (B). Notar um aumento discreto na expressão de nanoinfiltração no grupo ARC/CHX (B) em relação ao grupo ARC (A). A nanoinfiltração ocorre principalmente pelos túbulos dentinários não sendo observada na continuidade do filme cementário em ambos os grupos, além do mais, os depósitos de prata são encontrados na base da camada híbrida.

**Figura 15.** MEV representativa em modo elétron retroespalhado, aumento 2.000X, para análise de nanoinfiltração da interface adesiva do grupo U100 (A) e grupo U100/CHX (B). Notar um aumento na expressão de nanoinfiltração no grupo U100/CHX (B).

## **II. TABELAS**

**TABELA 1.** Cimentos resinosos e suas características.

**TABELA 2.** Divisão dos grupos, (n=10).

**TABELA 3.** Resistência de União, em MPa, em função do tratamento do substrato dentinário.

**TABELA 4.** Padrões de falha.

### III. SIGLAS E ABREVIATURAS

CHX – Clorexidina.

mm – Unidade de comprimento (milímetro).

mW/cm<sup>2</sup> – Unidade de densidade de energia (miliwatts por centímetro quadrado).

mm/min – Unidade de velocidade (milímetro por minuto).

*p* – Probabilidade.

% - Porcentagem

°C – Unidade de temperatura (graus Celsius).

MEV – Microscopia eletrônica de varredura.

s – Unidade de tempo (segundo).

min – Unidade de tempo (minuto).

MPa – Megapaschal

° - Unidade de angulação.

± - Mais ou menos.

µm – unidade de medida (micrômetro).

X – Magnitude de aumento de tomada de imagem.



#### IV. PALAVRAS ESTRANGEIRAS

Dual – Sistema de cura que associa a polimerização química e física, pela ativação com luz (dupla polimerização).

*et al.* – Abreviatura de “et alii”(e colaboradores).

Primer – Modificador de superfície.

Bond – Adesivo.

Automix – cimento resinoso apresentado em capsulas para manipulação em amalgamador.

Total-etch – Sistema adesivo que necessita de condicionamento ácido do substrato dental seguido de lavagem previamente a seu uso.

Stub – Suporte metálico utilizado em microscopia eletrônica de varredura.

Tags – Prolongamentos resinosos.

Backscattered electron – elétron retroespalhado

Smear Layer – lama dentinária.

## RESUMO

Esse estudo avaliou a morfologia da interface adesiva, nanoinfiltração e resistência de união dentinária de dois cimentos resinosos, RelyX ARC e RelyX U100 unidos à dentina pré-tratada e não tratada com digluconato de clorexidina 2%. As superfícies oclusais de quarenta terceiros molares hígidos foram planificadas com lixas de carbureto de silício e blocos de resina composta foram cimentados na dentina exposta tratada ou não tratada com clorexidina. Quatro grupos experimentais foram obtidos (n=10): ARC, U100, ARC/CHX e U100/CHX. Os grupos controle, ARC e U100, não foram tratados com clorexidina. Os grupos experimentais foram tratados com clorexidina previamente à cimentação. Após o armazenamento em água destilada por 24h, foram seccionados palitos de dimensão 0,9 x 0,9 mm de secção transversal. Oito palitos selecionados aleatoriamente foram submetidos ao ensaio de microtração a 0,5 mm/min até sua ruptura. Dois palitos foram preparados para avaliação morfológica da interface adesiva por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Os dois palitos restantes foram infiltrados com nitrato de prata amoniacal para análise da nanoinfiltração na interface adesiva. Os espécimes para nanoinfiltração foram cobertos com carbono e examinados em modo elétron retroespalhado. Os resultados do teste de microtração foram analisados com ANOVA seguido do Teste de Tukey ( $p<0,05$ ): ARC ( $42.72 \pm 4.3$ )<sup>A</sup>, ARC/CHX ( $39.19 \pm 9.62$ )<sup>A</sup>, U100 ( $12.98 \pm 3.43$ )<sup>B</sup>, U100/CHX ( $11.97 \pm 2.6$ )<sup>B</sup>. Aumento na nanoinfiltração foi constatado nos grupos tratados com clorexidina para ambos os cimentos. Não foi observada a formação de camadas híbridas bem caracterizadas nos grupos U100 e U100/CHX. Embora o pré-tratamento com clorexidina não tenha afetado a resistência de união dos cimentos, seu uso associado a cimentos autoadesivos afetou adversamente a morfologia da interface adesiva o que pode comprometer a sua estabilidade com o passar do tempo.

**PALAVRAS-CHAVE:** clorexidina, cimento resinoso e nanoinfiltração.

## ABSTRACT

This study focused on adhesive interface morphologic characterization, nanoleakage expression and microtensile bond strength of two resin cements (RelyX ARC and RelyX U100) bonded to human dentin treated with Chlorhexidine. Forty non-carious third molars were ground flat to expose superficial dentine. Composite blocks were luted to the exposed dentine with/without chlorhexidine pre-treatment. Four experimental groups (n=10) were obtained: ARC, U100, ARC/CHX and U100/CHX. Control groups, ARC and U100, were not treated with chlorhexidine. Experimental groups, ARC/CHX and U100/CHX, were pre-treated with chlorhexidine prior to the luting process. After storage in water for 24h, the bonded teeth were sectioned into 0.9 x 0.9 mm cross sectional area sticks. Eight random sticks from each tooth were submitted to microtensile bond test at a crosshead speed of 0.05 mm/min until failure. Two sticks were prepared for hybrid layer evaluation by SEM analysis. Two sticks were immersed in silver nitrate for 24h for nanoleakage evaluation. Nanoleakage samples were carbon coated and examined using backscattered electron mode. Bond strength data were analyzed with analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey Test ( $p<0,05$ ): ARC ( $42.72 \pm 4.3$ )<sup>A</sup>, ARC/CHX ( $39.19 \pm 9.62$ )<sup>A</sup>, U100 ( $12.98 \pm 3.43$ )<sup>B</sup>, U100/CHX ( $11.97 \pm 2.6$ )<sup>B</sup>. An increase in nanoleakage was observed in groups treated with chlorhexidine for both resin cements. No well- established hybrid layer was identified in the U100 groups. Even though the use of chlorhexidine did not interfere on the bond strength values within each cement, its use along with self-adhesive cements adversely affects the resin-dentin bond morphology which in turn might compromise the resin-dentin bond stability over time.

**KEYWORDS:** chlorhexidine, resin cement and nanoleakage.

## **INTRODUÇÃO**

---

## 1. INTRODUÇÃO

Desde o princípio da odontologia adesiva (Buonocore, 1955) tem-se observado um constante aprimoramento nas propriedades físicas e mecânicas de materiais resinosos adesivos utilizados na odontologia. Melhoras significativas ocorreram na resistência de união e na capacidade seladora junto à dentina (Breschi et al., 2008). Atualmente na odontologia, cimentos resinosos são amplamente utilizados em procedimentos restauradores (Hikita et al., 2007; Brunzel et al., 2010), devido a sua capacidade de adesão às estruturas dentais o que permite a realização de técnicas restauradoras menos invasivas e consequentemente, maior conservação de estrutura dental sadia (Vrochari et al., 2010). Os cimentos resinosos possuem propriedades físicas e mecânicas superiores aos cimentos tradicionais, no entanto, estão sujeitos a degradação da sua interface adesiva comumente observada em procedimentos adesivos (Hashimoto et al., 2000). Consequentemente, essa degradação pode inviabilizar o sucesso clínico de restaurações indiretas, uma vez que, a técnica de cimentação é um fator de extrema importância na união entre a restauração e a estrutura dental (Radovic et al., 2008).

Com o intuito de reduzir a possibilidade de erros de aplicação inerentes à técnica de cimentação e facilitar o dia-a-dia na clínica odontológica, novos cimentos resinosos, que dispensam o condicionamento ácido da estrutura dental, foram desenvolvidos e têm sido extensivamente estudados (De Munck et al., 2004; Gerth et al., 2006; Goracci et al., 2006; Al-Assaf et al., 2007; Chieffi et al., 2007; Han et al., 2007; Hikita et al., 2007; Monticelli et al., 2008; Radovic et al., 2008; Brunzel et al., 2010; Vrochari et al., 2010). Tais cimentos possuem monômeros metacrilatos multifuncionais com grupos funcionais constituídos por ácido fosfórico que, em função seu baixo pH inicial (Han et al., 2007), desmineralizam e infiltram o substrato dental simultaneamente (Radovic et al., 2008), reintroduzindo o conceito de utilização da “*smear layer*” como substrato de união. Nesse mecanismo, ocorre união micromecânica e química entre os monômeros ácidos e o substrato dental (Gerth et al., 2006).

Mesmo sendo considerados materiais de eleição em muitos procedimentos odontológicos, a união de materiais resinosos à dentina se degrada com passar do tempo (Hashimoto et al., 2000; Hashimoto et al., 2003), constituindo um desafio constante para o desenvolvimento de novos materiais e técnicas de cimentação. Fatores extrínsecos como a degradação da porção resinosa pela sorção de água (Hashimoto et al., 2003; de Munck et al., 2009) e intrínsecos como a hidrólise de fibrilas colágenas, presentes na interface de união entre o material resinoso e a dentina, pela ação de metaloproteinases endógenas (Pashley et al., 2004), parecem ser os fatores mais relevantes nesse contexto. Além da degeneração causada por metaloproteinases endógenas, os odontoblastos presentes no complexo dentino-pulpar possuem canais iônicos sensíveis ao pH, denominados TREK-1 (Magloire et al., 2003), que secretam tais enzimas quando estimulados por adesivos “*self-etch*” com baixos pH (Lehmann et al., 2009), criando mais um desafio para a odontologia adesiva. A consequente redução da estabilidade de união contribui para a ocorrência das principais causas de falha de restauração adesivas envolvendo materiais resinosos como perda de retenção e a desadaptação marginal (Mjor & Gordan, 2002). Em vista de que quanto maior a resistência de união entre o material resinoso e o substrato dentário, melhor será seu comportamento em relação às tensões encontradas no ambiente oral (De Munck et al., 2005), valores de resistência de união altos e estáveis entre cimentos resinosos e dentina devem ser obtidos para favorecer os aspectos biomecânicos do sistema dente/restauração (Hikita et al., 2007).

Diante dessas dificuldades, a inibição da ação de metaloproteinases pode ser benéfica para a estabilidade de união entre os materiais resinosos adesivos e a dentina (Garcia-Godoy et al., 2006) uma vez que a integridade e estabilidade das fibrilas colágenas compõe a base estrutural das camadas híbridas (Nakabayashi et al., 1982). A clorexidina, mesmo em baixas concentrações, age como um inibidor sintético de metaloproteinases (Gendron et al., 1999) e quando utilizada em procedimentos adesivos *in vivo* em dentes decíduos (Hebling et al., 2005) e em dentes permanentes (Brackett et al., 2007; Carrilho et al., 2007a; Komori et al., 2009) previne a degeneração endógena

colagenolítica e gelatinolítica da interface adesiva. Além do mais, esse inibidor sintético de metaloproteinases também possui ação antimicrobiana (Matthijs & Adriaens, 2002). Dessa forma, o uso de clorexidina pode ser indicado previamente à realização de procedimentos restauradores adesivos em algumas situações (Gurgan et al., 1999; Sobral et al., 2005). No entanto, o pré-tratamento dentinário com clorexidina pode interferir negativamente no processo de união de materiais resinosos. Estudos prévios que utilizaram sistemas adesivos “*total-etch*” e “*self-etch*” demonstraram resultados contraditórios; alguns sugerem que a clorexidina influencia negativamente na eficiência de união de materiais resinosos à dentina (Tulunoglu et al., 1998; Gurgan et al., 1999), enquanto outros sugerem que o uso de clorexidina não interfere na resistência de união assim como na capacidade seladora de sistemas adesivos (Meiers & Kresin, 1996; Soares et al., 2008). Dessa forma, especula-se que o efeito da clorexidina na capacidade seladora e na resistência de união à dentina pode estar associado ao tipo de material resinoso utilizado. Levando em conta o conceito de que uma união forte e estável entre materiais resinosos e dentina é de extrema importância na determinação da durabilidade do complexo restaurador, a maioria dos materiais resinosos condiz com essa necessidade imediatamente após sua utilização, no entanto uma redução considerável na efetividade dessa união é observada com o passar do tempo (De Munck et al., 2005). Dessa forma, tratamentos dentinários que antecedam procedimentos adesivos preferencialmente não deveriam interferir de forma negativa na resistência de união imediata de materiais resinosos, pois a resistência de união invariavelmente tende a diminuir com o passar do tempo. Diante desse contexto, a seguinte hipótese nula foi gerada: o uso da clorexidina no pré-tratamento dentinário não influencia a resistência de união dentinária e a nanoinfiltração de cimentos resinosos convencionais e cimentos resinosos autoadesivos.

## **REVISÃO DE LITERATURA**

---



## 2. REVISÃO DE LITERATURA

Nakabayashi et al., em 1982, avaliaram a união entre monômeros resinosos 4-META, contendo grupos hidrofílicos e hidrófobos, à dentina e ao esmalte. O condicionamento dos substratos dentários com cloreto férrico 3% e ácido cítrico 10%, previamente à união, mostrou-se eficiente em facilitar a infiltração dos monômeros resinosos no substrato dentário. Após a polimerização, foi observada uma boa adesão entre os monômeros e o substrato dentário. A resistência à tração entre o monômero e a dentina foi de 18 MPa. A avaliação por meio de microscopia eletrônica de transmissão sugeriu a existência de boa afinidade entre os monômeros e o substrato dentário. Ao contrário do que se pensava anteriormente, essa boa adesão não foi promovida por embricamento mecânico dentro dos túbulos dentinários, mas sim pela formação de uma camada híbrida, contendo fibrilas colágenas infiltradas por monômeros resinosos sobre a extensão da superfície dentinária.

Söderholm et al., em 1990, investigaram se o armazenamento em água provoca danos permanentes em compósitos avaliando a resistência a tração de diferentes compósitos após o armazenamento em água seguido de desidratação. Os resultados comprovaram que a água tem um efeito irreversível na maioria dos compósitos dentais. As amostras que foram envelhecidas em água e testadas foram significativamente ( $p < 0,05$ ) mais fracas do que as amostras que foram posteriormente desidratadas. No entanto, alguns compósitos não apresentaram qualquer tendência para recuperar sua resistência à tração original após a desidratação.

Sano et al., em 1994, avaliaram a infiltração marginal através da análise da interface resina/dentina usando um Cryo-SEM e um método de penetração de íons de prata. Cavidades Classe V foram restauradas com um sistema adesivo após condicionamento com gel de ácido fosfórico 37%. A adaptação da parede da cavidade foi observada usando Cryo-SEM para evitar danos aos espécimes. Esta observação mostrou excelente adaptação marginal do material resinoso às paredes da cavidade sem a formação de fendas. No entanto, os íons de prata penetraram abaixo da camada de resina quando a

interface adesiva foi observada com as imagens convencionais de MEV, mostrando o vazamento de íons de prata entre a resina e estrutura do dente descalcificado. Os autores sugerem que as ligações dos monômeros Clearfil Photo Bond não foram plenamente capazes de penetrar na dentina desmineralizada após o condicionamento com ácido fosfórico, deixando assim uma zona porosa como uma via de infiltração abaixo da camada híbrida.

Sano et al., em 1995, considerando que a maioria dos estudos de microinfiltração envolvem quantificar a magnitude do movimento de uma molécula marcadora através de uma fenda entre os materiais restauradores e a parede do preparo cavitário, analisou a migração de nitrato de prata na interface entre dentina e cinco sistemas adesivos. Diferentes padrões de infiltração foram observados, mas todos indicaram infiltração através da camada híbrida quando visualizadas por MEV. A classificação da microinfiltração decrescente foi: All-Bond 2 > Suberbond C & B > Scotchbond Multi-Purpose > Clearfil Liner Bond System > System Kuraray Experimental, KB-200. Para distinguir este tipo especial de infiltração na região basal, porosa da camada híbrida na ausência, os autores propõem a utilização do termo nanoinfiltração.

Perdigão et al., em 1995, relataram que a secagem ao ponto crítico (SPC) é geralmente considerada essencial para a preparação de amostras biológicas para microscopia eletrônica. Várias tentativas foram feitas para introduzir técnicas alternativas. Mais recentemente, este problema surgiu na odontologia, devido ao desenvolvimento de novos sistemas adesivos. Dessa forma, os autores avaliaram três técnicas alternativas para SPC: secagem com hexametildissilazana (HMDS), secagem com Peldri II e secagem ao ar. Vinte e quatro discos de dentina foram obtidos a partir de molares humanos hígidos e foram seccionados paralelamente à superfície oclusal. As superfícies dos discos de dentina foram condicionadas com ácido fosfórico 10% semi gel livre de sílica, fixadas, desidratadas, e secas com uma das quatro técnicas. Os espécimes foram observados em dois planos perpendiculares, mostrando túbulos dentinários em vista longitudinal e transversal, utilizando um microscópio de varredura. A zona de dentina intertubular desmineralizada foi

composta de três camadas sucessivas, que não foram diferentes substancialmente entre SPC e secagem com Peldri II, mas foram mais evidentes em amostras secas com HMDS. Os autores concluíram que a secagem com HMDS parece preservar melhor a rede de colágeno e a microporosidade da superfície da dentina desmineralizada. Além disso, essa secagem é fácil de se executar. O método de secagem ao ar pode causar alguns artefatos, mas ainda assim pode ser uma alternativa.

Meiers et al., em 1996, analisaram o efeito sobre a microinfiltração de dois desinfetantes dentinários, um à base de clorexidina e outro a base de I<sub>2</sub>-KI/CuSO<sub>4</sub>, usados para a lavagem da cavidade antes da aplicação de dois sistemas adesivos: Tenure e Syntac em restaurações Classe V de resina composta. Os preparos cavitários foram confeccionados em molares extraídos com margens oclusais em esmalte e as margens gengivais em cimento. Os preparos foram tratados com Syntac ou Tenure, em combinações de uma a duas lavagens com os desinfetantes Syntac ou Tenure, ou com um dos desinfetantes. As amostras foram termocicladas, coradas e seccionadas para avaliar a penetração do corante. A lavagem com clorexidina não afetou significativamente a microinfiltração quando comparada com os grupos controle, enquanto a lavagem com I<sub>2</sub>-KI/CuSO<sub>4</sub> resultou em infiltração marginal gengival significativamente maior quando utilizado com Syntac. Dessa forma, os autores concluíram que o uso de desinfetantes em restaurações de resina composta parece ser material específico.

Göpferich, em 1996, relatou as características mais importantes na degradação e erosão dos polímeros biodegradáveis *in vitro*. Parâmetros de degradação química, que é a cisão da cadeia polimérica principal, foram descritos como: o tipo de polímero de ligação, o pH e composição do copolímero. O autor concluiu que a degradação leva à erosão e perda de material da massa polimérica.

Van Meerbeek et al., no ano de 1998, em revisão de literatura, relataram que o desempenho clínico dos adesivos melhorou significativamente, permitindo que restaurações adesivas sejam realizadas com um elevado nível de previsibilidade do sucesso clínico. A maioria dos sistemas adesivos

modernos são superiores aos seus antecessores, especialmente em termos de retenção, o que já não constitui a principal causa de falha clínica precoce. No entanto, os sistemas adesivos ainda não são capazes de garantir restaurações hermeticamente seladas, com margens livres de descoloração por um longo tempo.

Tulunoglu et al., em 1998, avaliaram o efeito sobre a microinfiltração de dois desinfetantes, uma a base de clorexidina e outros de base alcoólica, usados como desinfetantes de preparos cavitários antes da aplicação dos sistemas adesivos Syntac e Prime & Bond em restaurações Classe V de resinas compostas. Crianças com idade entre 10-12 anos de idade, com lesões cáries nos segundo molares decíduos, foram selecionados para este estudo. Todos os dentes foram extraídos um mês após o ato restaurador, corados e seccionados para avaliar a penetração do corante. A solução de clorexidina produziu um efeito adverso sobre os sistemas adesivos Syntac e Prime & Bond aumentando significativamente a microinfiltração.

Spencer & Swafford, em 1999, levando em conta que o uso de sistemas adesivos dentinários “*total-etch*” produzem penetração inadequada do sistema adesivo na dentina desmineralizada, o que resulta em uma zona com fibrilas colágenas desprotegidas que pode ser degradada comprometendo a união do adesivo à dentina, desenvolveram uma técnica não destrutiva para avaliar a presença dessa zona de colágeno exposta. Por meio de microscopia ótica, realizaram a coloração de Goldner's trichrome e identificaram as zonas de fibrilas colágenas incompletamente infiltradas na utilização dos adesivos “*total-etch*” testados e ressaltaram a importância da identificação *in vitro* de falhas na interface adesiva para determinar regiões que podem se tornar vulneráveis em situações clínicas.

Gurgan et al., em 1999, avaliaram o efeito da desinfecção da cavidade na resistência de união de restaurações de resina composta à dentina e concluíram que o uso de desinfetantes cavitários podem influenciar negativamente a resistência de união dentinária quando utilizados em associação a materiais resinosos.

Paul et al., em 1999, levando em conta que o excesso de condicionamento ácido da dentina pode diminuir a resistência de união, pois o adesivo pode falhar em infiltrar completamente a zona de dentina desmineralizada, avaliaram a influência do aumento do tempo do condicionamento ácido na resistência à microtração dentinária e na nanoinfiltração de sistemas adesivos. Após o condicionamento da dentina por 15, 30 ou 60 segundos com gel de ácido fosfórico 35%, o adesivo Single Bond foi aplicado e polimerizado por 10 segundos. Incrementos da resina composta Z100 foram adicionados e fotopolimerizados por 60 segundos. Após 24 horas de imersão em água, os dentes foram seccionados em fatias de 0,7 mm de espessura e foram confeccionados palitos em forma de ampulheta. Fatias alternadas foram secas, durante 30 minutos à temperatura ambiente, ou mantidos úmidos, e em seguida foram revestidos com esmalte para unhas, até 0,5 mm da interface adesiva. Apenas as amostras cobertas com esmalte foram infiltradas com 50% AgNO<sub>3</sub>. A resistência à microtração foi testada utilizando uma máquina de ensaio universal Vitrodyne V-1000. As amostras do grupo infiltrados foram incluídos em PMMA cura química e realizado o polimento. Todas as amostras foram observadas por meio de MEV. A nanoinfiltração de prata foi quantificada por meio de espectroscopia com um espectrômetro de massa com plasma indutivamente ligado e por análise elementar dispersiva de elétrons. O aumento no tempo de condicionamento ácido parece ter um efeito negligenciável sobre a resistência de união do Single Bond, produzindo um valor médio de 38 MPa. No entanto, houve aumento na infiltração de prata com aumento no tempo de condicionamento ácido. Resultados em curto prazo sugerem que o aumento no tempo de condicionamento ácido não tem efeitos negativos sobre os valores de resistência adesiva do Single Bond. No entanto, o aumento da expressão de nanoinfiltração, dependendo do tempo de condicionamento ácido, gera preocupação com a estabilidade da interface em longo prazo.

Gendron et al., em 1999, avaliaram o efeito inibitório da clorexidina na atividade das enzimas MMP-2 (Gelatinase A), MMP-9 (Galatinase B) e MMP-8 (Colagenase 2). Colágeno Tipo I desnaturado por calor foi incubado com

enzimas humanas puras MMP-2 e MMP-9, que foram posteriormente ativadas. Observou-se uma degradação proteolítica completa do colágeno a qual foi monitorada por gel eletroforese e coloração azul de Coomassie. A inibição dessas enzimas foi dependente da concentração de clorexidina utilizada, sendo efetiva na inibição da atividade da MMP- 2 e MMP-9; a concentração mínima para completa inibição de MMP-9 foi de 0,002% enquanto que uma concentração de apenas 0,0001% foi necessária para inibir a atividade da MMP-2. Quando o agente quelante EDTA foi adicionado à incubação, nenhum sinal de degradação foi observado. MMP-8 foi avaliada de forma similar, porém foi originada de neutrófilos. Clorexidina na concentração de 0,01% foi suficiente para sua completa inibição. Os autores concluíram que a clorexidina diretamente inibe a atividade das enzimas MMP-2, MMP-8 e MMP-9 em baixas concentrações.

Hashinmoto et al., em 2000, buscando uma melhor compreensão dos fatores relacionados na longevidade da união dentina/resina *in vivo*, avaliaram a degradação da interface resina/dentina após um, dois e três anos de envelhecimento no ambiente oral. Cavidades foram preparadas em primeiros molares decíduos restauradas com um adesivo “*etch-and-rinse*” de três passos e após um, dois ou três anos foram extraídos, conforme a erupção dos primeiros molares permanentes. Confeccionou-se palitos em forma de ampulheta, que foram submetidos ao ensaio de microtração a uma velocidade de 1 mm/minuto. Após a fratura, todas as superfícies fraturadas foram analisadas por meio de microscopia eletrônica de varredura. Foram observadas diferenças estatísticas ( $p<0,05$ ), referente aos valores de resistência de união, nos três períodos de envelhecimento: 24 horas (28,3 MPa), um a dois anos (15,2 MPa) e dois a três anos (9,1 MPa). Além disso, na análise fractográfica, foi constatado que a proporção de dentina desmineralizada na superfície de fratura dos espécimes envelhecidos no ambiente oral foi maior em relação aos que não sofreram envelhecimento. Nos espécimes envelhecidos, também foi observada uma redução na quantidade de fibrilas colágenas assim como degradação da material resinoso. Analisando os resultados desse estudo, os

autores concluíram que degradação da união resina/dentina ocorre em restaurações presentes na cavidade oral após longos períodos.

Las Heras et al., em 2000, modificaram um protocolo de extração dentinária para identificar atividades gelatinolíticas de MMP em dentina humana mineralizada e não mineralizada. Proteínas dentinárias de molares permanentes de 24 pacientes, na faixa etária de 15 a 73 anos, foram sequencialmente extraídas inicialmente com Cloreto de Guanadínio (Extrato G1) e então com EDTA (Extrato E), para desmineralização, e novamente com Cloreto de Guanadínio (Extrato G2). Por meio de ensaios de Western Blotting e Zimografia, foram detectadas formas latentes e ativas de Gelatinase A (MMP-2) em dentina desmineralizada (Extrato G1). No entanto, mesmo sendo encontrada nos extratos dentários de todas as idades, a gelatinase A não foi encontrada nos Extratos E, ou seja, nos extratos em se utilizou o EDTA para extração. Conclui-se então que a gelatinase A se encontra presente na dentina humana e que pode ser sintetizada pelos odontoblastos diante de um processo carioso.

Pioch et al., em 2001, realizaram uma revisão de literatura e relataram que o termo nanoinfiltração foi introduzido para descrever um tipo específico de infiltração entre as margens de dentina e a restauração. A nanoinfiltração aparece como uma consequência do condicionamento ácido, procedimento que permite a penetração de líquidos orais e pulpar em porosidades no interior ou adjacente à camada híbrida. A nanoinfiltração é independente da microinfiltração. A quantidade de penetração depende do tipo de agente de união utilizado e sobre os diferentes parâmetros da técnica de aplicação (por exemplo, tempo de condicionamento, a umidade da dentina). Ela é menos extensa em relação à infiltração marginal e, provavelmente, não proporciona nenhuma relevância clínica em curto prazo. No entanto, a estabilidade em longo prazo da união entre dentina e o material restaurador resinoso pode ser afetada negativamente

Okuda et al., em 2001, testou a hipótese de que a durabilidade em longo prazo da resistência de união de materiais resinosos unidos à dentina pode estar diretamente relacionada com a nanoinfiltração de sistemas

adesivos. Vinte terceiros molares foram planificados com lixas de granulação 600 sob água corrente, para expor a dentina média. Os adesivos One-Step ou Single Bond foram aplicados na superfície dentinária de acordo com as instruções do fabricante. Foi realizada uma restauração com resina composta Clearfil AP-X e os espécimes foram armazenados em água por 24 horas a 37 °C. Os conjuntos dente restauração foi seccionado mésio-distalmente perpendicular à interface em cerca de 0,7 milímetros de espessura para a confecção dos palitos utilizados no teste de resistência de união. Todos os palitos foram imersos em frascos individuais contendo água a 37°C, que foi trocada diariamente. Os espécimes foram divididos aleatoriamente em quatro grupos (um dia, três, seis e nove meses), e no período de tempo especificado, as amostras a serem testadas foram divididas aleatoriamente em dois subgrupos para o teste: AgNO<sub>3</sub> a 50% e o controle. No subgrupo de 50% AgNO<sub>3</sub>, os espécimes foram revestidos com esmalte de unha, exceto aproximadamente 0,5 mm ao redor da interface ligada e imersos por uma hora em AgNO<sub>3</sub> a 50%, seguido pela imersão em solução reveladora por 12 horas antes do ensaio mecânico. Então, todos os espécimes foram submetidos ao ensaio de microtração. Microscopias das superfícies fraturadas das amostras fraturadas no subgrupo AgNO<sub>3</sub> foram feitas através de microscopia de luz. Os espécimes foram submetidos à análise de imagem pelo NIH Image PC (Scion, Frederick, MD, EUA), e a área de penetração de prata foi quantificada. A superfície fraturada foi analisada por meio de MEV. Dados da resistência de união e as áreas de penetração de prata foram submetidas a ANOVA e teste de Fisher PLSD ao nível de 95% de confiança. A análise de regressão foi utilizada para testar a relação entre a resistência adesiva e a área de penetração de prata em cada período de tempo. A resistência à microtração dos dois materiais diminuiu gradualmente ao longo do tempo. Os espécimes compostos pelo One Step mostraram menos nanoinfiltração em um dia em relação a três, seis e nove meses ( $p<0,05$ ), mas não houve diferenças significativas na nanoinfiltração nos espécimes avaliados em três, seis e nove meses. Em contraste, para as amostras coladas com adesivo Single Bond, não houve diferença estatisticamente significativa na nanoinfiltração entre os quatro



períodos ( $P > 0,05$ ). Não houve correlação entre a nanoinfiltração e os valores de microtração para ambos os sistemas adesivos testados. A nanoinfiltração ocorreu em ambos os sistemas adesivos, e a resistência de união diminuiu gradualmente ao longo do tempo. No entanto, não houve correlação entre resistência de união e nanoinfiltração dos sistemas adesivos testados.

Hashimoto et al., em 2001, caracterizaram por meio de microscopia eletrônica de varredura a morfologia de interfaces adesivas presentes na cavidade oral por vários anos. Primeiros molares decíduos acometidos por lesões cariosas foram preparados, removendo-se toda a lesão cariada, e restaurados com resina composta utilizando-se um sistema adesivo dentinário “*total-etch*” de três passos. Com a erupção dos primeiros molares permanentes, os primeiros molares decíduos foram extraídos, seccionados perpendicularmente à interface adesiva, polidos e analisados por meio de microscopia eletrônica de varredura. Foi observada a ocorrência de alterações morfológicas como: degeneração das fibrilas colágenas, deterioração da camada híbrida juntamente com a sua porção resinosa nas interfaces adesivas presentes na cavidade oral por vários anos. Os autores concluíram que a degradação das estruturas presentes na interface adesiva composta por materiais resinosos pode ocorrer após longos períodos na cavidade oral.

Pereira et al., em 2002, avaliaram a correlação entre a nanoinfiltração e a resistência de união à dentina envolvendo adesivos *total-etch* e “*self-etch*”. As superfícies oclusais de dez terceiros molares foram planificadas e padronizadas para a aplicação dos adesivos, restaurados com resina composta e seccionados em palitos após. A metade dos palitos foi coberta com esmalte para unhas, deixando apenas a interface adesiva desprotegida. As amostras foram infiltradas com nitrato de prata amoniacal por 24 horas e imersas em revelador por 8 horas. Os palitos restantes formaram o grupo controle e por isso foram armazenados em água destilada por 13 horas previamente ao ensaio mecânico de microtração. Após o ensaio, as superfícies fraturadas foram examinadas por microscopia confocal e microscopia eletrônica de varredura para avaliação da infiltração do nitrato. Não foram observadas diferenças estatísticas entre os valores de resistência de união entre os dois

adesivos assim como não foi observado correlação entre a resistência de união e a expressão de nanoinfiltração presente nas interfaces resina/dentina de ambos os adesivos testados.

Mak et al., em 2002, avaliaram a resistência de união à dentina e a análise fractográfica de quatro cimentos resinosos. Superfícies dentinárias planas foram criadas na porção coronária de terceiros molares, onde blocos de resina composta silanizados foram cimentados à dentina profunda de acordo com as orientações dos respectivos fabricantes. Palitos de 0,9 x 0,9 mm foram seccionados e submetidos ao ensaio de microtração. Por meio de microscopia eletrônica de varredura, foi determinado o padrão de falha de cada palito. Nos grupos onde não foi possível observar as características morfológicas por microscopia eletrônica de varredura, os espécimes foram avaliados por microscopia eletrônica de transmissão. Foram observadas diferenças estatísticas significantes ( $p < 0,05$ ) nos padrões de falha e na resistência de união entre os diferentes cimentos. Nos grupos formados pelos cimentos All Bond 2 (Bisco) e RelyX ARC (3M ESPE), com os maiores valores de resistência de união, observou-se falha predominante entre cimento resinoso e o compósito restaurador. Falha coesiva em cimento foi observada no grupo constituído pelo cimento Super-Bond C&B (Sun Medical), obtendo valores de resistência de união intermediários. O grupo constituído pelo cimento Panavia F (Kuraray) falhou predominantemente na interface cimento resinoso e dentina produzindo os valores de resistência e união mais baixos. Os autores concluíram que a união entre a resina composta e o cimento resinoso foi o ponto mais frágil nos grupos All Bond 2 e RelyX ARC enquanto que o cimento Panavia F é menos eficaz quando associado ao um primer “*self-etch*”.

Sulkala et al., em 2002, realizaram um estudo para determinar a presença e a localização de MMP-20 no órgão dental maduro hígido e acometido por lesão cáries. Por meio de análise de imunohistoquímica e Western Blotting, localizaram a MMP-20 em túbulos dentinários dilatados por lesões cáries, nos odontoblastos, no tecido pulpar, no fluido dentinário e na dentina hígida. Os autores concluíram que a MMP-20, produzida durante a dentinogênese primária, é incorporada na dentina e pode ser ativada durante a

progressão do processo carioso. A principal fonte de MMP-20 no complexo dentino-pulpar são os odontoblastos que secretam MMP-20 no fluido dentinário.

Matthis & Adriaens, em 2002, revisaram a literatura existente a respeito do uso de três enxagatários bucais contendo clorexidina, em diferentes especialidades odontológicas. Os autores concluíram que entre todos os agentes utilizados para controle de biofilme dentário, o digluconato de clorexidina foi o mais efetivo e seguro e reduziu tanto a microbiota cariogênica quanto a periodonto-patogênica.

Mjor et al., em 2002, relataram que o diagnóstico clínico da cárie é a principal razão para a substituição de todos os tipos de restaurações. Este é um diagnóstico clínico mal definido, tanto em programas de ensino e na prática geral que deve ser melhorado.

Okuda et al., em 2002, testou a hipótese de que a durabilidade à longo prazo dos da resistência de união de materiais resinosos à dentina está diretamente relacionada à nanoinfiltração em sistemas adesivos. Terceiros molares humanos extraídos foram planificados lixas de granulação 600 sob água corrente, para expor a dentina média. Clearfil Liner Bond 2V (LB2V) ou Fluoro Bond (FB) foi aplicado à dentina de acordo com as instruções do fabricante. A coroa foi confeccionada com resina composta Clearfil AP-X, e os espécimes foram armazenados em água por 24 horas a 37 °C. O conjunto dente restauração foi seccionados verticalmente em cerca de 0,7 milímetros de espessura em palitos para o teste de microtração. Os espécimes foram imersos em frascos individuais cotendo água a 37 °C, que foi trocada a cada dia. As amostras foram incubadas por um dia, três, seis e nove meses, e no período de tempo especificado, foram divididos aleatoriamente em dois subgrupos: AgNO<sub>3</sub> a 50% e o controle. No subgrupo de 50% AgNO<sub>3</sub>, as amostras foram imersas durante uma hora em 50% AgNO<sub>3</sub>, seguido pela imersão em uma solução reveladora por 12 horas antes do ensaio mecânico. Os espécimes no subgrupo controle foram imersos em água. Todos os espécimes foram submetidos ao ensaio de microtração. Os espécimes fraturados do subgrupo AgNO<sub>3</sub> foram submetidos à análise da imagem pelo NIH Image (PC Scion, Frederick, MD,

EUA.), e a área infiltrada por prata foi quantificada. Os dados de resistência união e as áreas infiltradas por prata foram submetidos ao teste ANOVA e de Fisher PLSD ao nível de 95% de confiança. Análise de regressão foi utilizada para testar a relação entre a resistência adesiva e a área de penetração de prata em cada período de tempo. Para ambos os sistemas adesivos, a resistência de união diminuiu gradualmente ao longo do tempo, embora não existiram diferenças significativas na resistência de união do adesivo FB entre os quatro períodos ( $P > 0,05$ ). A infiltração por prata em amostras restauradas com LB2V e FB aumentou gradualmente ao longo do tempo. Análise de regressão mostrou uma maior correlação entre resistência adesiva e da penetração de prata em 9 meses para os espécimes restaurados com LB2V ( $R^2 = 0,844$ ) em relação a períodos mais curtos. Os autores especularam que a degradação hidrolítica na camada híbrida aumentou gradualmente com o passar do tempo, devido à penetração da água através de canais de nanoinfiltração, resultando em valores mais baixos de microtração.

Tay et al., em 2002, avaliam os padrões de nanoinfiltração de quatro sistemas adesivos “*self-etch*” utilizando o sistema de nitrato de prata convencional (pH 4,2) e básico amoniacal (pH 9,5) e analisados por microscopia eletrônica de transmissão. Todos os sistemas adesivos apresentaram expressão reticular de nanoinfiltração nas camadas híbridas quando o nitrato de prata convencional foi utilizado. Quando o nitrato de prata amoniacal foi utilizado, pontos adicionais de nanoinfiltração foram observados na camada de adesivo e na camada híbrida. O modo reticular de nanoinfiltração provavelmente representou regiões com incompleta remoção de água, o que resultou em uma polimerização deficiente do sistema adesivo. Os pontos adicionais de nanoinfiltração, observados na utilização de nitrato de prata amoniacal, certamente representaram regiões permeáveis na camada de adesivo e na camada híbrida que permitiram a passagem e a reação dos íons básicos de diamino de prata com componentes resinosos ácidos/hidrofílicos.

Tay et al., em 2003, considerando que a sorção de água nas interfaces dentina-resina precede a degradação hidrolítica., testou a hipótese que esses processos são morfologicamente manifestados pela absorção de nitrato de

prata amoniacal, o que pode ser utilizado para rastrear domínios hidrófilos e os canais saturados com água presentes na interface adesiva. A sorção de água constitui um processo não uniforme e pode ser rastreado pelo uso de nitrato de prata. Dentes humanos restaurados com um adesivo experimental foram envelhecidos em saliva artificial (experimental) ou óleo mineral não aquoso (controle). Parte das amostras foi avaliada após 12 meses sendo imersas em nitrato de prata amoniacal 50% e examinadas por microscopia eletrônica de transmissão para a identificação das mudanças na sua captação de prata. Depósitos de prata reticulares inicialmente identificados na maior parte das camadas híbridas no grupo experimental foram gradualmente reduzidos ao longo do tempo, mas foram substituídos por depósitos similares que foram localizados ao longo da camada híbrida. A infiltração de íons de prata aumentou com o envelhecimento, resultando na formação de *water trees*. Os autores também relataram que esses canais preenchidos por água podem atuar como zonas de degradação hidrolítica na interface adesiva.

Hashimoto et al., em 2003, investigaram a degradação da união resina-dentina após um ano de envelhecimento em água. Foram confeccionados palitos de 0,9 mm<sup>2</sup> utilizando um adesivo dentinário em dentes humanos recém-extraídos. Após um ano de envelhecimento, as amostras foram submetidas ao Ensaio de Microtração e comparadas ao grupo controle, onde as amostras foram armazenadas por apenas 24 horas em água. Por meio de microscopia eletrônica de transmissão, os autores observaram uma alteração micromorfológica na rede de fibrilas colágenas após um ano de envelhecimento e também uma redução na quantidade de resina presente na camada híbrida. Foi concluído que essas alterações micromorfológicas podem ser responsáveis pela redução da resistência de união entre o material resinoso e a dentina.

Magloire et al., em 2003, relataram que durante o desenvolvimento dentário, os odontoblastos são as células formadoras de dentina e participam nas fases iniciais do processamento sensorial. Sugere-se que os canais iônicos ajudam nestes eventos. Os autores mostram pela RT-PCR que a canais de potássio TREK-1 está presente em grandes quantidades nessas células cultivadas em comparação com as células da polpa *in vitro*. Hibridização *in situ*

mostraram que as transcrições são detectadas na camada odontoblástica *in vivo*. O uso de anticorpos regentes para TREK-1 mostrou a alta expressão desses canais na membrana de odontoblastos coronal e ausentes na raiz. Esta distribuição está relacionada com a distribuição espacial das terminações nervosas identificadas através da rotulagem do fator de baixa afinidade de crescimento do nervo (NGF) receptor (p75(NTR)). Estes resultados demonstram a expressão do TREK-1 em odontoblastos humanos *in vitro* e *in vivo*.

Yang et al., em 2004, avaliaram a resistência de união, em diferentes regiões dentinárias, de três cimentos resinosos: RelyX Unicem (3M ESPE), Panavia F 2.0 (Kuraray) e Super-Bond C&B (Sun Medical). Blocos de dentina superficial, profunda e cervical foram obtidos e divididos em grupos de acordo com sua localização anatômica e tipo de cimento resinoso. Os cimentos foram utilizados de acordo com as indicações de seus respectivos fabricantes para unir hastes de resina composta ou de polimetilmetacrilato aos diferentes blocos de dentina e então submetidos ao ensaio de microtração à 1 mm/minuto. A interface de união foi analisada por meio de microscopia eletrônica de varredura e de transmissão e, após a ruptura das amostras, também foi realizada a análise fratógráfica. Os resultados mostraram que a resistência de união de cimentos resinosos à dentina superficial foi significativamente maior em relação à dentina profunda e cervical para os três cimentos testados. Os valores mais altos foram obtidos para os cimentos Panavia F 2.0 e Super-Bond C&B utilizados em dentina superficial. O cimento Super-Bond C&B obteve valores mais altos para a dentina profunda e cervical em comparação aos outros dois cimentos resinosos. Os grupos do cimento RelyX Unicem obtiveram os menores valores de microtração independente da região dentinária, e observou-se também, a ausência da formação de uma camada híbrida bem definida. Com isso, os autores concluíram que a composição química dos cimentos resinosos e a sua utilização em diferentes regiões dentinárias produziram diferenças estatisticamente significantes na resistência de união.

Pashley et al., em 2004, avaliaram a susceptibilidade de fibrilas colágenas incompletamente infiltradas por sistemas adesivos após

condicionamento do substrato dentinário. Para isso, matrizes parcialmente desmineralizadas de dentina humana, obtidas de terceiros molares, foram armazenadas em saliva artificial. O grupo controle foi armazenado em saliva artificial contendo inibidores proteolíticos enzimáticos ou em óleo mineral puro. Após 24, 90 e 250 dias, a extensão de degradação da dentina parcialmente desmineralizada foi avaliada por microscopia eletrônica de transmissão. Os autores observaram uma destruição praticamente completa da matriz de fibrilas colágenas após 250 dias, quando armazenadas em saliva artificial, no entanto, isso não ocorreu nos espécimes armazenados em óleo mineral ou na saliva contendo inibidores enzimáticos. Análise enzimática funcional da dentina triturada demonstrou baixos níveis de atividade colagenolítica nos grupos onde se utilizou os inibidores de protease ou 0,2% clorexidina. Com essas observações, os autores levantaram a possibilidade de que a degradação das fibrilas colágenas pode ser causada por metaloproteinases presentes na matriz dentinária que são liberadas lentamente com o passar do tempo.

Armstrong et al., em 2004, avaliaram a interface adesiva e a resistência de união entre um sistema adesivo dentinário *“total-etch”* de três passos e dentina humana após cinco anos de armazenamento em água. Por meio de microscopia eletrônica de transmissão e ensaio de microtração, observaram uma redução na resistência de união após quatro anos e alterações na morfologia da camada híbrida apresentando degradação hidrolítica dos componentes da camada híbrida. Concluíram que a redução da resistência de união e as alterações da morfologia da interface de união podem ser devido à sorção de água, o que resulta na degradação hidrolítica da interface adesiva.

De Munck et al., em 2004, avaliaram a resistência de união ao esmalte e à dentina de um cimento resinoso autoadesivo pelo teste de microtração e a sua interação à dentina por meio de microscopia eletrônica de transmissão e de varredura de alta definição. Os valores de resistência de união do cimento RelyX Unicem (3M ESPE), realizando ou não condicionamento ácido, foram obtidos após 24 horas de armazenamento em água e comparados ao grupo controle formado pelo cimento resinoso Panavia F (Kuraray). A resistência de união do RelyX Unicem ao esmalte foi significativamente menor em relação ao

controle, enquanto que não houve diferença estatística entre ambos os cimentos quando utilizados na dentina. O condicionamento ácido do esmalte, previamente ao uso do RelyX Unicem, elevou a resistência de união ao mesmo nível que o grupo controle, no entanto, foi danoso à resistência de união à dentina. Esse fato provavelmente se deve à inadequada infiltração das fibrilas colágenas expostas pelo cimento, que foi observada nas microscopias eletrônicas. Além disso, a análise morfológica revelou que o cimento relativamente viscoso, RelyX Unicem, interage superficialmente com a dentina e o esmalte, sendo necessária a aplicação de certa pressão para garantir boa adaptação entre o cimento e o substrato cimentado.

Kumbuloglu et al., em 2004, avaliaram a dureza, resistência flexural, resistência a compressão e grau de conversão de diferentes cimentos resinosos. Foi observado que o cimento RelyX Unicem (3M ESPE) obteve os maiores valores de dureza e resistência a compressão, no entanto, o seu grau de conversão foi de apenas 56%, quando fotoativado, e 26% quando permitido somente a cura química. O cimento RelyX ARC (3M ESPE) obteve os melhores valores de grau de conversão 86%, quando fotoativado, e 61% , em exclusiva cura química. Os autores concluíram que cimentos resinosos de características químicas semelhantes diferem em suas características físicas e que o método de polimerização influencia o grau de conversão.

Reis et al., em 2005, avaliaram o efeito da espessura da camada híbrida imediatamente e após seis meses na resistência de união dentinária de sistemas adesivos. Os autores relataram que a resistência de união de sistemas “*self-etch*” não parece ser dependente da espessura da camada híbrida. O sistema adesivo “*total-etch*” de três passos produziu os valores mais altos de resistência de união à dentina e manteve valores estáveis ao longo de seis meses.

Sobral et al., em 2005, avaliaram clinicamente os efeitos dos pré-tratamentos dessensibilizantes com: hidróxido de metacrilato 35%, 5% de glutaraldeído (Gluma Desensitizer) e clorexidina 2% (Cav-Clean) na sensibilidade pós-operatória dentinária. Três dentes pré-molares, sem sintomas de dor foram selecionados a partir de cada um dos 17 pacientes, totalizando 51



dentes, para que a restauração de Classe II, usando um compósito, fosse realizada. Cada um dos três dentes pré-molares do mesmo paciente foi submetido a um dos três pré-tratamentos dessensibilizantes. Sensibilidade a diferentes estímulos (frio, calor, doce e fio dental) foi avaliada no dia 1, dia 4 e no dia 7 através de um questionário. Os resultados desta pesquisa clínica mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os três diferentes tratamentos ( $P > 0,05$ ). Os autores concluíram que a sensibilidade pós-operatória resultante de restaurações Classe II com resina composta não pode ser totalmente eliminada com o uso prévio de um dessensibilizante dentinário e um desinfetante cavitário. No dia-a-dia do tratamento clínico, a sensibilidade pós-operatória pode eventualmente estar relacionada com a técnica empregada.

Hebling et al., em 2005, cientes da necessidade da validação *in vivo* de que a atividade colagenolítica e gelatinolítica endógena, derivada do condicionamento ácido dentinário, pode resultar na degradação da camada híbrida, realizaram um estudo, avaliando a hipótese de que não há diferença na degradação da camada híbrida do substrato dentinário condicionado com ácido fosfórico com ou sem a aplicação de clorexidina, um inibidor sintético de metaloproteinases, após o condicionamento ácido. Pares contralaterais de primeiros molares decíduos hígidos foram restaurados com resina composta utilizando um sistema adesivo dentinário “*total-etch*”. Após seis meses de função intra-oral, os primeiros molares decíduos restaurados foram extraídos e processados para microscopia eletrônica de transmissão. As camadas híbridas dos dentes tratados com clorexidina apresentaram integridade estrutural normal da rede de fibrilas colágenas. De modo inverso, camadas híbridas anormais foram observadas nos grupos que não receberam tratamento com clorexidina exibindo degeneração progressiva da rede de fibrilas colágenas. Os autores concluíram que a degeneração *in vivo* das fibrilas colágenas ocorre rapidamente após o processo de hibridização dentinária e que esse processo pode ser impedido pelo uso de clorexidina.

De Munck et al., no ano de 2005, em revisão de literatura, relataram que a eficácia imediata adesão de sistemas adesivos contemporâneos é bastante

favorável, independentemente da abordagem utilizada. À longo prazo, a eficácia da ligação de alguns sistemas adesivos cai drasticamente, enquanto que a resistência de união de adesivos de outros são mais estáveis. Portanto, vários protocolos laboratoriais foram desenvolvidos para prever a durabilidade dessa união. Os autores avaliam criteriosamente as metodologias referentes aos padrões de degradação química da interface adesiva. A correlação *in vitro* e *in vivo* revelou que, atualmente, o método mais validado para avaliar a durabilidade da adesão envolve o envelhecimento dos espécimes de biomateriais unidos ao esmalte ou dentina. Após cerca de três meses, todas as classes de adesivos apresentaram sinais mecânicos e morfológicos de degradação que se assemelha ao que ocorre *in vivo*. A comparação dos adesivos contemporâneos revelou que adesivos de três passos “*total-etch*” permanecem como o “padrão ouro” em termos de durabilidade. Qualquer tipo de simplificação no processo de aplicação clínica resulta na perda de eficácia de união.

Gerth et al., em 2006, avaliaram as propriedades químicas e físicas de dois cimentos resinosos duais, RelyX Unicem (3M ESPE) e Bifix (VOCO), em função da composição, morfologia de superfície e reação de polimerização. Por meio de diferentes metodologias, os autores observaram que as partículas inorgânicas consistem de redes vítreas de alumínio, silício e sódio, que são incorporadas por estrôncio e bário no Bifix, contendo 2% de fluoreto, e estrôncio e lantânio no RelyX Unicem, que contem 10% de fluoreto. A reação com os átomos de cálcio, presentes na hidroxiapatita, resultam em átomos com menor energia de ligação, que agem como receptores de elétrons, comprovando a interação química entre os monômeros resinosos e a hidroxiapatita. O RelyX Unicem obteve uma reação com 86% dos átomos de cálcio, comparado com apenas 56% no Bifix. Os autores concluíram que a intensa ligação entre o RelyX Unicem e a hidroxiapatita parece ser relevante no aspecto clínico e explica as propriedades mecânicas desse cimento.

Garcia-Godoy et al., em 2006, testaram a hipótese de que não há diferença na estrutura dentinária condicionada com ácido fosfórico, seguida da utilização de três sistemas adesivos “*total-etch*”, envelhecida em óleo mineral e

saliva artificial. Para isso, avaliou a camada híbrida de espécimes envelhecidos em óleo mineral e saliva artificial por três anos por meio de microscopia eletrônica de transmissão. Os palitos envelhecidos em óleo mineral mantiveram a integridade estrutural rede das fibrilas colágenas após os três anos de envelhecimento. No entanto, camadas híbridas anormais foram observadas nos espécimes envelhecidos em saliva artificial com degeneração progressiva da rede de fibrilas colágenas. Os autores concluíram que a degeneração endógena das fibrilas colágenas pode ocorrer em dentina infiltrada por resina e, em menor grau, em dentina mineralizada, ambas as circunstâncias na ausência de bactérias e enzimas salivares rejeitando a hipótese testada.

Goracci et al., em 2006, avaliaram a morfologia das interface de união e a resistência de união à dentina e ao esmalte de diferentes cimentos resinosos, utilizando diferentes pressões padronizadas e clinicamente aplicáveis. Blocos de resina composta foram cimentados ao esmalte e à dentina e submetidos à pressão de 20 ou 40 g/mm<sup>2</sup> durante os 5 minutos iniciais da cura química seguidos de fotopolimerização. Obtiveram-se palitos que foram sujeitos ao teste de microtração. Os resultados indicaram que o tipo de cimento, a pressão aplicada e a interação entre esses dois fatores, influenciaram significativamente a resistência de união à dentina e os resultados de resistência de união corresponderam aos achados morfológicos das interfaces. Os autores concluíram que a resistência de união e a adaptação de cimentos resinosos duais “*self-etch*” e autoadesivo podem ser melhoradas se considerável pressão for aplicada durante a presa química inicial dos cimentos resinosos.

Hikita et al., em 2007, avaliaram a resistência de união ao esmalte e à dentina de cinco cimentos resinosos utilizando o protocolo de microtração. Todos os cimentos foram utilizados de acordo com as recomendações dos respectivos fabricantes: Linkmax (GC), Nexus 2 (Kerr), Panavia F (Kuraray), RelyX Unicem (3M ESPE) e Variolink (Ivoclar-Vivadent). No entanto, algumas variações de aplicação também foram avaliadas: o sistema adesivo Prompt L-pop (3M ESPE) + RelyX Unicem, ácido fosfórico Scotchbond Etchant (3M ESPE) + RelyX Unicem, o ativador químico Optbond Solo Plus Activator (Kerr) + Nexus 2 e o ácido fosfórico K-Etchant gel (Kerr) + Panavia F. Os valores de

resistência de união ao esmalte foram: o RelyX Unicem (19,6 MPa) e ativador químico + Nexus 2 (15 Mpa) obtiveram valores significativamente menores em relação ao Variolink (43,9 Mpa), Linkmax (49,2 Mpa), Panavia F (35,4 Mpa) e ácido fosfórico + RelyX Unicem (35,2 MPa), enquanto o sistema adesivo Prompt L-pop + RelyX Unicem (23,5 MPa) obteve resultado significativamente menor em relação ao Variolink (49,3 MPa) e Linkmax (49,2 MPa). Não houve diferenças significativas entre os grupos Variolink, Linkmax, Nexus 2, e ácido fosfórico + Panavia F, Panavia F e ácido fosfórico + RelyX Unicem. Em relação aos valores de resistência de união à dentina, não houve diferença estatística entre os cimentos resinosos RelyX Unicem (15,9 MPa), Linkmax (15,4 MPa), Panavia F (17,5 MPa) e Nexus 2 (22,3 MPa), com exceção dos grupos Variolink (1,1 MPa), ácido fosfórico + RelyX Unicem (5,9 MPa) e o grupo ativador químico + nexus 2 (13,2 MPa), que obtiveram valores estatisticamente menores. Os autores concluíram que se respeitada a correta aplicação, os agentes autoadesivos, “*self-etch*” e “*etch-and-rinse*” são igualmente efetivos na sua união tanto ao esmalte como à dentina. Vários fatores influenciaram negativamente a resistência de união, como a não realização do condicionamento ácido do esmalte previamente a utilização do RelyX Unicem, a não fotopolimerização do adesivo previamente a cimentação e o uso de um agente dual com baixa capacidade de auto-polimerização.

Hannas et al., em 2007, revisaram a literatura em busca de informações específicas sobre metaloproteinases e sua função fisiológica e patológica na remodelação da matriz extracelular e sua degradação no ambiente oral. As metaloproteinases são um grupo de enzimas capazes de degradar praticamente todas as proteínas presentes na matriz extracelular contribuindo tanto para a remodelação fisiológica quanto patológica dos tecidos. A expressão de diferentes metaloproteinases pode ser regulada em condições patológicas como inflamação e invasão tumoral. O equilíbrio entre metaloproteinases ativas e seus inibidores teciduais controla a extensão da remodelação da matriz extracelular. Previamente a mineralização, as metaloproteinases podem participar na organização na matriz orgânica do esmalte e dentina, ou controlar a mineralização regulando o *turnover* de

proteoglinas. Existe evidência de que essas enzimas podem participar na etiologia da fluorose de esmalte e na amelogênese imperfeita. Além disso, elas ainda podem participar na progressão da doença cárie, uma vez que atuam diretamente na degeneração colágena em lesões cariosas. Os autores concluíram que o uso de inibidores de metaloproteinases pode ser benéfico na prevenção de muitas doenças relacionadas às metaloproteinases que afetam a cavidade oral.

Han et al., em 2007, avaliaram o pH, espessura do filme cementário, porcentagem de partículas de carga e alterações morfológicas de superfície de diferentes cimentos resinosos autoadesivos. Várias metodologias foram utilizadas: o pH foi obtido por meio de tiras reagentes de pH, a porcentagem de partículas de carga foi mensurada por meio de incineração dos cimentos a 750°C, a determinação da espessura do filme cementário foi determinada utilizando placas de vidro comprimidas por um dispositivo de carga e as alterações morfológicas de superfície foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura após a imersão em meios diferentes. Foi constada diferença significativa no pH dos cimentos nos diferentes tempos testados, onde alguns cimentos mantiveram pH próximos a 3,6, 48 horas após a manipulação. O cimento RelyX ARC obteve um pH de 2,8 90 segundos após a sua manipulação, porém esse valor aumentou para o pH de 5,0 após a fotopolimerização e para 7 após 48 horas. A porcentagem de carga foi diretamente proporcional à espessura do filme cementário. Degradação da superfície foi detectada após polimento e imersão em água, ácido acético e acetona. Os autores concluíram que essas diferenças físicas podem influenciar o desempenho clínico dos cimentos testados.

Al-Assaf et al., em 2007, avaliaram as características interfaciais dentinárias de cinco cimentos resinosos incluindo: resistência de união à dentina, padrão de falha, extensão de desmineralização, alterações morfológicas dentinárias e formação de camada híbrida. No ensaio de tração, hastes metálicas foram unidas à superfície dentinária padronizada utilizando cinco cimentos resinosos: Bistie II DC (Tokuyama Dental), Super-Bond C&B (Sun Medical), M-Bond (Tokuyama Dental), Panavia F (Kuraray) e RelyX

Unicem (3M ESPE) e após termociclagem, 3000 X 5-55° C, 4 ciclos/minuto, as hastes foram tracionadas à 1 mm/min. O padrão de falha foi examinado na superfície dentinária por microscopia eletrônica de varredura de baixo vácuo e a espessura da camada híbrida examinada por microscopia eletrônica de alto vácuo. Por meio de espectrometria de Fourier foi determinada a extensão de desmineralização dentinária e as alterações morfológicas causadas na dentina pelo condicionamento ácido e aplicação do primer. Os valores do ensaio de tração foram: Bistie II DC (13,01 MPa), M-Bond (9,19 MPa), Panavia F (7,17 MPa) obtiveram valores significativamente maiores em relação a Super-Bond C&B (4,79 MPa) e RelyX Unicem (4,47 MPa). A porcentagem de área dentinária coberta com resina após ensaio mecânico foi: Super-Bond C&B (100%), não ocorrendo diferença estatística entre Bistie II DC (60,86%), M-Bond (60,22%), Panavia F (51,99%). RelyX Unicem (45,03%) obteve o menor valor e removeu parcialmente a “smear layer” não desobstruindo os túbulos dentinários. A camada híbrida mais espessa foi encontrada no grupo Super-Bond C&B (4,17  $\mu$ m) seguida pelo grupo M-Bond (2,39  $\mu$ m). Não houve diferença estatística entre os grupos Panavia F (0,95  $\mu$ m) e M-Bond (1,12  $\mu$ m) enquanto que o RelyX Unicem não apresentou camada híbrida detectável. Os autores concluíram que existem diferenças significativas nos materiais testados que podem causar diferenças nos seus respectivos desempenhos clínicos.

Carrilho et al., em 2007, testaram a hipótese de que a degradação da interface dentina-resina pode ser evitada ou retardada através da aplicação de clorexidina, um inibidor sintético de metaloproteínases, após o condicionamento ácido. Pares contralaterais de restaurações Classe I de resina composta em terceiros molares hígidos foram mantidos em função intra-oral por 14 meses. A preservação interface adesiva foi avaliada por testes de microtração e análise por microscopia eletrônica de transmissão. Os valores de microtração permaneceram estáveis nos espécimes tratados com clorexidina, enquanto que a resistência de união diminuiu significativamente nos dentes do grupo controle. A interface adesiva dos espécimes tratados com clorexidina apresentou integridade estrutural normal da rede de colágeno. Por outro lado, desintegração progressiva da rede fibrilar foi identificada em amostras nos

grupos controle. Autodegradação das fibrilas colágenas pode ocorrer em dentina infiltrada por resina, no entanto, esse fenômeno pode ser evitado através da aplicação de inibidores sintéticos de metaloproteinases tal como a clorexidina.

Sulkala et al., em 2007, caracterizam as enzimas colagenolíticas presentes na dentina por meio de Western Blotting, com anticorpos específicos para colagenases MMP-1, 8 e 13, e por imonofluorometria (IFMA) para a detecção da MMP-8. Foi observado que apenas a colagenase MMP-8 foi encontrada na dentina, não sendo encontradas outras formas de colagenases. Nas amostras autoclavadas, não foram encontradas MMP-8, no entanto, a atividade colagenolítica ainda sim foi identificada. Os autores concluíram que MMP-8 constitui a maior parte das colagenases dentinárias e que gelatinases dentinárias podem ser detectadas após autoclavagem, mostrando sua alta resistência.

Brackett et al., em 2007, avaliou por meio de microscopia eletrônica de transmissão, a degradação da camada híbrida dentinária em restaurações oclusais profundas em resina composta assim como a resistência de união. Pré-molares hígidos contralaterais foram preparados, restaurados e avaliados após a permanência de dois ou seis meses na cavidade oral. O sistema adesivo *etch-and-rinse* utilizado foi o Single Bond Plus (3M ESPE). Os grupos controles foram restaurados de acordo com as indicações dos fabricantes, e os grupos experimentais receberam a aplicação de digluconato de clorexidina 2% após o condicionamento ácido. O teste de microtração foi realizado dois e seis meses após a confecção das restaurações. Em um grupo extra, os autores avaliaram separadamente a influência da clorexidina na resistência de união imediata, a qual não variou devido ao seu uso. Não foi observada degradação da camada híbrida após dois meses. Uma leve degradação foi observada no grupo sem clorexidina após seis meses, no entanto no grupo com clorexidina não foi observada degradação da camada híbrida.

Chieffi et al., em 2007, avaliaram o efeito da aplicação de pressão contínua na resistência de união de cimentos resinosos duais à dentina coberta ou não com adesivo dentinário hidrófobo fotopolimerizável. Blocos de resina

composta foram cimentados à dentina aplicando-se pressão constante por 5 segundos ou 3 minutos na superfície das restaurações. Metade das amostras receberam a aplicação de adesivo fotopolimerizável “*self-etch*” por 20 segundos previamente a aplicação do cimento resinoso utilizando-se a mesma pressão pelos tempos propostos. Após 24 horas foram seccionados os palitos que foram submetidos ao teste de microtração e avaliados por microscopia eletrônica de varredura. O uso do adesivo “*self-etch*” provocou aumento significativo nos valores de resistência de união em relação ao uso de apenas o cimento resinoso ( $p<0,05$ ). O aumento no tempo de aplicação de pressão para três minutos aumentou os valores de resistência de união ( $p<0,001$ ) e melhorou a integridade da qualidade interfacial da união cimento resino dentina. Os autores concluíram que a aplicação de pressão contínua durante o processo de cimentação, assim como a utilização de um sistema adesivo hidrófobo “*self-etch*” fotopolimerizável aumentaram a resistência de união do cimento testado.

Radovic et al., em 2008, realizaram uma revisão de literatura e relataram que a maioria dos dados disponíveis na literatura é baseada em estudos que investigaram um dos cimentos autoadesivos (RelyX Unicem, 3M ESPE) que está atualmente disponíveis para os clínicos. De acordo com os resultados *in vitro*, a adesão do cimento autoadesivo à dentina é satisfatória e comparável a outros cimentos permitindo a eliminação de várias etapas no processo de cimentação, enquanto que a adesão ao esmalte parece ser fraca. Em longo prazo, o desempenho clínico desses materiais deve ser avaliado antes da recomendação geral para a sua utilização.

Soares et al., em 2008, avaliaram o efeito da aplicação de diferentes concentrações de clorexidina, 0,2% e 2%, em momentos diferentes: previamente, durante ou após o condicionamento ácido, na resistência de união de um sistema adesivo dentinário *etch-and-rinse* à dentina bovina. Os autores concluíram que o uso da clorexidina, nas concentrações 0,2% e 2% previamente, associada ao ácido fosfórico, ou após o condicionamento ácido, não afeta significativamente os valores de resistência de união do sistema adesivo *etch-and-rinse* utilizado.



Monticelli et al., em 2008, tendo em mente que a infiltração dos diferentes tipos de cimentos resinosos na dentina pode variar em função do tipo de tratamento dentinário preconizado para cada cimento, avaliaram o grau de infiltração dentinária e as características interfaciais de diferentes cimentos resinosos contemporâneos. Especial atenção foi dada aos cimentos resinosos autoadesivos, uma vez que não há a indicação de tratamento do substrato dentinário, a penetração e a interação do cimento com a dentina subjacente podem ser questionadas. Blocos de resina composta foram cimentados à dentina coronária média utilizando um cimento resinoso “*etch-and-rinse*”, um cimento resinoso “*self-etch*”, e quatro cimentos resinosos autoadesivos. As interfaces adesivas foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura e pela técnica de coloração de Masson’s Trichome. Não foi detectada a formação de “*tags*” resinosos ou de camada híbrida na interface resino-dentinária nos cimentos autoadesivos. Limitada descalcificação/desmineralização da dentina subjacente foi observada nos cimentos autoadesivos. Os cimentos autoadesivos não foram capazes de desmineralizar/dissolver completamente a camada de “*smear layer*”.

Breschi et al., em 2008, realizaram uma revisão de literatura e relataram que para superar problemas relacionados à adesão em odontologia, as técnicas de infiltração de resina devem ser melhoradas, especialmente para adesivos de duas etapas e adesivos “*total-etch*”; o uso de adesivos convencionais de vários passos é recomendado, uma vez que envolvem a utilização de um revestimento de resina hidrofóbica; o aumento no tempo de polimerização deve ser considerado para a redução da permeabilidade e permitir uma melhor polimerização do adesivo; inibidores de proteases devem ser usados para aumentar a estabilidade das fibras colágenas na camada híbrida, inibindo a atividade intrínseca colagenolítica da dentina humana.

Komori et al., em 2009, avaliaram a ação do digluconato de clorexidina 2% como primer terapêutico na resistência de união, em longo prazo, de dois sistemas adesivos dentinários *etch-and-rinse* unidos à dentina. Superfícies dentinárias planificadas afetadas por lesões cáries e circundadas por dentina hígida foram tratadas ou não com clorexidina 2% por um minuto. Em seguida,

foram utilizados dois sistemas adesivos *etch-and-rinse*: um de três passos (Scotchbond Multi Purpose, 3M ESPE) e um de dois passos (Single Bond 2, 3M ESPE). Para o ensaio de microtração, foram obtidos palitos de acordo com a técnica *non-trimming*, os quais foram testados imediatamente ou após seis meses de armazenamento em saliva artificial. Foi observado que o uso de clorexidina 2% não alterou a resistência de união imediata dos adesivos utilizados tanto na dentina hígida, quanto na dentina afetada por cárie, e reduziu significativamente a perda de resistência de união, após seis meses, na dentina hígida. A resistência de união da dentina afetada por cárie não foi alterada. Os autores concluíram que a utilização do sistema adesivo *etch-and-rinse* de três passos em dentina pré-tratada com clorexidina 2% produziu uma união estável, não sofrendo alterações no período de seis meses.

Brunzel *et al.*, em 2009, avaliaram a resistência de união e durabilidade de um cimento resinoso autoadesivo associado ao uso de um adesivo “*etch-and-rinse*”. Blocos de resina composta foram cimentados a discos de dentina utilizando o cimento RelyX Unicem (3M ESPE) de duas formas: de acordo com as instruções do fabricante ou realizando o condicionamento ácido do substrato dentinário juntamente com a aplicação do sistema adesivo OptiBond FL (Kerr). As amostras foram armazenadas em água por 150 dias a 37°C sendo submetidas à termociclagem: 37.500 ciclos variando a temperatura de 5° a 55°C ou de 20° a 40°C. As amostras que não sofreram termociclagem foram avaliadas após três dias de armazenamento em água a 37°C. Os autores concluíram que independente da forma de envelhecimento, o uso do sistema adesivo aumentou significativamente a resistência de união do cimento autoadesivo em comparação com a utilização de apenas o cimento resinoso.

Lehmann *et al.*, em 2009, levando em conta que um dos principais problemas inerentes a procedimentos restauradores adesivos é a degradação da camada híbrida, onde existe a participação das metaloproteinases endógenas devido as características ácidas dos sistemas adesivos, avaliaram a alteração da expressão de MMP-2 e proMMP-9 no complexo dentino-pulpar após a utilização de um adesivo “*self-etch*”. Foi observado um aumento na expressão de MMP-2 pelos odontoblastos assim como um aumento de MMP-2

e proMMP-9 na dentina adjacente a aplicação do adesivo “*self-etch*” na presença do tecido pulpar. Os autores concluíram que a utilização de adesivos “*self-etch*” estimula a secreção de metaloproteinases pelo complexo dentino-pulpar, mais especificamente pelos odontoblastos, sugerindo a sua participação na degradação da camada híbrida.

De Munck et al., em 2009, tendo em mente que procedimentos adesivos dentinários podem ativar metaloproteinases endógenas e dessa forma, iatrogenicamente iniciar a degradação da interface de união resino-dentinária, avaliaram a hipótese de que a adição de inibidores de metaloproteinases ao primer adesivo pode prevenir essa degradação endógena enzimática e consequentemente melhorar a durabilidade da união. Um inibidor sintético de metaloproteinases não específico, a clorexidina, e um inibidor específico para MMP-2/MMP-9, o SB-3CT, foram adicionados ao primer de dois sistemas adesivos: um “*self-etch*” e um *etch-and-rinse*, ambos considerados “padrão ouro” em suas gerações. A análise zimográfica gelatinosa de dentina triturada, tratada clinicamente com ambos os adesivos, revelou a liberação de MMP-2 e não MMP-9 na utilização do adesivo *etch-and-rinse*. Não foi detectada a liberação de metaloproteinases na utilização do adesivo “*self-etch*”, provavelmente devido ao seu limitado potencial desmineralizador dentinário. Os inibidores sintéticos de metaloproteinases foram efetivos na redução da perda da resistência de união, apenas na utilização do adesivo *etch-and-rinse*. A sorção de água pelas interfaces adesivas provavelmente ainda é o principal mecanismo responsável pela degradação dessa interface, enquanto que a degradação enzimática parece contribuir apenas quando adesivos *etch-and-rinse* são utilizados.

Viotti et al., em 2009, avaliaram a resistência de união à dentina de cimentos resinosos autoadesivos a cimentos resinosos convencionais de múltiplos passos. Blocos de resina composta foram cimentados à dentina coronária utilizando os cimentos autoadesivos: RelyX Unicem (3M ESPE), RelyX U100 (3M ESPE), SmartCem (Dentsply), G-Cem (CG America), Maxcem (Kerr) e Set (SDI) e os cimentos convencionais de múltiplos passos: RelyX ARC (3M ESPE,) com o adesivo Single Bond (3M ESPE), e Panavia F

(Kuraray), com ou sem a aplicação do sistema adesivo Clearfil SE Bond (Kuraray). Após 24 horas de armazenamento em água, os dentes restaurados foram seccionados em palitos e submetidos ao teste de microtração a uma velocidade de 1 mm/min. O padrão de falha dos palitos foi determinado por meio de microscopia eletrônica de varredura. Houve diferença estatística entre os grupos: RelyX ARC (69,6 MPa)<sup>a</sup>, Panavia F + Clearfil SE Bond (49,2 MPa)<sup>a</sup>, Panavia F (33,7MPa)<sup>ab</sup>, G-Cem (19,9 MPa)<sup>bc</sup>, RelyX U100 (15,3 MPa)<sup>bc</sup>, RelyX Unicem (12,5 MPa)<sup>c</sup>, Maxcem (11,5 MPa)<sup>cd</sup>, SmartCem (8,5MPa)<sup>cd</sup> e Set (4,6 MPa)<sup>d</sup>, existindo predominância nas falhas adesivas entre cimento e dentina nos cimentos autoadesivos. Os autores concluíram que a resistência de união dos cimentos convencionais de passos múltiplos foi estatisticamente superior aos cimentos autoadesivos.

Breschi *et al.*, em 2010, avaliaram o papel das metaloproteinases endógenas na auto degradação das fibrilas colágenas presente em substratos dentinários infiltrados por resina. Foi realizada análise zimográfica de proteínas extraídas de dentina humana triturada, que foram incubadas com o sistema adesivo Adper Scotchbond 1XT (3M ESPE) em dentina tratada ou não com concentrações de 0,2% até 2%, para avaliar a atividade enzimática das metaloproteinases. A resistência de união e a nanoinfiltração foram avaliadas imediatamente e após dois anos de envelhecimento em saliva artificial a 37° C. Os resultados da análise zimográfica mostraram que a aplicação do Adper Scotchbond 1XT em dentina humana triturada aumenta a atividade da MMP-2, enquanto que a aplicação de clorexidina inibiu toda a atividade colagenolítica independente da concentração testada. A clorexidina reduziu significativamente a perda de resistência de união e a expressão de nanoinfiltração observada no substrato dentinário condicionado com ácido fosfórico e infiltrado com sistema adesivo após dois anos de envelhecimento artificial. Os autores concluíram que o Adper Scotchbond 1XT possui um papel importante na ativação de MMP-2 no substrato dentinário e que a clorexidina é eficiente na inibição das metaloproteinases mesmo em baixas concentrações.

Vrochari & Eliades, em 2010, avaliaram a solubilidade e a absorção de água de diferentes cimentos resinosos autoadesivos e “self-etch” de acordo

com a ISO 4049. Foi observado que o cimento RelyX Unicem (3M ESPE) obteve valores de sorção de água levemente maiores em relação ao cimento dual convencional utilizado como controle. Em relação a solubilidade, apresentou solubilidade negativa. Os autores concluíram que materiais do mesmo grupo apresentam características diferentes sendo que o RelyX Unicem (3M ESPE) está de acordo com as exigências da ISO 4049.

## **PROPOSIÇÃO**

---

### **3. PROPOSIÇÃO**

A proposta desse estudo foi avaliar a resistência de união dentinária, a nanoinfiltração e a morfologia da interface adesiva de diferentes cimentos resinosos, em função do pré-tratamento do substrato dentinário com digluconato de clorexidina 2%. Portanto, os objetivos desse estudo foram: (i) avaliar a resistência de união à dentina de um cimento resinoso convencional e um cimento resinoso autoadesivo pelo ensaio mecânico de microtração; (ii) avaliar a morfologia da interface adesiva; e (iii) analisar qualitativamente a nanoinfiltração de ambos os cimentos, por meio de microscopia eletrônica de varredura, em função do pré-tratamento do substrato dentinário com clorexidina.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

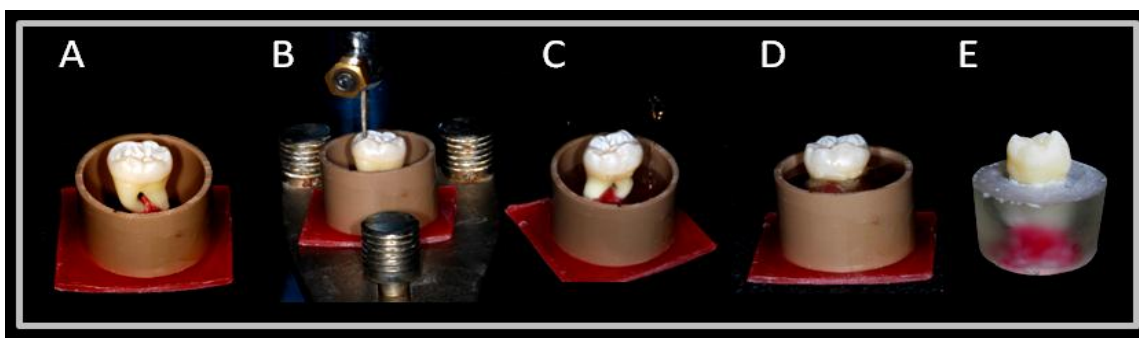
---



## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Seleção e Preparo Oclusal dos Dentes

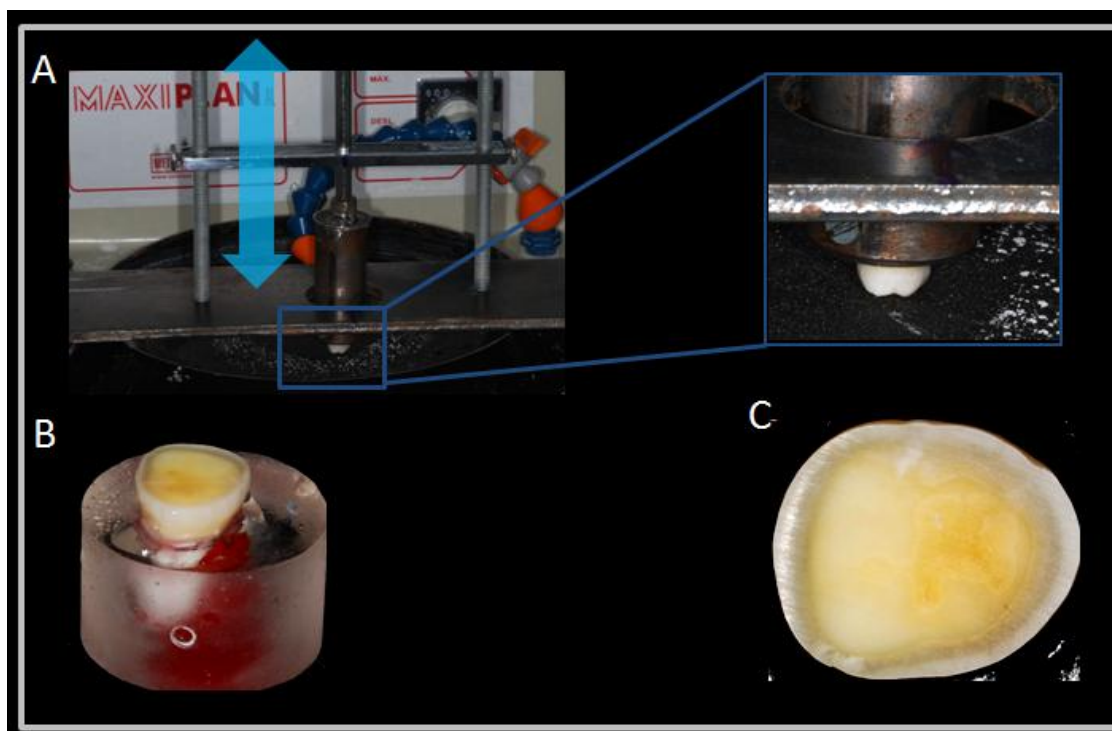
Quarenta terceiros molares humanos inferiores, hígidos, com dimensões coronárias semelhantes e ápices radiculares completamente formados foram coletados por meio de aprovação do Comitê de Ética da Universidade Federal de Uberlândia, protocolo 371/09, com consentimento escrito formal dos doadores. Os dentes foram limpos por meio de curetagem periodontal e profilaxia com pedra-pomes, e armazenados em solução de azida sódica a 0.2% por no máximo um mês a 4° C até a sua utilização. Previamente ao preparo oclusal, os dentes foram lavados abundantemente em água corrente para remoção de possíveis resíduos da solução de azida sódica e em seguida, foram secos com papel toalha (Snack, Melhoramentos Papéis Ltda., Caieiras, SP, Brasil), cada elemento foi fixado em blocos de resina de poliestireno, 3 mm abaixo da junção cimento-esmalte mantendo as cúspides aproximadamente na mesma altura (Figura 1).



**Figura 1.** Inclusão dos dentes em resina de poliestireno: (A) fixação do dente com cera utilidade dentro do tubo de PVC, (B) nivelamento das cúspides com delineador, (C) colocação da resina de poliestireno dentro do tubo de PVC, (D) polimerização da resina e (E) remoção do tubo de PVC.

Após a polimerização da resina de poliestireno, o conjunto dente/resina de poliestireno foi fixado em um suporte especialmente desenvolvido para essa finalidade (Figura 2), de forma que, no processo de desgaste na politriz,

ocorresse a formação de apenas um plano oclusal, evitando dessa forma a formação de arestas e consequentemente diferentes planos na superfície oclusal.



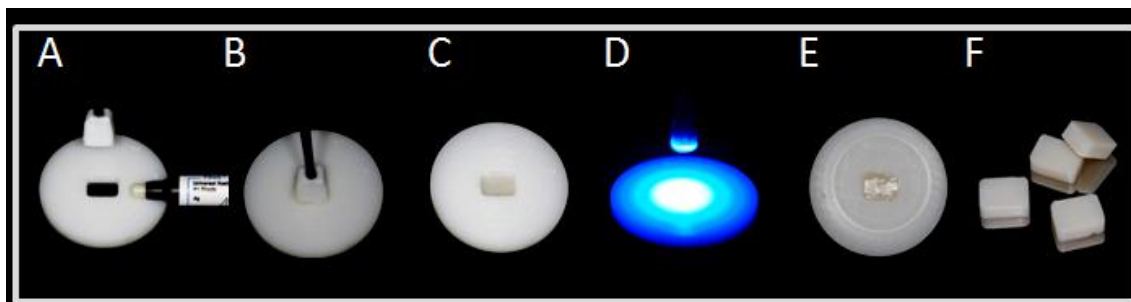
**Figura 2.** Planificação oclusal: (A) fixação do conjunto dente/resina de poliestireno no dispositivo de suporte, (B) remoção do esmalte e parte da dentina superficial e (C) dente com “*smear layer*” padronizado após a verificação da completa ausência de esmalte.

Em seguida, foi realizado um desgaste perpendicular ao longo eixo do dente, utilizando lixas de carbeto de silício de granulação 180 (Norton, Campinas, Brasil) em baixa rotação, com resfriamento à água constante, na politriz. Somente o esmalte e parte da dentina superficial foram removidos. Essas superfícies foram examinadas com auxílio de lupa estereoscópica (Leica CLS 100) no aumento de 20x para verificar a completa ausência de esmalte. Caso existisse esmalte remanescente, este fora removido da mesma forma, ou seja, realizando o desgaste na politriz com lixas de carbureto de silício de granulação 180 (Norton, Campinas, Brasil). Da mesma forma em que foi realizado o desgaste oclusal, a superfície dentinária foi padronizada, porém,

utilizando-se lixas de carbureto de silício de granulação 600 (Norton, Campinas, Brasil) na politriz, sob água corrente por 60 segundos. Os elementos dentais foram então limpos em cuba ultrassônica, por 2 minutos em água destilada e foram armazenados em água destilada para que não ocorresse desidratação da estrutura dental, permanecendo assim por no máximo duas horas até que se realizassem as próximas etapas restauradoras.

#### 4.2 Confeção das restaurações indiretas

Uma matriz de Teflon foi utilizada para confecção das restaurações indiretas em resina composta. Os orifícios retangulares de arestas arredondadas foram preenchidos com resina composta nanohíbrida (Filtek Supreme Z-350 3M ESPE, St Paul, Estados Unidos, Lote:124596) acomodada em três incrementos de 2 mm no interior do orifício (Figura 3). Cada incremento foi polimerizado individualmente (3M Curing Light, 3M ESPE, potência de 600 mW/cm<sup>2</sup>) por 40 segundos a uma distância de 1cm da entrada do orifício. As restaurações indiretas foram então retiradas da matriz e os excessos das arestas foram removidos com lixa de granulação 1000 (Norton, Campinas, Brasil). Em seguida, as restaurações foram colocadas em um forno para cerômeros (Fotoceram) e mantidas à temperatura de 110°C por 5 minutos para aumentar o número de ligações cruzadas. Foram confeccionadas quarenta restaurações indiretas, uma para cada elemento dental. Após a confecção, as restaurações foram lavadas em água corrente e limpas em cuba ultrassônica e água destilada por 5 minutos.



**Figura 3.** Confeção das restaurações indiretas em resina composta: (A) matriz de teflon e resina composta utilizadas, (B) acomodação do primeiro incremento

de 2 mm resina dentro da matriz, (C) verificação da adaptação do incremento de resina composta no interior da matriz, (D) fotopolimerização por 40 segundos, (E) repetição dos passos C e D para o completo preenchimento da matriz e (F) blocos de resina sacados do interior da matriz após polimerização.

### 4.3 Divisão dos grupos

Dois cimentos resinosos foram utilizados para cimentação das restaurações indiretas; o RelyX ARC (3M ESPE, St Paul, Estados Unidos) e o RelyX U100 (3M ESPE, St Paul, Estados Unidos) (Tabela 1), sendo o primeiro um cimento resinoso dual convencional e o segundo um cimento resinoso dual autoadesivo. Os dentes foram divididos em quatro grupos aleatoriamente (Tabela 2), de acordo com os cimentos resinosos utilizados e o tratamento ou não do substrato dentinário com digluconato de clorexidina 2% (Clorhexidina, FGM, Joinville, SC, Brasil). Cada grupo foi composto por 10 dentes (n=10). Os grupos ARC e U100, que não receberam pré-tratamento com clorexidina, formaram os grupos controles e os grupos ARC/CHX e U100/CHX, onde foi realizado o pré-tratamento com clorexidina, foram designados como grupos experimentais.

**Tabela 1.** Cimentos resinosos e suas características.

Nome Comercial	Fabricante	Classificação	Composição	Lote
RelyX ARC	3M ESPE	Dual Convencional	Cerâmica tratada com silício, Dimetacrilato de Trietileno Glicol, Metacrilato de Bisfenol A Diglicidil Éter, Sílica tratada com Silício, Polímero Dimetacrilato funcionalizado*	GW9J J
RelyX U100	3M ESPE	Dual Autoadesivo	Fibra de Vidro, Ésteres Ácido Fosfórico, Dimetacrilato de Trietilenoglicol, Sílica Tratada com Silano, Persulfato de Sódio*	36632 1

\*Material Safety Data Sheets (MSDS)

**Tabela 2.** Divisão dos grupos, (n=10).

<b>Grupo</b>	<b>Cimento Resinoso</b>	<b>Tratamento Dentinário</b>
ARC	RelyX ARC	Ausente
U100	RelyX U100	
ARC/CHX	RelyX ARC	CHX 2%
U100/CHX	RelyX U100	

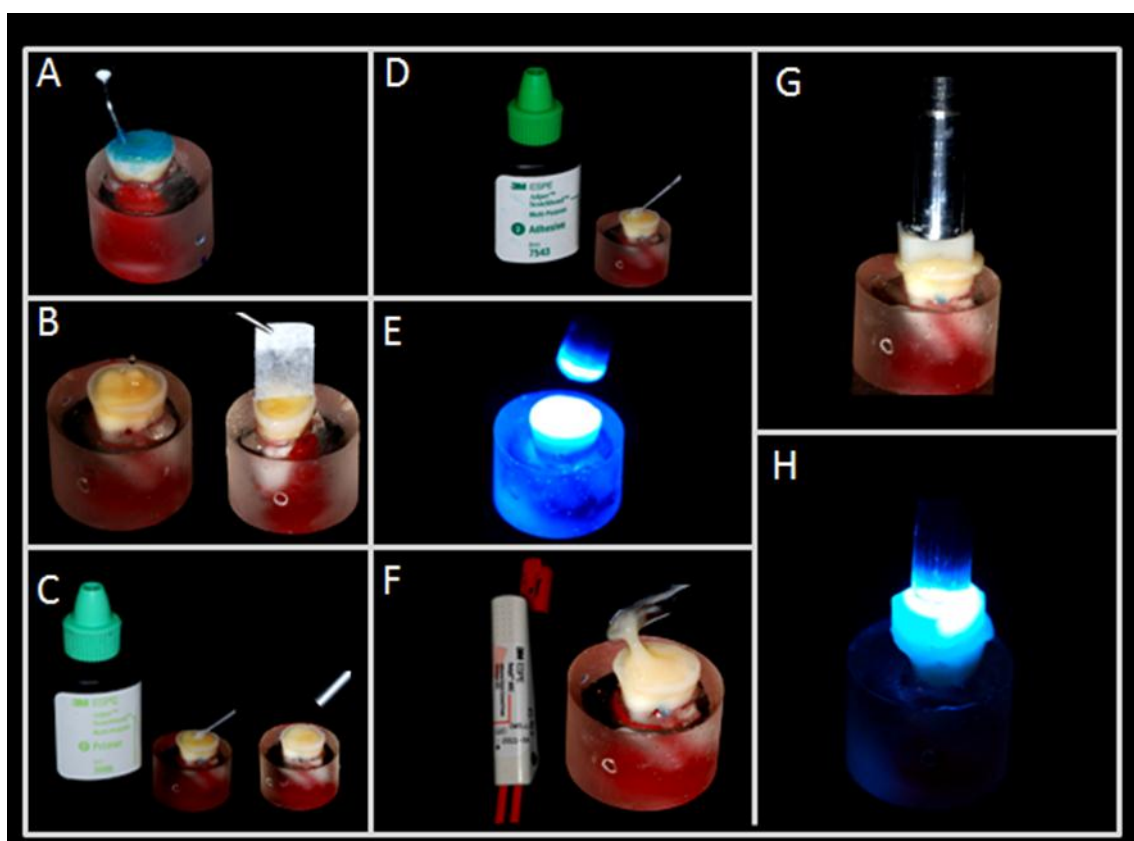
#### **4.4 Tratamento de superfície das restaurações indiretas**

Utilizando um jato de abrasivos (Microjato, Bioart, São Carlos, SP, Brasil), todas as restaurações indiretas foram jateadas com óxido de alumínio composto por partículas de 50 µm, por 1 minuto, a uma pressão de 4 bar, a 10 cm de distância. As restaurações foram então limpas em cuba ultrassônica e água destilada por 5 minutos. Em seguida, as restaurações foram secas com jatos de ar à temperatura ambiente utilizando a seringa tríplice, a superfície selecionada para cimentação foi limpa com gaze embebida em álcool 70%, realizando movimentos de fricção e completamente seca com jatos de ar a temperatura ambiente. Em seguida, foi aplicada, com um Cavibrush (FGM, Joinville, SC, Brasil) uma fina camada do agente de silanização (Prosil, FGM, Joinville, SC, Brasil, Lote: 300609) em toda a superfície selecionada para cimentação, a qual, posteriormente, foi seca com leves jatos de ar à temperatura ambiente para a evaporação do solvente presente no agente de silanização.

#### **4.5 Cimentação**

No ato da cimentação das restaurações indiretas de resina composta, as restaurações, previamente tratadas com óxido de alumínio e o agente silano, foram cimentadas ao substrato dentinário, tratado ou não com clorexidina, dependendo do grupo em que se encontravam. O grupo ARC (Figura 4) foi cimentado com o RelyX ARC (3M ESPE, St Paul, Estados Unidos) cor A3: realizou-se o condicionamento ácido com ácido fosfórico 37% (Condac, FGM, Joinville, SC, Brasil, Lot. 211009) por 15 segundos, lavagem abundantemente

do substrato condicionado por 30 segundos com spray d'água e remoção do excesso de umidade com auxílio de tiras de papel absorvente (Snack, Melhoramentos Papéis Ltda., Caieiras, SP, Brasil). Após o condicionamento e controle de umidade, com auxílio de Cavibrush (FGM, Joinville, SC, Brasil), a superfície dentinária foi reidratada com água destilada por 1 minuto realizando cuidadosos movimentos circulares. Em seguida, foi novamente realizado o controle de umidade com tiras de papel absorvente (Snack, Melhoramentos Papéis Ltda., Caieiras, SP, Brasil) e uma fina camada, do primer, frasco 2, do sistema adesivo Adper Scotchbond Multi-uso (3M-ESPE, St. Paul, EUA) foi aplicada com auxílio de um Cavibrush (FGM, Joinville, SC, Brasil).

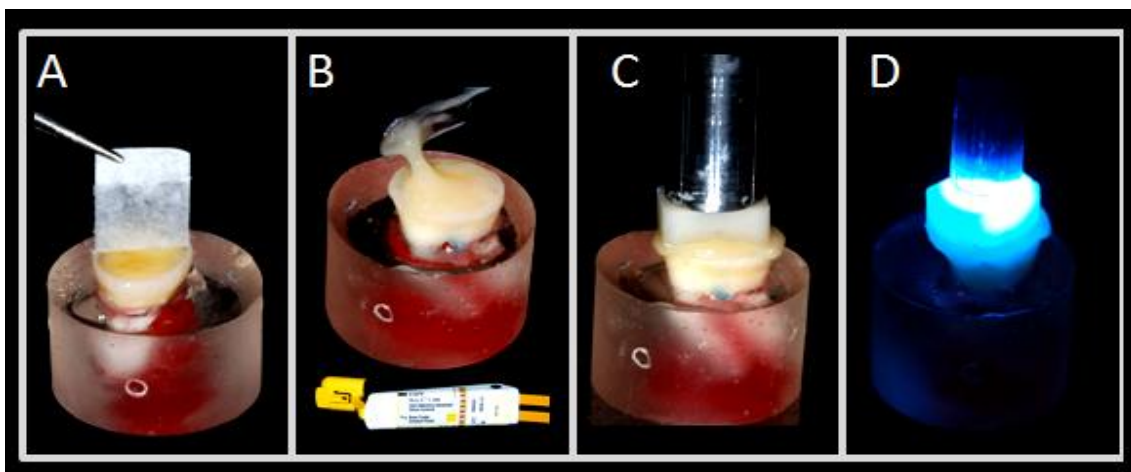


**Figura 4.** Cimentação do grupo ARC: (A) condicionamento ácido da dentina por 15 segundos, (B) lavagem por 30 segundos e controle de umidade com tiras de papel absorvente, (C) aplicação do primer e secagem para evaporação do solvente, (D) aplicação do adesivo, (E) fotopolimerização do sistema adesivo por 20 segundos, (F) manipulação em placa de vidro e aplicação do

cimento RelyX ARC na superfície dentinária, (G) posicionamento da restauração e aplicação da carga de 3 Kg por 3 minutos e (H) fotopolimerização do cimento resinoso.

Leves jatos de ar foram utilizados para auxiliar a evaporação do solvente. Em seguida, uma fina camada do adesivo, frasco 3, do sistema adesivo Adper™ Scotchbond Multi-uso (3M-ESPE, St. Paul, EUA) foi aplicada. Com auxílio de um Cavibrush (FGM, Joinville, SC, Brasil) durante 30 segundos foram realizados movimentos circulares em toda a extensão dentinária e realizou-se a fotoativação (3M Curing Ligth, 3M ESPE, potência de 600 mW/cm<sup>2</sup>) por 20 segundos a uma distância de 1 cm. Um “*click*” do cimento RelyX ARC (3M ESPE, St Paul, Estados Unidos), foi manipulado em uma placa de vidro por 20 segundos com auxílio da Espátula 26 (SSwhite, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) até a obtenção de uma coloração homogênea. Toda a mistura foi então posicionada sobre a dentina e a restauração indireta foi levada em posição. O conjunto dente-restauração foi posicionado em um dispositivo especialmente desenvolvido para a aplicação constante de uma carga de 3 Kg por 3 minutos para padronização da espessura da camada de cimento e permitir a cura química. Após 3 minutos, a carga foi removida e cada face; mesial, distal, vestibular, lingual e oclusal, foi fotoativada (3M Curing Ligth, 3M ESPE, potência de 600 mW/cm<sup>2</sup>) por 40 segundos a uma distância de 1 cm.

O grupo U100 (Figura 5) foi cimentado com o RelyX U100 (3M-ESPE, St. Paul, EUA), cor A2. Inicialmente, foi removido o excesso de umidade do substrato dentinário por meio de tiras de papel absorvente (Snack, Melhoramentos Papéis Ltda., Caieiras, SP, Brasil) e com auxílio de Cavibrush (FGM, Joinville, SC, Brasil), a superfície dentinária foi reidratada com água destilada por 1 minuto, realizando cuidadosos movimentos circulares. Em seguida, um “*click*” do cimento resinoso autoadesivo foi manipulado em placa de vidro por 20 segundos com auxílio da Espátula 26 (SSwhite, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e posicionado sobre a dentina.



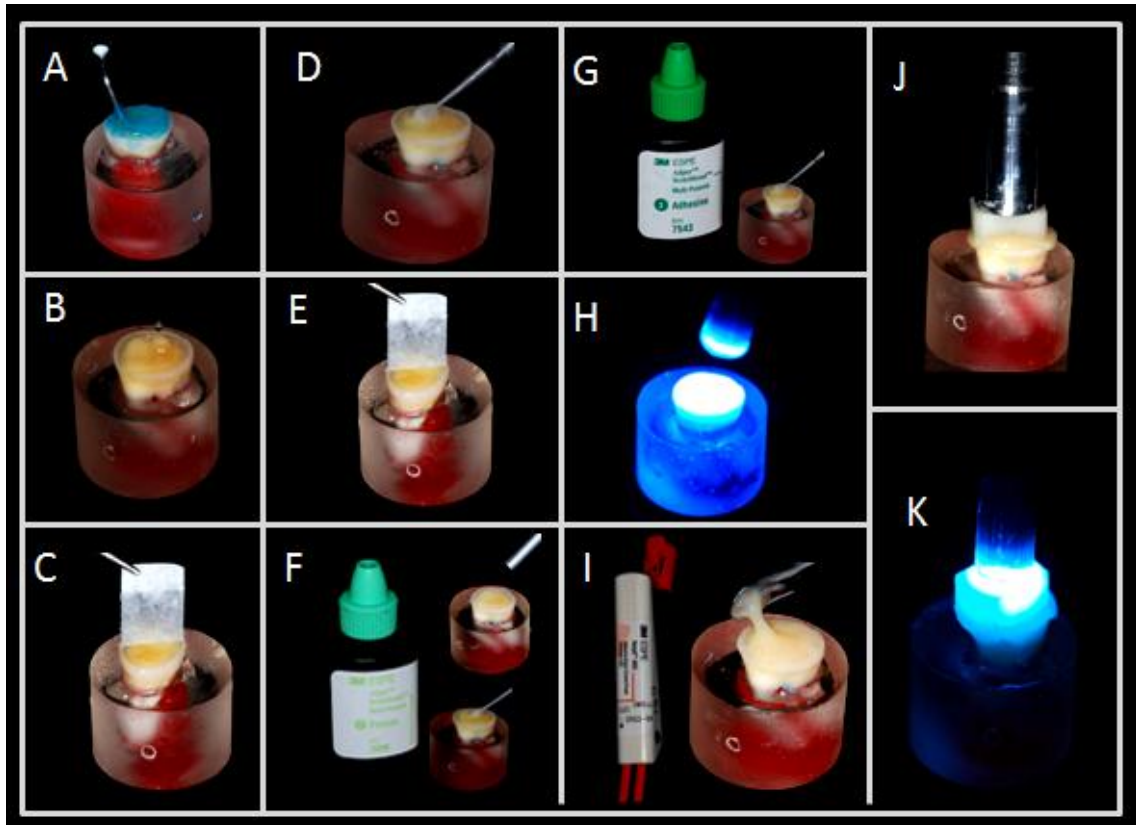
**Figura 5.** Cimentação do grupo U100: (A) controle de umidade da superfície dentinária, (B) manipulação em placa de vidro e aplicação do cimento RelyX U100 sobre a dentina, (C) posicionamento da restauração e aplicação da carga de 3 Kg por 3 minutos e (D) fotopolimerização do cimento resinoso.

A restauração foi então levada em posição e o conjunto dente-restauração foi posicionado em um dispositivo especialmente desenvolvido para a aplicação constante de uma carga de 3 Kg por 3 minutos para padronização da espessura da camada de cimento e ao mesmo tempo permitir a cura química. Após 3 minutos, a carga foi removida e cada face: mesial, distal, vestibular, lingual e oclusal, foi individualmente fotoativada (3M Curing Ligth, 3M ESPE, potência de  $600 \text{ mW/cm}^2$ ) por 40 segundos a uma distância de 1 cm.

No grupo ARC/CHX (Figura 6), utilizou-se o cimento RelyX ARC associado ao Digluconato de clorexidina 2% (Clorhexidina s, FGM, Joinville,SC, Brasil) que foi aplicado após o condicionamento ácido da seguinte forma: a dentina foi condicionada com Ácido Fosfórico 37% (Condac, FGM, Joinville,SC, Brasil, Lot. 211009) por 15 segundos e lavada abundantemente por 30 segundos com spray d'água, o excesso de umidade foi removido com auxílio de tiras de papel absorvente (Snack, Melhoramentos Papéis Ltda., Caieiras, SP, Brasil) e duas gotas de clorexidina foram aplicadas na superfície dentinária de forma que a solução permanecesse em contato com toda a superfície dentinária e com auxílio de um Cavibrush (FGM, Joinville, SC, Brasil) foram



realizados, cuidadosamente sem exercer pressão excessiva, movimentos circulares por um minuto e removeu-se novamente o excesso de umidade com tiras de papel absorvente (Snack, Melhoramentos Papéis Ltda., Caieiras, SP, Brasil).



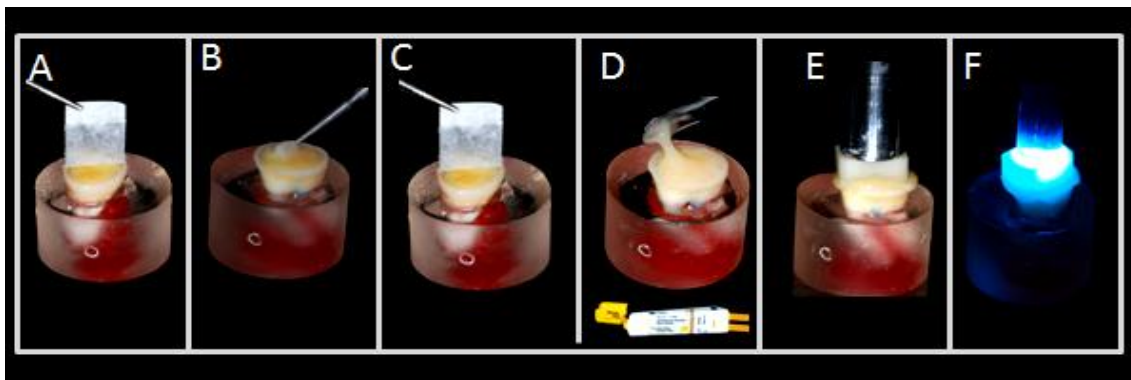
**Figura 6.** Cimentação do grupo ARC/CHX: (A) condicionamento ácido da dentina por 15 segundos, (B) lavagem por 30 segundos (C) controle de umidade com tiras de papel absorvente, (D) aplicação da clorexidina por 60 segundos, (E) controle de umidade com tiras de papel absorvente, (F) aplicação do primer e secagem para evaporação do solvente, (G) aplicação do adesivo, (H) fotopolimerização do sistema adesivo por 20 segundos, (I) manipulação em placa de vidro e aplicação do cimento RelyX ARC na superfície dentinária, (J) posicionamento da restauração e aplicação da carga de 3 Kg por 3 minutos e (K) fotopolimerização do cimento resinoso.

Após o condicionamento, o tratamento dentinário com clorexidina e o controle de umidade, foi aplicada uma fina camada, com auxílio de um

Cavibrush (FGM, Joinville, SC, Brasil), do primer, frasco 2, do sistema adesivo Adper™ Scotchbond Multi-uso (3M-ESPE, St. Paul, EUA). Leves jatos de ar foram utilizados para auxiliar a evaporação do solvente. Em seguida, uma fina camada do adesivo, frasco 3, do sistema adesivo Adper™ Scotchbond Multi-uso (3M-ESPE, St. Paul, EUA) foi aplicada. Com auxílio de um Cavibrush (FGM, Joinville, SC, Brasil), durante 30 segundos foram realizados movimentos circulares em toda a extensão dentinária. Em seguida, foi realizada a fotoativação (3M Curing Ligth, 3M ESPE, potência de 600 mW/cm<sup>2</sup>) por 20 segundos a uma distância de 1 cm. Um “click” do cimento RelyX ARC (3M ESPE, St Paul, EUA), cor A2, foi manipulado em uma placa de vidro por 20 segundos com auxílio da Espátula 26 (SSwhite, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) até a obtenção de uma coloração homogênea. Toda a mistura foi então posicionada sobre a dentina e a restauração indireta foi levada em posição. O conjunto dente-restauração foi posicionado em um dispositivo especialmente desenvolvido para a aplicação constante de uma carga de 3 Kg por 3 minutos para padronização da espessura da camada de cimento e permitir a cura química. Após 3 minutos, a carga foi removida e cada face: mesial, distal, vestibular, lingual e oclusal, foi individualmente fotoativada (3M Curing Ligth, 3M ESPE, potência de 600 mW/cm<sup>2</sup>) por 40 segundos a uma distância de 1 cm.

No grupo U100/CHX (Figura 7), uma vez que não se realiza condicionamento ácido da dentina, pois o cimento RelyX U100 é um cimento resinoso autoadesivo, a clorexidina foi aplicada previamente a cimentação da seguinte forma: o excesso de umidade foi removido do substrato dentinário com auxílio de tiras de papel absorvente (Snack, Melhoramentos Papéis Ltda., Caieiras, SP, Brasil), duas gotas de clorexidina foram aplicadas na superfície dentinária de forma que a solução permanecesse em contato com toda a superfície dentinária, com auxílio de um Cavibrush (FGM, Joinville, SC, Brasil) foram realizados, cuidadosamente e sem exercer pressão excessiva, movimentos circulares por um minuto, removeu-se o excesso de umidade com auxílio de tiras de papel absorvente (Snack, Melhoramentos Papéis Ltda., Caieiras, SP, Brasil) até que não se observasse sinais de umidade e logo em

seguida foi realizada a cimentação com o cimento RelyX U100: um *click* do cimento resinoso autoadesivo foi manipulado em placa de vidro por 20 segundos com auxílio da Espátula 26 (SSwhite, Rio de Janeiro, RJ Brasil) e posicionado sobre a dentina.



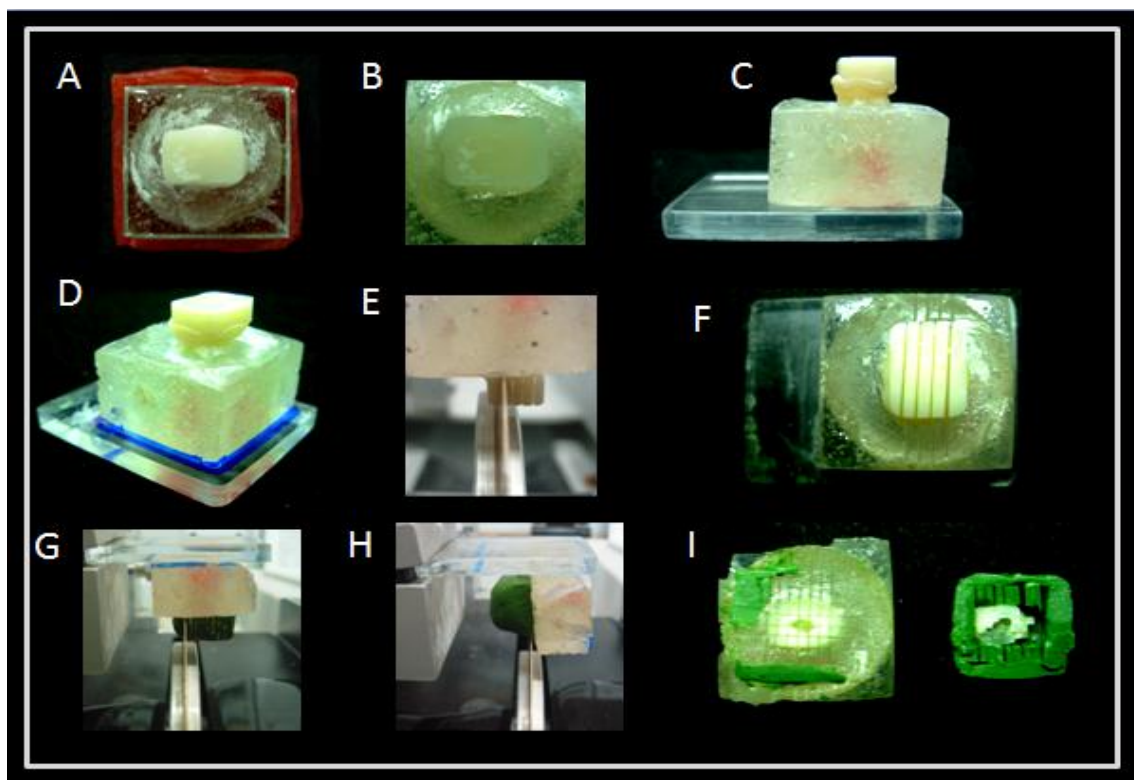
**Figura 7.** Cimentação do grupo U100: (A) controle de umidade da superfície dentinária, (B) aplicação da clorexidina por 1 minuto, (C) controle da umidade com tiras de papel absorvente (D) manipulação em placa de vidro e aplicação do cimento RelyX U100 sobre a dentina, (E) posicionamento da restauração e aplicação da carga de 3 Kg por 3 minutos e (F) fotopolimerização do cimento resinoso.

A restauração foi então levada em posição e o conjunto dente-restauração foi posicionado em um dispositivo especialmente desenvolvido para a aplicação constante de uma carga de 3 Kg por 3 minutos para padronização da espessura da camada de cimento e ao mesmo tempo permitir a cura química. Após 3 minutos, a carga foi removida e cada face: mesial, distal, vestibular, lingual e oclusal, foi individualmente fotoativada (3M Curing Ligth, 3M ESPE, potência de  $600 \text{ mW/cm}^2$ ) por 40 segundos a uma distância de 1 cm.

#### 4.6 Secção dos Palitos

Após a cimentação, o conjunto dente-restauração foi armazenado em água destilada a  $37^\circ \text{C}$  por 24 horas até a secção dos palitos. Inicialmente, o conjunto dente-restauração foi incluído novamente em resina de poliestireno

para a obtenção de uma base quadrada e posteriormente fixado em uma placa de acrílico 40 x 30 x 4 mm utilizando um adesivo a base de cianocrilato (Super Bonder Flex Gel, Loctite, SP, Brasil). Em seguida, foi demarcado, com uma caneta marcadora permanente para acrílico de ponta fina (Marcador Permanente, Pilot, cor azul), o exato contorno da base de resina de poliestireno sobre a placa de acrílico (Figura 8). Aguardaram-se 5 minutos para a cura do adesivo a base de cianocrilato e a placa de acrílico foi então posicionada na cortadeira de precisão (Isomet 1000 Precision Saw, Buehler, Lake Buff, IL, EUA). Utilizando um disco diamantado em 250 RPM, realizaram-se secções ocluso-gengivais no sentido mesio-distal até a junção amelo-cementária de forma que a espessura entre uma secção e outra fosse em torno de 0,9 mm. Tanto a porção correspondente à restauração e a dentina foram seccionadas. Em seguida, a placa de acrílico foi removida da cortadeira de precisão e o conjunto dente-restauração foi descolado, rotacionado em 90° e fixado novamente com adesivo a base de cianocrilato na mesma placa de acrílico exatamente dentro do limite previamente demarcado na placa com caneta permanente. A porção coronária foi recoberta com Godiva de baixa fusão (Godiva Extá DFL, DFL, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), e a placa de acrílico reposicionada na cortadeira. Similarmente, novas secções ocluso-gengivais foram realizadas, no entanto no sentido vestibulo-lingual respeitando a dimensão de 0,9 mm. A placa de acrílico foi removida da cortadeira de precisão, o conjunto dente-restauração foi descolado e fixado novamente à placa de acrílico de forma que as secções realizadas anteriormente se localizassem paralelas à placa. Em seguida, a placa foi fixada na cortadeira e uma secção paralela à face oclusal da restauração, 1 mm abaixo da junção amelo-cementária, foi realizada, separando a porção coronária da porção radicular. Os palitos de área seccional de 0,9 mm X 0,9 mm foram então coletados, descartando-se os palitos da periferia e os demais que continham esmalte.

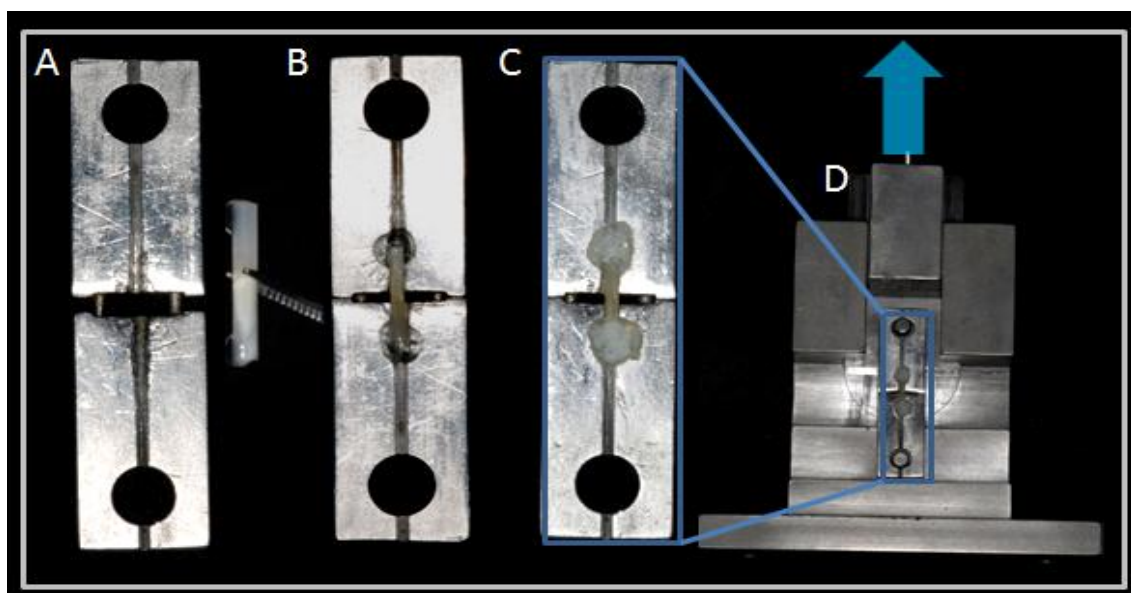


**Figura 8.** Secção dos palitos: (A) Inclusão do conjunto dente-restauração em molde metálico de base quadrada, (B) remoção do conjunto dente-restauração do molde metálico, (C) colagem em placa de acrílico, (D) demarcação do perímetro da base quadrada na placa de acrílico, (E) secção no ocluso-gengival no sentido mesio-distal com disco diamantado na cortadeira de precisão, (F) remoção da placa de acrílico, rotação de 90° e recolagem na placa de acrílico, (G) proteção da porção coronária com godiva e secção ocluso-gengival no sentido vestibulo-lingual, (H) secção da porção coronária com disco diamantado e (I) à direita, a porção coronária com os palitos no seu interior e à esquerda, base de resina de poliestireno com remanescente da raiz no seu interior.

No mínimo 12 palitos compostos exclusivamente por dentina foram obtidos em cada elemento dental. Após essa seleção, os palitos foram lavados em água destilada, analisados em Lupa Estereoscópica (Leica CLS 100) no aumento de 20X para verificar a completa ausência de esmalte e mantidos em água destilada por no máximo 24 horas até que se realizasse o ensaio mecânico de microtração.

#### 4.7 Ensaio de Microtração

A dimensão exata de cada palito foi obtida utilizando um paquímetro digital (Digimatic Micrometer, Mitutoyo, Japão) para sua utilização no ensaio de microtração. Oito palitos de cada dente selecionados aleatoriamente foram secos em papel toalha (Snack, Melhoramentos Papéis Ltda., Caieiras, SP, Brasil) e fixados individualmente na garra do dispositivo de Geraldeli (Patzlaff Biotechnology, SC, Brasil) com um adesivo a base de cianocrilato gel (Super Bonder Flex Gel, Loctite, SP, Brasil) (Figura 9).



**Figura 9.** Fixação dos palitos na garra do dispositivo de Geraldeli para o ensaio de Microtração: (A) colocação do adesivo a base de cianocrilato nas extremidades do palito, (B) posicionamento do palito na garra e colocação do adesivo cobrindo toda a extremidade do palito para obtenção uma colagem efetiva, (C) aplicação do acelerador de cura para adesivos à base de cianocrilato e (D) fixação da garra no dispositivo de Geraldeli para realização do ensaio de microtração.

O adesivo à base de cianocrilato foi colocado entre o palito e o dispositivo, nas extremidades laterais e superiores, e recobrimdo a porção superior do palito, sempre evitando o seu contato com a interface adesiva,

entre a porção de dentina e a porção de material restaurador. Um acelerador de cura específico para adesivos à base de cianocrilato (Zapit Accelerator, Dental Ventures of America, Corona, CA, EUA) foi espirrado no adesivo à base de cianocrilato, aguardaram-se 3 minutos e então a garra foi levada ao Dispositivo de Geraldelli que as se encontrava acoplado a máquina de ensaio mecânico (DL 2000, EMIC, São José dos Pinhais, PR, Brasil). Os palitos foram então tracionados a uma velocidade de 0,5 mm/min e o valor da força no momento da ruptura foi obtida em Newtons (N). Em seguida foi calculada a resistência de união em MPa utilizando a fórmula:  $\text{MPa} = \text{N}/\text{mm}^2$ . Os palitos que falharam prematuramente durante o ensaio mecânico, foram considerados estatisticamente como valores nulos ( $\text{Mpa} = 0$ ). Após a ruptura, os palitos foram preparados para avaliação do padrão de falha por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV): os palitos foram fixados com adesivo à base de cianocrilato gel (Super Bonder Flex Gel, Loctite, SP, Brasil) em *stubs* de alumínio de 37 mm de diâmetro por 3 mm de espessura. Após a cura do adesivo, os palitos foram limpos em Cuba Ultrassônica por 2 minutos, secos em estufa a 70°C por 10 minutos, metalizadas com ouro (MED 010, Balzers, EUA) e analisados em microscópio eletrônico de varredura de pressão variável (LEO 435 LP, Zeiss, Oberkochen, Alemanha). O padrão de falha foi classificado em: (1) falha adesiva na interface cimento-dentina; (2) falha coesiva em dentina; (3) falha coesiva em cimento; e (4) falha mista.

#### **4.8 Análise da Interface Adesiva**

Dois palitos escolhidos aleatoriamente de cada dente foram incluídos em resina epóxica (Epoxicure Resin, *Buhler*, Lake Bluff, IL, EUA). Após 24 horas, as superfícies de corte foram polidas com lixas de granulação de SiC decrescentes: 600, 1200 e 2000 (Norton, SP, Brasil) e com pastas diamantadas de granulação decrescentes: 3, 1, 0,5 e 0,25  $\mu\text{m}$  (Metadi II, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA), e limpos após cada etapa do polimento em cuba ultrassônica. Após o polimento, as superfícies de dentina expostas foram desmineralizada com  $\text{H}_3\text{PO}_4$  a 50% de líquido durante 10 segundos, lavados em água destilada,

desproteinizados com 2,5% de hipoclorito de sódio durante 10 minutos e secas em sílica gel durante 12 horas. Os espécimes foram cobertos com ouro em ambiente de alto vácuo (MED 010, Balzers Union, Balzers, Liechtenstein), analisando sob a ampliação de 1000-5000x por MEV operando em modo de elétrons secundários. Os perfis de seção transversal foram examinados, focalizando a profundidade do condicionamento ácido, embricamento micromecânico, integridade, homogeneidade e continuidade ao longo da interface de união.

#### **4.9 Nanoinfiltração**

Além dos oito palitos utilizados para o ensaio de microtração, mais dois palitos de cada dente selecionados aleatoriamente foram utilizados para a análise de nanoinfiltração. Os palitos foram inicialmente incluídos em resina epóxica de baixa contração (Epoxicure Resin, *Buhler*, Lake Bluff, IL, EUA) de forma que somente uma face do palito ficasse exposta. Para isso, foi utilizado um tubo de PVC de 14 mm de altura e 36 mm de diâmetro. O maior número possível de palitos foi colocado em fileiras dentro de cada tubo de PVC evitando o contato direto. Uma fita adesiva foi utilizada para manter os palitos em posição. Em seguida, verteu-se cuidadosamente a resina epóxica dentro do tubo de PVC e aguardaram-se 24 horas para a polimerização da resina. O bloco de resina foi então removido do tubo de PVC e duas camadas de esmalte para unhas (Verniz e Cor, Colorama, São Paulo, SP, Brasil) foram aplicadas na face exposta dos palitos a uma distância de 1 mm de ambos os lados da interface adesiva aguardando-se, entre uma aplicação e outra, quinze minutos. Quinze minutos após a aplicação da segunda camada de esmalte, os blocos de resina contendo os palitos foram reidratados em água destilada por 10 minutos e posteriormente submersos em solução de nitrato de prata amoniacal a 50%, pH 9.5, por 24 horas no escuro segundo o protocolo descrito por Tay et al. (*Tay et al.*, 2002). A solução de nitrato de prata amoniacal foi preparada no dia da imersão para evitar a possível ocorrência de problemas relacionados à oxidação dos íons de prata amoniacal pela luz ou temperatura. Em seguida, os



palitos impregnados com prata amoniacal foram lavados em água destilada, para remoção da solução de nitrato de prata amoniacal, e submersos em revelador radiológico (Kodak Professional D-76, Kodak Rochester, NY, EUA) por 8 horas na presença de luz fluorescente para facilitar a conversão dos íons  $[Ag(NH_3)_2]^+$  em partículas de prata metálica.

Os blocos de resina epóxica foram então removidos do revelador e lavados em água destilada para iniciar o processo de polimento. Foram utilizadas lixas de carbureto de silício de granulações decrescentes 1000, 1200, 1500, 2000 (Norton, Campinas, SP, Brasil). Os blocos foram lixados na politriz com resfriamento à água utilizando cada uma das lixas por 5 minutos com leve pressão manual e realizando-se a lavagem em cuba ultrassônica por 3 minutos após a utilização de cada lixa. A lixa de granulação 2000 foi utilizada duas vezes. Deu-se prosseguindo a etapa de polimento utilizando pastas diamantadas (Metadi II, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) com granulações decrescentes de 6, 3, 1,  $\frac{1}{4}$   $\mu m$  em rodas de feltro umedecidas em água corrente, por 5 minutos em cada pasta, e realizando-se a lavagem em cuba ultrassônica por 3 minutos após a utilização de cada uma delas. Em seguida, os blocos de resina epóxica foram secos em temperatura ambiente, montados em *stubs* de alumínio, secos em estufa a 70°C por 10 minutos, metalizados com carbono (MED Balzer, EUA) e analisados em microscópio eletrônico de varredura (LEO 435 LP, Zeiss, Oberkochen, Alemanha) em modo elétron retroespalhado a 15 Kv.

## **RESULTADOS**

---

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Microtração

Os valores médios de resistência de união dos cimentos resinosos testados em função do tratamento do substrato dentinário estão dispostos na Tabela 3. O maior valor do teste de microtração foi constatado no grupo ARC, seguido dos grupos ARC/CHX, U100 e U100/CHX. O cimento resinoso RelyX ARC obteve valores estatisticamente maiores ( $p<0,05$ ) em relação aos grupos cimentados com RelyX U100. O tratamento do substrato dentinário com clorexidina não influenciou os resultados de microtração quando os grupos experimentais foram comparados com seus respectivos grupos controles.

**Tabela 3.** Resistência de União (Mpa) em função do tratamento do substrato dentinário.

Grupo	Resistência de União (Mpa)	Desvio Padrão	Tratamento
ARC	42,72 A	$\pm 4,3$	Controle (Água destilada)
U100	12,98 B	$\pm 3,43$	
ARC/CHX	39,19 A	$\pm 9,62$	2% Clorexidina
U100/CHX	11,97 B	$\pm 2,6$	

*Médias seguidas de letras distintas na horizontal diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ).*

Os resultados obtidos por meio de microscopia eletrônica de varredura para avaliação dos padrões de falha complementam o teste de microtração ajudando a compreender as possíveis causas das falhas (Tabela 4). Desse modo, no grupo ARC, o modo de falha predominante foi adesiva na interface cimento-dentina. Comparando o grupo U100/CHX ao grupo U100, o modo de falha foi alterado de um padrão predominantemente coesivo em cimento, no

grupo U100, para um padrão predominantemente adesivo na interface cimento-dentina no grupo U100/CHX.

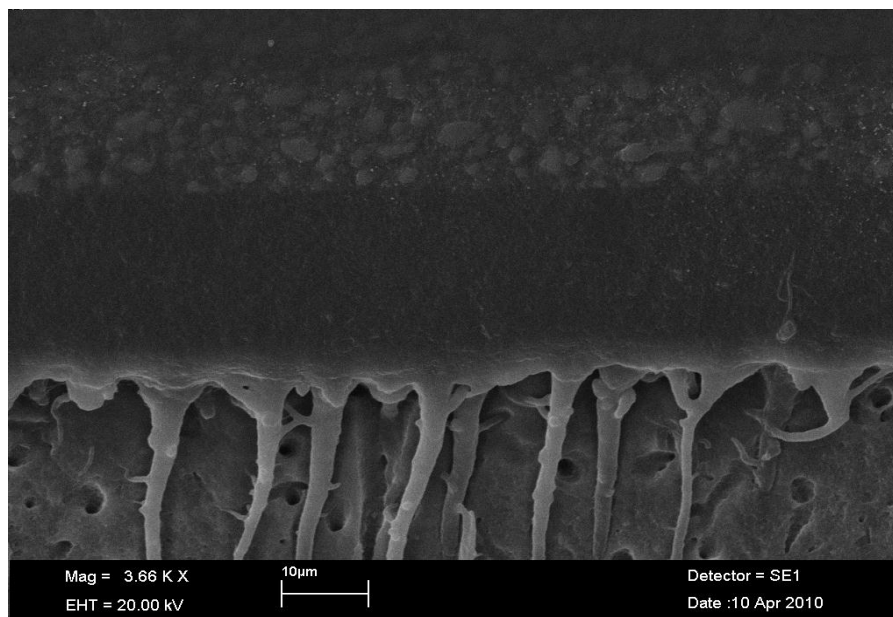
**Tabela 4.** Padrões de falha, em porcentagem.

Grupo		Padrão de falha (%)			
		Adesiva	Coesiva em Dentina	Coesiva em Cimento	Mista
Rely X ARC	Controle	82	5	7	6
	Clorexidina	87	3	9	1
Rely X U100	Controle	32	4	58	6
	Clorexidina	76	2	8	14

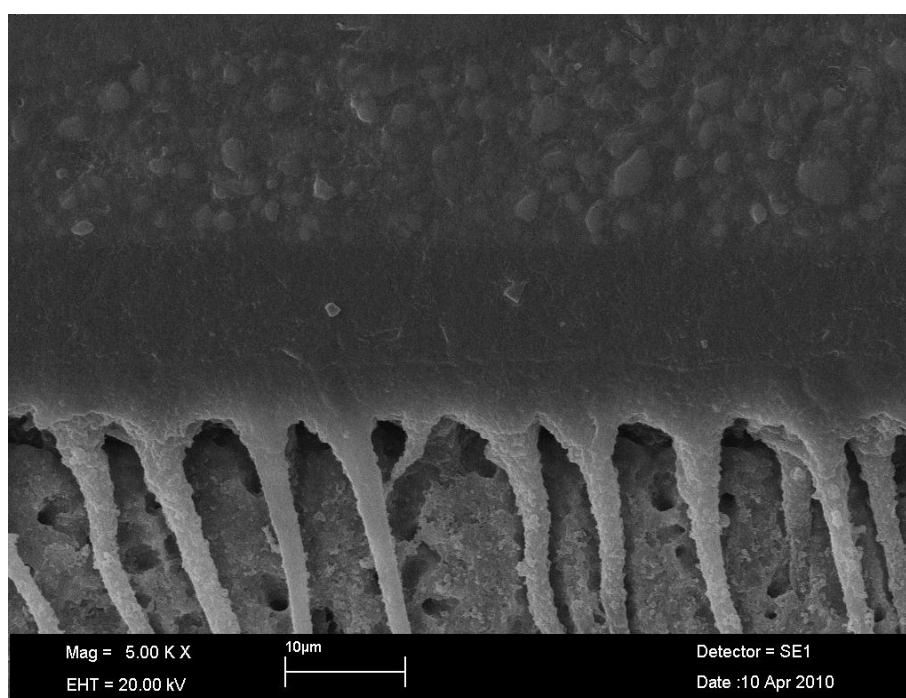
## 5.2 Morfologia da interface adesiva

As imagens obtidas por MEV em modo elétron secundário revelaram diferenças morfológicas na formação de camada híbrida de ambos os cimentos. Nos grupos ARC e ARC/CHX, foi observado a remoção completa do “*smear layer*” com formação de camadas híbridas bem estabelecidas independente do uso de clorexidina (Figuras 10 e 11). No grupo ARC, houve a formação de “*tags*” resinosos com superfícies lisas e homogêneas (Figuras 10); no entanto, foram observadas diferenças na textura superficial dos “*tags*” resinosos presentes no grupo ARC/CHX (Figura 11).

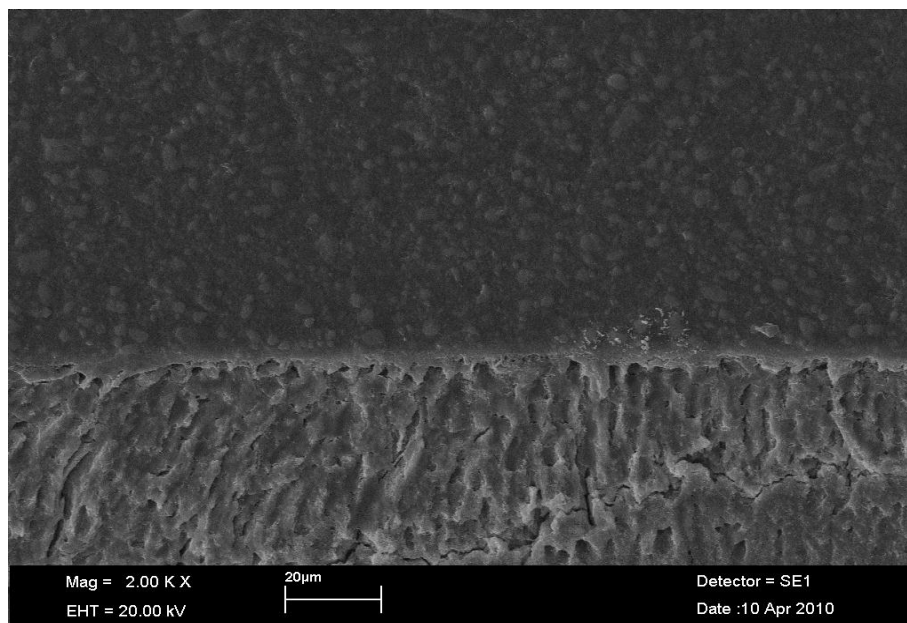
Nos grupos U100 e U100/CHX, o cimento resinoso autoadesivo interagiu apenas superficialmente com a dentina, sendo que a camada de “*smear layer*” não foi completamente dissolvida na maioria das amostras (Figuras 12 e 13); não foi observada a formação de “*tags*” resinosos bem estabelecidos e a formação de camadas híbridas extremamente delgadas foi observada em poucas amostras (Figura 12). No grupo U100/CHX, um grande número de espaços vazios, assemelhando-se a bolhas irregulares, foram verificados no filme cementário adjacente à dentina pré-tratada com clorexidina (Figura 13). O grupo U100/CHX obteve um grande número de falhas espontâneas certamente devido ao processamento e preparação das amostras para MEV. Esse aspecto não foi observado nos grupos ARC e ARC/CHX.



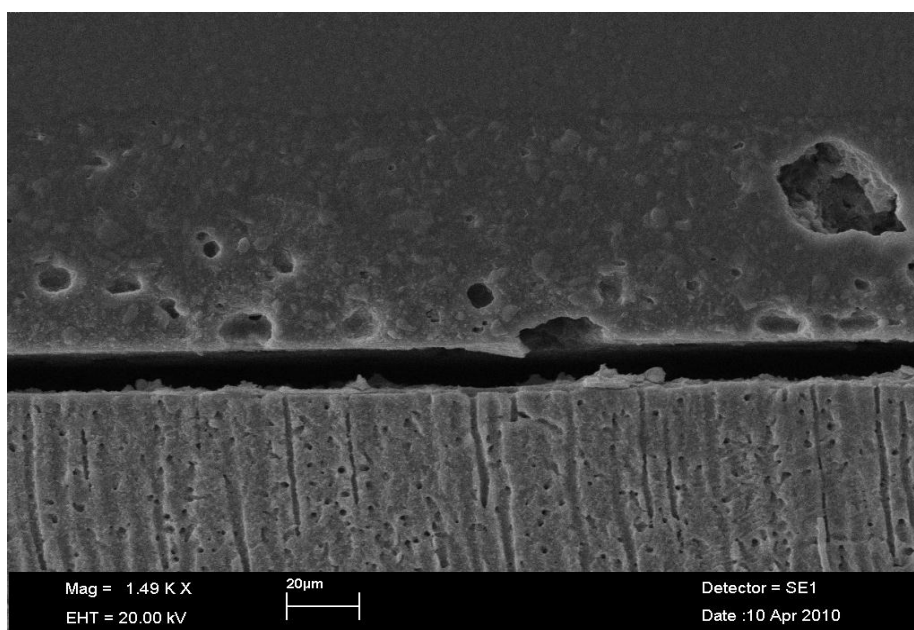
**Figura 10.** MEV representativa em modo elétron secundário da interface adesiva do grupo ARC, aumento 3.660X. Notar a presença de camada híbrida e a homogeneidade dos “tags” resinosos que apresentam superfícies lisas.



**Figura 11.** MEV representativa em modo elétron secundário da interface adesiva do grupo ARC/CHX, aumento 5.000X. Notar o aspecto granuloso na superfície dos “tags” resinosos.



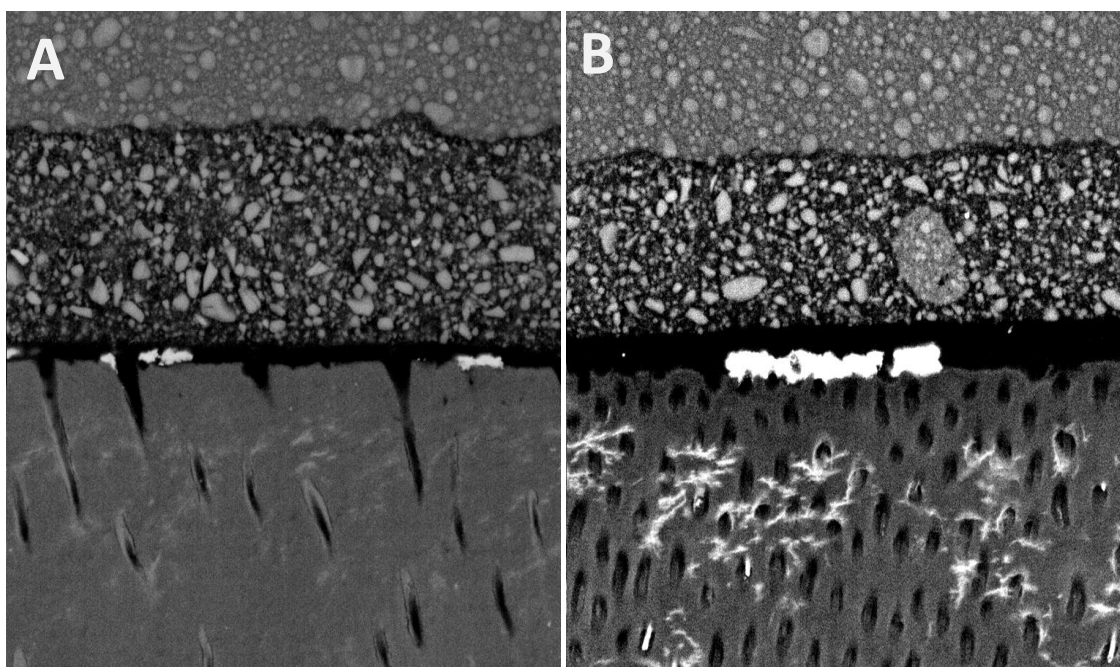
**Figura 12.** MEV representativa em modo elétron secundário da interface adesiva do grupo U100, aumento 2.000X. Notar a ausência de uma camada híbrida bem estabelecida assim como ausência de “tags” resinosos.



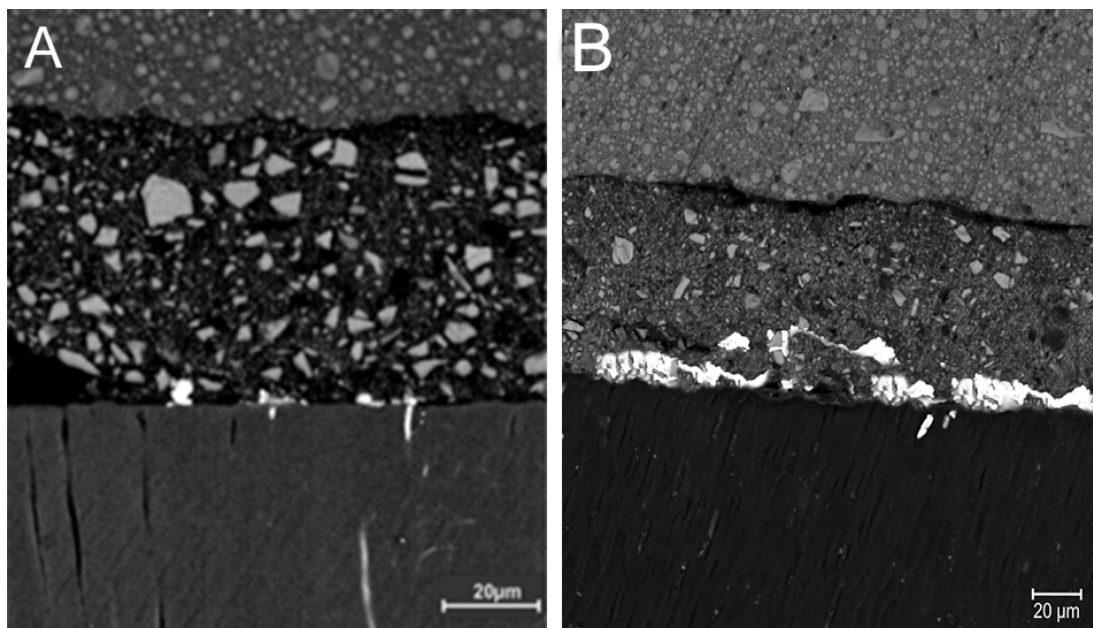
**Figura 13.** MEV representativa em modo elétron secundário da interface adesiva do grupo U100/CHX, aumento 1.490X. Notar a grande quantidade de espaços vazios próximos à dentina pré-tratada com clorexidina e a separação do cimento resinoso do substrato dentinário frequentemente observada nesse grupo.

### 5.3 Nanoinfiltração

Os cimentos resinosos testados apresentaram diferentes graus de nanoinfiltração quando analisados por MEV em modo elétron retroespalhado, infiltrados 24 horas após a cimentação. Depósitos moderados de prata foram observados na interface adesiva do grupo ARC (Figura 14 A) e em menor quantidade no grupo U100 (Figura 15 A). Nos grupos U100/CHX (Figura 15 B) e ARC/CHX (Figura 14 B) foi observado maior expressão de nanoinfiltração quando comparados aos respectivos grupos controles (Figura 15 A e 14 A) independente do cimento utilizado. .



**Figura 14.** MEV representativa em modo elétron retroespalhado, aumento 2.000X, para análise de nanoinfiltração da interface adesiva do grupo ARC (A) e do grupo ARC/CHX (B). Notar um aumento discreto expressão de nanoinfiltração no grupo ARC/CHX (B) em relação ao grupo ARC (A) A nanoinfiltração ocorre principalmente pelos túbulos dentinários não sendo observada na continuidade do filme cementário em ambos os grupos, além do mais, os depósitos de prata são encontrados na base da camada híbrida.



**Figura 15.** MEV representativa em modo elétron retroespalhado, aumento 2.000X, para análise de nanoinfiltração da interface adesiva do grupo U100 (A) e grupo U100/CHX (B). Notar um aumento na expressão de nanoinfiltração no grupo U100/CHX (B).



## **DISCUSSÃO**

---

## 6. DISCUSSÃO

A hipótese foi parcialmente rejeitada, pois a clorexidina não interferiu na resistência de união dentinária do cimento resinoso dual convencional e do cimento autoadesivo, no entanto, um grande aumento na expressão de nanoinfiltração foi observado quando a clorexidina foi utilizada em associação ao cimento resinoso autoadesivo. Levando em consideração que o digluconato de clorexidina 2% não influenciou significativamente a resistência de união dentinária imediata do cimento resinoso convencional, a indicação do seu uso para prevenção da degeneração dessas interfaces adesivas poderia ser indicada. Já a sua utilização com cimentos resinosos autoadesivos, mesmo não ocorrendo redução da resistência de união imediata, pode ser questionada em função do aumento considerável da expressão de nanoinfiltração associado à alterações morfológicas deletérias na interface adesiva. Além do mais, diferenças nos padrões de falha das interfaces adesivas do cimento autoadesivo foram verificadas quando a clorexidina foi utilizada; uma mudança de um padrão predominantemente misto no grupo U100 para um padrão adesivo em sua maioria no grupo U100/CHX sugere que a clorexidina pode interferir no mecanismo de união de ambos os cimentos resinosos, autoadesivo.

O mecanismo principal de união de materiais resinosos à dentina ocorre por um processo de substituição, que repõe minerais, dissolvidos pelo condicionamento ácido, por monômeros resinosos que ficam retidos micro-mecanicamente nas porosidades criadas após a sua polimerização (De Munck et al., 2005). O mecanismo de união de cimentos resinosos autoadesivos é diferente do método convencional, pois o condicionamento do substrato dental com ácido fosfórico antes da cimentação não é realizado. Esse procedimento adesivo de passo único está de acordo com a demanda clínica de simplificação dos procedimentos adesivos, no entanto, ao mesmo tempo em que a eliminação da etapa de condicionamento facilita a prática clínica diária, a descalcificação limitada do substrato gera uma maior dificuldade na infiltração dos monômeros resinosos no substrato dentinário (Monticelli et al., 2008).

Esses novos monômeros acídicos possuem um pH de 2,1 após a manipulação inicial do cimento resinoso (Monticelli et al., 2008), aumentando para um pH de 2,8, 90 segundos após ao término da sua manipulação, alcançando um pH de 5,0 após a fotoativação e finalmente possui um pH de 7,0 48 horas após sua manipulação (Han et al., 2007). Mesmo com valores de pH iniciais baixos, praticamente não é observada a desmineralização do substrato dentário após a polimerização do cimento resinoso autoadesivo (De Munck et al., 2004; Al-Assaf et al., 2007). Esse estudo está de acordo com outros estudos que utilizaram um cimento resinoso autoadesivo com a mesma composição, porém em uma versão “*automix*” (De Munck et al., 2004; Al-Assaf et al., 2007) em que não foi observado camadas híbridas bem estabelecidas mesmo com a realização de aplicação de pressão contínua como indicam vários autores (Goracci et al., 2006; Chieffi et al., 2007). A alta viscosidade relativa do cimento (Radovic et al., 2008) associada ao a sua baixa capacidade desmineralizadora (Al-Assaf et al., 2007), aumento do peso molecular durante a polimerização, o que reduz a mobilidade e difusão dos monômeros, certamente contribuíram para a baixa infiltração desse material resinoso no substrato dentinário. O cimento RelyX U100 possui duas vias de polimerização; um sistema dual de polimerização por redução da fase resinosa e a reação ácido-base que resulta na formação de fosfato de cálcio (Al-Assaf et al., 2007). Nesse mecanismo de união, os átomos de cálcio presentes na hidroxiapatita, agem como receptores de elétrons o que resulta na união química entre o material resinoso e o substrato dental (Gerth et al., 2006). Nesse contexto, o mecanismo de união do RelyX U100 age por meio de ligações químicas secundárias criadas pela quelação dos átomos de cálcio. Essas ligações não possuem alta energia de união e não são consideradas fortes como as ligações covalentes. Provavelmente devido a sua fraca união química e baixa infiltração no substrato dentinário, o que limita seu microembricamento mecânico, baixos valores de resistência de união foram obtidos nos grupos que utilizaram o cimento RelyX U100.

Além de suas propriedades antissépticas (Matthijs & Adriaens, 2002), o uso de clorexidina é eficiente na redução da degradação da interface adesiva

(Carrilho et al., 2007b; Breschi et al., 2010). Mesmo a formação de bolhas na interface adesiva ser frequentemente observada em procedimentos adesivos que utilizam materiais resinosos, um número substancial de espaços vazios foram verificados nos grupos cimentados com RelyX U100. Esse fenômeno foi intensificado quando esse cimento foi aplicado em dentina pré-tratada com clorexidina, especialmente no filme cementário adjacente à dentina. Esse padrão bem característico de bolhas pode sugerir áreas de incompatibilidade entre o cimento resinoso autoadesivo e a clorexidina. Uma explicação para esses defeitos no filme cementário pode ser pela propriedade quelante que ocorre entre a clorexidina e cátions. É possível que ocorra uma interação entre as moléculas de clorexidina e os remanescentes de apatita, presentes na “*smear layer*”, durante o processo de cura, interferindo com a união adequada dos monômeros ao substrato dental. Mais estudos são necessários para avaliar a interação entre a clorexidina e cimentos autoadesivos. Durante a preparação dos espécimes seguindo o protocolo de camada híbrida (Perdigão et al., 1995), o tratamento ácido para remoção mineral, que tem por objetivo a exposição dos “*tags*” resinosos, possivelmente dissolveu a dentina superficial, como já era esperado, assim como os remanescentes de clorexidina/grupos fosfatados presos no filme cementário adjacentes à dentina pré-tratada com clorexidina. Essa dissolução possivelmente aponta para a formação de zonas defeituosas no filme cementário durante a reação de polimerização do RelyX U100 associado à clorexidina, resultando na formação dos espaços vazios observados em MEV. É importante ressaltar que formação de bolhas em interfaces adesivas que utilizam materiais resinosos é um aspecto comum, no entanto o aumento na formação desses defeitos irregulares nos grupos cimentados com RelyX U100 em dentina pré-tratada com clorexidina foi extremamente acentuado.

Diferentemente dos grupos U100 e U100/CHX, camadas híbridas bem estabelecidas foram observadas nos grupos cimentados com o cimento resinoso RelyX ARC. O mecanismo de união do RelyX ARC, ao contrário do RelyX U100, envolve exclusivamente o embricamento micromecânico do sistema adesivo ao substrato dentinário. Para que isso aconteça, a remoção

completa da “*smear layer*” e de parte do conteúdo mineral da dentina abaixo dessa camada deve ser realizada. O condicionamento dentinário tem um papel importante em facilitar a infiltração de monômeros hidrofílicos na camada de fibrilas colágenas expostas e também na formação dos “*tags*” resinosos pela infiltração desses monômeros no interior de túbulos dentinários descalcificados. Esse mecanismo de união pode justificar os altos valores de resistência a microtração dentinária obtidos na utilização do cimento RelyX ARC o que está de acordo com outros estudos (Mak et al., 2002; Viotti et al., 2009). Foram observadas diferenças na textura de superfície entre os “*tags*” resinosos do grupo ARC e do grupo ARC/U100. Superfícies mais lisas foram observadas no grupo ARC enquanto que no grupo U100/CHX, que foi tratado com clorexidina, os espécimes apresentaram “*tags*” resinosos não homogêneos com superfícies de aspecto granuloso. Essa diferença na morfologia de superfície dos “*tags*” resinosos pode ter ocorrido devido às propriedades anfipáticas da clorexidina o que possivelmente afetou a infiltração dos monômeros resinosos nas áreas desmineralizadas tratadas com clorexidina. Outra explicação para tal fato pode ser que similarmente ao que já foi descrito em relação às propriedades quelantes da clorexidina aos cátions presentes no substrato dentinário, pode ter ocorrido uma interação entre os remanescentes de sais de cálcio deixados pelo condicionamento ácido o que possivelmente afetou a textura de superfície. Essas alterações superficiais discretas observadas nos “*tags*” resinosos sugerem que a clorexidina tem pouca influência no processo de união do sistema adesivo “*total-etch*” utilizado; ao contrário do que ocorreu na sua utilização associada ao cimento resinoso RelyX U100, onde foram observadas alterações mais substanciais. Tais fatos provavelmente contribuíram para as diferenças na expressão de nanoinfiltração observadas nos grupos experimentais, onde foi observado um aumento quando comparados aos seus respectivos grupos controles.

A nanoinfiltração pode ocorrer entre a camada híbrida e dentina, mesmo quando não são observadas fendas nessa interface (Sano et al., 1994) o que pode contribuir para sua maior velocidade de degeneração com o passar do tempo (Okuda et al., 2001; Okuda et al., 2002). A solução de nitrato de prata

tem sido comumente utilizada para detecção de defeitos nanométricos em interfaces adesivas de sistemas adesivos (Tay et al., 2002; Tay et al., 2003). A sorção de água nesses espaços nanométricos torna a interface adesiva mais susceptível à degradação hidrolítica e mais vulnerável a enzimas e subprodutos bacterianos (Paul et al., 1999). Além do mais, moléculas de água que permeiam no polímero por sorção pode hidrolisar as ligações covalentes entre os polímeros resinosos com o passar do tempo (Soderholm & Roberts, 1990; Göpferich, 1996) o que resulta em perda de massa, separação das partículas de carga e aumento da redução das propriedades mecânicas do polímero (Soderholm & Roberts, 1990; Göpferich, 1996). Os produtos resultantes dessa decomposição química e monômeros residuais podem ser arrastados para fora da interface adesiva e permitir uma maior entrada de uma maior quantidade de água diminuindo ainda mais as propriedades mecânicas da interface (De Munck et al., 2005). Por esse motivo, polímeros hidrófobos com adequado selamento dentinário devem ser utilizados para que ocorra a formação de interfaces adesivas menos susceptíveis à degradação hidrolítica e consequentemente para que ocorra a redução na formação de canais condutores de água através de interface de união.

A sorção de água pela interface resina-dentina é um processo não uniforme que precede a degradação hidrolítica dessa interface (Tay et al., 2003). A análise de nanoinfiltração pode ser realizada pela avaliação da quantidade de depósitos de prata presente na interface adesiva, que representa áreas de maior permeabilidade na matriz resinosa, pois o nitrato de prata amoniacal tem o potencial de rastrear nano áreas preenchidas por água (Tay et al., 2003). Existe a hipótese de que a infiltração desse rastreador representa lacunas em potencial na camada híbrida ou na dentina desmineralizada que não foram completamente infiltradas por monômeros resinosos (Sano et al., 1995). Essas lacunas são tão pequenas que bactérias podem não ser capazes de entrar (De Munck et al., 2005), no entanto, esses canais repletos de água podem ser áreas em potencial para a ocorrência de degeneração hidrolítica da interface adesiva (Tay et al., 2003). Nesse estudo, depósitos de prata foram localizados predominantemente no lado

correspondente à dentina dos palitos infiltrados e fraturados que apresentaram falha adesiva, o que evidenciou defeitos na interface adesiva dos grupos ARC e ARC/CHX. Depósitos de prata mais pronunciados foram observados na dentina pré-tratada com clorexidina. A interação entre a clorexidina com o cimento resinoso autoadesivo possivelmente contribuiu para o aumento de depósitos de prata nas interfaces adesivas. Esse alto grau de nanoinfiltração pode estar associado às zonas defeituosas, observadas nos espécimes que foram avaliados para a morfologia da camada híbrida. Tais áreas podem permitir que depósitos de prata se formem com maior facilidade no substrato dentinário imprópriamente selado próximos às áreas defeituosas. Claramente, mais estudos são necessários para verificar a relação entre o uso da clorexidina com cimentos resinosos autoadesivos e a nanoinfiltração com o passar do tempo e também, a possível interação química entre esses cimentos e a clorexidina no substrato dentinário.

A ocorrência de nanoinfiltração nas interfaces adesivas é comumente observada na utilização de sistemas adesivos *“total-etch”* (Tay et al., 2003) devido a existência de espaços nanométricos na base das camadas híbridas onde se observa uma discrepância na profundidade de desmineralização e na difusão dos monômeros na dentina desmineralizada (Spencer & Swafford, 1999; Pioch et al., 2001). Embora a baixa ação desmineralizante no substrato dentinário (Al-Assaf et al., 2007), assim como a infiltração e desmineralização simultânea na dentina, o que teoricamente evitaria a formação de um substrato indevidamente infiltrado abaixo da interface adesiva, nanoinfiltração foi observada quando o cimento RelyX U100 foi utilizado. Mesmo com a aplicação de carga constante durante a cimentação, a alta viscosidade relativa desse cimento resinoso (De Munck et al., 2004) e ação neutralizante exercida pela componentes tampões presentes na *“smear layer”* (Reis et al., 2005) podem ter contribuído para a baixa difusão e infiltração dos monômeros acídicos na dentina (Monticelli et al., 2008). O conceito de se utilizar a *“smear layer”* como substrato de união (Reis et al., 2005) pode gerar dúvidas devido a sua possível dissolução com o passar do tempo, o que em troca, resultaria em condições desfavoráveis para a interface de união. Em adição, a presença dessas áreas

vazias pode também diminuir a estabilidade da resistência mecânica com o passar do tempo por dois mecanismos principais: 1) esses defeitos podem agir como regiões de concentração de tensões e; 2) a frágil área lacunar abaixo interface adesiva pode concentrar e conseqüentemente propagar tensões quando submetidas a carregamentos mecânicos, causando a ruptura da interface adesiva.

O emprego da clorexidina como pré-tratamento dentinário juntamente a cimentos resinosos autoadesivos deve ser questionado. Esse estudo sugere que esse protocolo adesivo não deve ser preconizado em função do aumento da expressão de nanoinfiltração e a formação de zonas defeituosas na interface adesiva, causados pela possível interação química entre clorexidina e o cimento autoadesivo. Essa interação poderia intensificar a degradação hidrolítica da interface adesiva com passar do tempo comprometendo o desempenho clínico dos cimentos autoadesivos, mesmo não sendo detectada uma redução significativa da resistência de união dentinária imediata desse cimento. Assim, o uso de clorexidina com cimentos resinosos autoadesivos não deve ser indicado devido às alterações indesejáveis criadas na interface adesiva o que pode comprometer a estabilidade de união entre o cimento resinoso e o substrato dentinário com o passar do tempo. Já os cimentos convencionais poderiam usufruir da capacidade de inibição de metaloproteinases da clorexidina, uma vez que o uso da clorexidina não interferiu na morfologia e resistência de união imediata do cimento convencional testado. No entanto estudos de longo prazo e clínicos são necessários para verificar a eficiência da clorexidina na preservação da resistência de união e da interface adesiva de cimentos resinosos convencionais.



## **CONCLUSÃO**

---

## 7. CONCLUSÃO

Dentro das limitações das metodologias utilizadas e após a análise dos dados obtidos pode-se concluir que o pré-tratamento dentinário com 2% digluconato de clorexidina:

- 1- não influencia a resistência de união imediata de ambos os cimentos resinosos convencional e autoadesivo testados;
- 2- aumenta consideravelmente a expressão de nanoinfiltração imediata no cimento resinoso autoadesivo testado e discretamente no cimento resino convencional testado;
- 3- pode provocar alterações morfológicas deletérias na interface adesiva de cimentos resinosos autoadesivos.

## **REFERÊNCIAS**

---

## 8. REFERÊNCIAS

1. Al-Assaf K, Chakmakchi M, Palaghias G, Karanika-Kouma A, Eliades G. Interfacial characteristics of adhesive luting resins and composites with dentine. **Dent Mater.** 2007;23(7):829-39.
2. Brackett WW, Tay FR, Brackett MG, Dib A, Sword RJ, Pashley DH. The effect of chlorhexidine on dentin hybrid layers in vivo. **Oper Dent.** 2007;32(2):107-11.
3. Breschi L, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Visintini E, Tjaderhane L, et al. Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: a 2-year in vitro study. **Dent Mater.** 2010;26(4):320-5.
4. Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. **Dent Mater.** 2008;24(1):90-101.
5. Brunzel S, Yang B, Wolfart S, Kern M. Tensile Bond Strength of a so-called self-adhesive luting resin cement to dentin. **J Adhes Dent.** 2010;12(2):143-50.
6. Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. **J Dent Res.** 1955;34(6):849-53.
7. Carrilho MR, Carvalho RM, de Goes MF, di Hipolito V, Geraldeli S, Tay FR, et al. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. **J Dent Res.** 2007a;86(1):90-4.
8. Carrilho MR, Geraldeli S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjaderhane L, et al. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. **J Dent Res.** 2007b;86(6):529-33.
9. Chieffi N, Chersoni S, Papacchini F, Vano M, Goracci C, Davidson CL, et al. The effect of application sustained seating pressure on adhesive luting procedure. **Dent Mater.** 2007;23(2):159-64.
10. de Munck J, Van den Steen PE, Mine A, Van Landuyt K, Poitevin A, Opdenakker G, et al. Inhibition of enzymatic degradation of Adhesive-Dentin Interfaces. **J Dent Res.** 2009;88(12):1101-6.
11. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, et al. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. **J Dent Res.** 2005;84(2):118-32.
12. De Munck J, Vargas M, Van Landuyt K, Hikita K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Bonding of an auto-adhesive luting material to enamel and dentin. **Dent Mater.** 2004;20(10):963-71.

13. Garcia-Godoy F, Tay F, Pashley D, Feilzer A, Tjaderhane L, Pashley EL. Degradation of resin-bonded human dentine after 3 years of storage. **Am J Dent.** 2006;20(2):109-13.
14. Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine. **Clin Diagn Lab Immunol.** 1999;6(3):437-9.
15. Gerth HU, Dammaschke T, Zuchner H, Schafer E. Chemical analysis and bonding reaction of RelyX Unicem and Bifix composites--a comparative study. **Dent Mater.** 2006;22(10):934-41.
16. Göpferich A. Mechanisms of polymer degradation and erosion. **Biomaterials.** 1996;17(10):3-8.
17. Goracci C, Cury AH, Cantoro A, Papacchini F, Tay FR, Ferrari M. Microtensile bond strength and interfacial properties of self-etching and self-adhesive resin cements used to lute composite onlays under different seating forces. **J Adhes Dent.** 2006;8(5):327-35.
18. Gurgan S, Bolay S, Kiremitci A. Effect of disinfectant application methods on the bond strength of composite to dentin. **J Oral Rehabil.** 1999;26(10):836-40.
19. Han L, Okamoto A, Fukushima M, Okiji T. Evaluation of physical properties and surface degradation of self-adhesive resin cements. **Dent Mater J.** 2007;26(6):906-14.
20. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. **J Dent Res.** 2000;79(6):1385-91.
21. Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H. In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. **Biomaterials.** 2003;24(21):3795-803.
22. Hebling J, Pashley DH, Tjaderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. **J Dent Res.** 2005;84(8):741-6.
23. Hikita K, Van Meerbeek B, De Munck J, Ikeda T, Van Landuyt K, Maida T, et al. Bonding effectiveness of adhesive luting agents to enamel and dentin. **Dent Mater.** 2007;23(1):71-80.
24. Komori PC, Pashley DH, Tjaderhane L, Breschi L, Mazzoni A, de Goes MF, et al. Effect of 2% chlorhexidine digluconate on the bond strength to normal versus caries-affected dentin. **Oper Dent.** 2009;34(2):157-65.

25. Lehmann N, Debret R, Romeas A, Magloire H, Degrange M, Bleicher F, et al. Self-etching increases matrix metalloproteinase expression in the dentin-pulp complex. **J Dent Res.** 2009;88(1):77-82.
26. Magloire H, Lesage F, Couble ML, Lazdunski M, Bleicher F. Expression and localization of TREK-1 K<sup>+</sup> channels in human odontoblasts. **J Dent Res.** 2003;82(7):542-5.
27. Mak YF, Lai SC, Cheung GS, Chan AW, Tay FR, Pashley DH. Micro-tensile bond testing of resin cements to dentin and an indirect resin composite. **Dent Mater.** 2002;18(8):609-21.
28. Matthijs S, Adriaens PA. Chlorhexidine varnishes: a review. **J Clin Periodontol.** 2002;29(1):1-8.
29. Meiers JC, Kresin JC. Cavity disinfectants and dentin bonding. **Oper Dent.** 1996;21(4):153-9.
30. Mjor IA, Gordan VV. Failure, repair, refurbishing and longevity of restorations. **Oper Dent.** 2002;27(5):528-34.
31. Monticelli F, Osorio R, Mazzitelli C, Ferrari M, Toledano M. Limited decalcification/diffusion of self-adhesive cements into dentin. **J Dent Res.** 2008;87(10):974-9.
32. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. **J Biomed Mater Res.** 1982;16(3):265-73.
33. Okuda M, Pereira PN, Nakajima M, Tagami J. Relationship between nanoleakage and long-term durability of dentin bonds. **Oper Dent.** 2001;26(5):482-90.
34. Okuda M, Pereira PN, Nakajima M, Tagami J, Pashley DH. Long-term durability of resin dentin interface: nanoleakage vs. microtensile bond strength. **Oper Dent.** 2002;27(3):289-96.
35. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. **J Dent Res.** 2004;83(3):216-21.
36. Paul SJ, Welter DA, Ghazi M, Pashley D. Nanoleakage at the dentin adhesive interface vs microtensile bond strength. **Oper Dent.** 1999;24(3):181-8.
37. Perdigao 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(9):1111-20.

38. Pioch T, Staehle HJ, Duschner H, Garcia-Godoy F. Nanoleakage at the composite-dentin interface: a review. **Am J Dent.** 2001;14(4):252-8.
39. Radovic I, Monticelli F, Goracci C, Vulicevic ZR, Ferrari M. Self-adhesive resin cements: a literature review. **J Adhes Dent.** 2008;10(4):251-8.
40. Reis A, Grandi V, Carlotto L, Bortoli G, Patzlaff R, Rodrigues Accorinte Mde L, et al. Effect of smear layer thickness and acidity of self-etching solutions on early and long-term bond strength to dentin. **J Dent.** 2005;33(7):549-59.
41. Sano H, Shono T, Takatsu T, Hosoda H. Microporous dentin zone beneath resin-impregnated layer. **Oper Dent.** 1994;19(2):59-64.
42. Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. **Oper Dent.** 1995;20(1):18-25.
43. Soares CJ, Pereira CA, Pereira JC, Santana FR, do Prado CJ. Effect of chlorhexidine application on microtensile bond strength to dentin. **Oper Dent.** 2008;33(2):183-8.
44. Sobral MA, Garone-Netto N, Luz MA, Santos AP. Prevention of postoperative tooth sensitivity: a preliminary clinical trial. **J Oral Rehabil.** 2005;32(9):661-8.
45. Soderholm KJ, Roberts MJ. Influence of water exposure on the tensile strength of composites. **J Dent Res.** 1990;69(12):1812-6.
46. Spencer P, Swafford JR. Unprotected protein at the dentin-adhesive interface. **Quintessence Int.** 1999;30(7):501-7.
47. Tay FR, Hashimoto M, Pashley DH, Peters MC, Lai SC, Yiu CK, et al. Aging affects two modes of nanoleakage expression in bonded dentin. **J Dent Res.** 2003;82(7):537-41.
48. Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M. Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. **J Dent Res.** 2002;81(7):472-6.
49. Tulunoglu O, Ayhan H, Olmez A, Bodur H. The effect of cavity disinfectants on microleakage in dentin bonding systems. **J Clin Pediatr Dent.** 1998;22(4):299-305.
50. Viotti RG, Kasaz A, Pena CE, Alexandre RS, Arrais CA, Reis AF. Microtensile bond strength of new self-adhesive luting agents and conventional multistep systems. **J Prosthet Dent.** 2009;102(5):306-12.
51. Vrochari AD, Eliades G, Hellwig E, Wrbas KT. Water Sorption and solubility of four self-etching, self-adhesive resin luting agents. **J Adhes Dent.** 2010;12(1):39-43.