

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA – MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: DENTÍSTICA RESTAURADORA**

VIVIANE HASS

**EFEITO DA FOTOATIVAÇÃO PROLONGADA DE ADESIVOS
AUTOCONDICIONANTES NA ADESÃO À DENTINA**

**PONTA GROSSA
2012**

VIVIANE HASS

**EFEITO DA FOTOATIVAÇÃO PROLONGADA DE ADESIVOS
AUTOCONDICIONANTES NA ADESÃO À DENTINA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, no curso de Mestrado em Odontologia – Área de concentração em Dentística Restauradora.

Orientadora Profa. Dra. Alessandra Reis.

**PONTA GROSSA
2012**

Ficha catalográfica elaborada pelo Setor Tratamento da Informação BICEN/UEPG

H353e Hass, Viviane
Efeito da fotoativação prolongada de adesivos autocondicionantes simplificados na adesão à dentina / Viviane Hass. Ponta Grossa, 2012.
78f.
Dissertação (Mestrado em Odontologia – área de concentração : Dentística Restauradora), Universidade Estadual de Ponta Grossa.
Orientadora : Profª Drª Alessandra Reis

1. Adesivos Dentinários. 2. Resistência à Tração.
3. Polimerização. 4. Análise Espectral Raman. I. Reis, Alessandra.
II.T.

CDD : 617.6

VIVIANE HASS

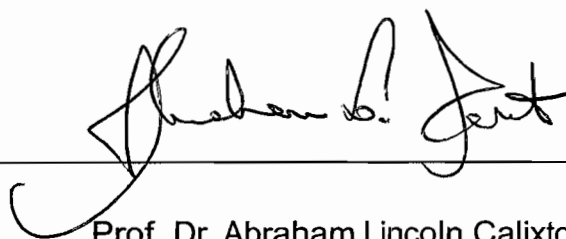
**EFEITO DA FOTOATIVAÇÃO PROLONGADA DE ADESIVOS
AUTOCONDICIONANTES SIMPLIFICADOS NA ADESÃO À DENTINA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, no curso de Mestrado em Odontologia – Área de concentração em Dentística Restauradora.

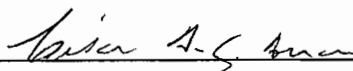
Ponta Grossa, 24 de fevereiro de 2012.



Profa. Dra. Alessandra Reis
Universidade Estadual de Ponta Grossa



Prof. Dr. Abraham Lincoln Calixto
Universidade Estadual de Ponta Grossa



Prof. Dr. César Augusto Galvão Arrais
Universidade de Guarulhos

Dedico este trabalho:

Aos meus queridos pais Laudemiro e Neusa, que merecem reconhecimento especial em gratidão pelo apoio e força inabalável, sem vocês não chegaria até aqui.

É pensando em vocês que luto a cada dia.

Agradecimentos Especiais

A Deus, por guiar minha trajetória, me amar incondicionalmente e abrir tantas portas em meu caminho!

Aos meus pais Neusa e Laudemiro por me conceberem o dom de viver, me ensinarem o sabor da conquista com a mais pura honestidade.

Aos professores **Alessandro Dourado Loguercio** e **Alessandra Reis**, da Área de Dentística Restauradora, Departamento de Odontologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, por confiarem em minha pessoa, me darem a oportunidade de iniciar minha vida científica proporcionando tantos ensinamentos com muita sabedoria e caráter, me ensinar a enxergar alto e sempre reconhecendo meu esforço e trabalho. Na vida sempre há grandes pessoas a quem buscamos nos espelhar para vencer as dificuldades, com essas pessoas podemos nos identificar seja pelo seu caráter, modo de trabalho, ideais, força...Com certeza essas duas pessoas fizeram diferença em minha vida e são os grandes inspiradores para o caminho que busco.

Aos professores João Carlos Gomes e Osnara Maria Mongruel Gomes, que trabalham arduamente a cada dia para o crescimento da nossa universidade e também são exemplo de trabalho, força, determinação e humildade para minha pessoa.

A minha família por ser tudo que tenho e o ombro que posso contar em todas as horas....A minha madrinha Ivone, pelo amor e confiança nas minhas empreitadas.

Agradecimentos

A Universidade Estadual de Ponta Grossa, na pessoa do Magnífico reitor João Carlos Gomes.

A todos os professores Programa de Pós-Graduação da Universidade Estadual de Ponta Grossa e da Graduação - em especial professora Vanessa Urban por contribuir na minha qualificação e professor Edison do Rocio Meister por me confiar o magistério de diversas aulas para a Graduação.

Aos técnicos laboratoriais Nilson Biagini Sabino, Milton Michel e Luzia, pela paciência e dedicação.

Aos funcionários da Universidade especialmente Hamilton (Snoop), Cida, Morgana e Janaína.

Aos colegas e amigos da Pós-Graduação Alessandra, Ana Cristina, Andrés Felipe, Antonio, Bruna Benso, Bruna Bittencourt, Caroline, Elize, Fabiane, Felipe, Issis, John, Letícia, Lucas, Luiza, Marcinha, Max, Reila, Rosana, Thays, Wagner, Lucho, Miguel, Giovana, Yelíng, Alexsandra...por todos os momentos que de alguma forma ensinaram muita coisa em minha vida.

Aos meus grandes amigos Issis, Max e Thays que me proporcionaram alegres momentos dos quais lembrarei por toda a vida.

A todos que indiretamente contribuíram para realização deste trabalho.

Na vida sempre encontraremos pedras;
Cabe a nós fazermos delas muros ou pontes!
(autor desconhecido)

DADOS CURRICULARES

Viviane Hass

NASCIMENTO 14.11.1985 Ponta Grossa – Paraná

FILIAÇÃO Neusa Aparecida de Oliveira Hass
Laudemiro Hass

2000 – 2005 Curso de Graduação em Odontologia
Universidade Estadual de Ponta Grossa
(UEPG)
Ponta Grossa – PR, Brasil.

2010 - 2012 Curso de Pós-Graduação em Odontologia
Universidade Estadual de Ponta Grossa
(UEPG), nível de Mestrado em
Odontologia – Área de Concentração em
Dentística Restauradora
Ponta Grossa – PR, Brasil.

2011 Curso de Aperfeiçoamento em Endodontia
em molares. Escola de Aperfeiçoamento
Profissional. Associação Brasileira de
Odontologia – Regional de Ponta Grossa
Ponta Grossa – PR, Brasil.

HASS V. Efeito da fotoativação prolongada de adesivos autocondicionantes simplificados na adesão à dentina. [Dissertação de Mestrado em Dentística Restauradora]. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa; 2012.

RESUMO

Este estudo avaliou o efeito da fotoativação prolongada em tempo imediato (IM) e após 6 meses de armazenamento em água (6M) nas propriedades adesivas: grau de conversão no interior da camada híbrida (GC), nanoinfiltração (NI) e na resistência de união (RU) à dentina de três sistemas adesivos autocondicionantes simplificados (AdperEasyOne [EO], Clearfil S3 Bond [CS3] e Go [GO]). As superfícies dentinárias de 90 molares humanos foram expostas e os adesivos aplicados conforme recomendações dos fabricantes, porém a fotoativação realizada nos tempos 10, 20 e 40 s a 600 mW/cm² depois restaurados com resina composta. Para RU e NI, os dentes restaurados foram seccionados para obtenção de corpos-de-prova (cps) na forma de “palitos” (0,8 mm²) e testados por microtração a 0,5 mm/min. Dois cps de cada dente em cada condição experimental foram analisados por microscopia eletrônica de varredura. Para análise do GC, foram realizadas secções longitudinais em cada dente para obtenção de cps em formato de fatias e análise em espectroscopia micro-Raman. Os dados de RU, NI e GC de cada adesivo foram analisados por ANOVA de 3 fatores de medidas repetidas (adesivo vs. tempo de ativação vs. tempo de armazenagem) e teste de Tukey ($\alpha = 0,05$). A fotoativação prolongada aumentou o GC(%) [10s- 67,3±19,5; 20s- 84,6 ± 12,3e 40s- 82,9 ± 13,1] para todos os adesivos e diminuiu a NI [10s- 24,8 ± 13,2; 20s- 13,3 ± 7,5e 40s- 13,5 ± 9,3] significativamente para todos os adesivos; contudo melhora significativa na RU (MPa) [10s- 17,3 ± 3,7; 20s- 31,9 ± 4,9e 40s-25,0 ± 3,7] e estabilidade da adesão após 6 meses de armazenamento em água [IM- 25,2±7,3; 6M- 24,2 ± 7,2] foi observado somente para CS3. EO [IM- 35,9 ± 4,7; 6M- 28,0 ± 6,0] e GO [IM- 25,6 ± 5,0; 6M- 14,3 ± 3,7] reduziram os valores de RU após 6 meses. A fotoativação prolongada aumentou o GC dentro da camada híbrida e diminuiu a NI para todos os adesivos, porém não preveniu a degradação da interface adesiva.

Palavras-chave: Adesivos Dentinários, Resistência à Tração, Polimerização, Análise Espectral Raman.

HASS V. Effect of prolonged exposure time of one-step self-etching in dentin-bonding.[Dissertação de Mestrado em Dentística Restauradora]. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa; 2012.

ABSTRACT

This study evaluated the effect of prolonged exposure times on immediate (IM) and 6-month (6M) adhesive properties: degree of conversion within hybrid layer (DC), silver nitrate uptake (SNU) and resin-dentin bond strength (μ TBS) for three one-step self-etch adhesive systems (Adper Easy Bond [EB], Clearfil S3 Bond [CS3] and Go [GO]). Ninety caries-free extracted molars were included in this study being 45 for μ TBS and SNU (n=5) and 45 for DC (n=5). The dentin surfaces were bonded according to the manufacturer's instructions, but they were light-cured for 10, 20, and 40 s at 600mW/cm². Bonded teeth for the μ TBS test were sectioned in order to obtain stick-like specimens (0.8mm²) and tested under tensile stress (0.5mm/min). Two bonded sticks from each tooth were analyzed by scanning electron microscopy for SNU. The DC within the hybrid layer were evaluated with micro-Raman spectroscopy. All tests were performed IM and at 6M. Data were analyzed by a three-way repeated measures ANOVA and Tukey's test (alpha=0.05). The prolonged exposure times increased the DC (%) [10s- 67.3 \pm 19.5; 20s- 84.6 \pm 12.3 e 40s- 82.9 \pm 13.1] for all adhesives and decreased the SNU (%) [10s- 24.8 \pm 13.2; 20s- 13.3 \pm 7.5 e 40s- 13.5 \pm 9.3] significantly for all adhesives; however significant improvements in the μ TBS (MPa) [10s- 17.3 \pm 3.7; 20s- 31.9 \pm 4.9 e 40s- 25.0 \pm 3.7] and stable bond strengths after water storage [IM- 25.2 \pm 7.3; 6M- 24.2 \pm 7.2] were observed only for CS3. EB [IM- 35.9 \pm 4.7; 6M- 28.0 \pm 6.0] and GO [IM- 25.6 \pm 5.0; 6M- 14,3 \pm 3,7] decreased the μ TBS after 6 months. The prolonged exposure times improved the DC within the hybrid layer and reduced the SNU for all adhesives, however this did not prevent the degradation of the adhesive interface.

Key words: Dentin-Bonding Agents, Tensile Strength, Polymerization, Raman Spectrum Analysis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	- Preparo dos dentes.....	37
Figura 2	- Procedimento adesivo.....	40
Figura 3	- Procedimento restaurador.....	40
Figura 4	- Preparo dos corpos-de-prova para o teste de RU e NI.....	41
Figura 5	- Preparo dos corpos-de-prova para o teste de GC.....	42
Figura 6	-Armazenamento dos corpos-de-prova e teste de microtração.....	44
Figura 7	-Preparo e análise por MEV.....	46
Figura 8	- Análise do grau de conversão.....	48
Figura9	- Espectros representativos obtidos dos sistemas adesivos não polimerizados e fotoativados na camada híbrida <i>in situ</i> em tempo imediato.....	57
Figura10	- Espectros representativos obtidos dos sistemas adesivos não polimerizados e fotoativados por 20 s na camada híbrida <i>in situ</i> em tempo imediato e após 6 meses de armazenamento.....	58
Quadro1	- Sistemas adesivos (número do lote), composição, modo de aplicação e tempo de fotoativação.....	39
Quadro2	- Fotomicrografias representativas das imagens obtidas por MEV (1200X) do sistema EO para cada condição experimental.....	52
Quadro3	- Fotomicrografias representativas das imagens obtidas por MEV	

(1200X) do sistema CS3 para cada condição experimental..... 53

Quadro4 - Fotomicrografias representativas das imagens obtidas por MEV (1200X) do sistema GO para cada condição experimental..... 54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Número e porcentagem de espécimes (%) de acordo com o modo de fratura e perda prematura dos espécimes para cada condição experimental.....	50
Tabela 2	- Médias e desvios padrões (MPa) dos valores de resistência de união para cada condição experimental.....	51
Tabela 3	- Médias e desvios padrões (MPa) dos valores de RU para as condições experimentais resultantes da combinação dos fatores Adesivo vs. Tempo de armazenamento.....	51
Tabela 4	- Médias e desvios padrões (MPa) dos valores de RU para as condições experimentais resultantes da combinação dos fatores principais Adesivo vs. Tempo de fotoativação.....	51
Tabela 5	- Médias e respectivos desvios padrões (%) dos valores de nanoinfiltração obtidos em cada condição experimental.....	55
Tabela 6	- Médias e desvios padrões dos valores de NI (%) para a combinação dos fatores principais Adesivo vs. Tempo de armazenamento.....	56
Tabela 7	- Médias e respectivos desvios padrões do GC (%) para cada condição experimental e para os fatores principais Tempo de exposição e Adesivo.....	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μm	- Micrometro
6M	- 6 meses
A/M	- Adesiva/mista
Bis-GMA	- Bisfenolglicidil metacrilato
C	- Coesiva
Ca^{2+}	- Íons Cálcio
CA	- Camada adesiva
CG	- Grau de conversão
cm	- Centímetro
cm^2	- Centímetro quadrado
COEP	- Comissão de Ética em Pesquisa
cp	- Corpo(s)-de-prova
CS	- Clearfil S ³
D	- Dentina
EO	- AdperEasyOne
GO	- Go!
h	- Horas
HEMA	- Hidroxietil metacrilato
I reat	- Integral do pico reativo
I ref	- Integral do pico de referência
IM	- Imediato
Kv	- Quilovolt

L	- Litro
LEDs	- Diodos emissores de luz
MDP	- Metacrilóiloxidecildihidrogenfosfato
MEV	- Microscopia eletrônica de varredura
min	- Minuto
mm	- Milímetro
mm ²	- Milímetro quadrado
mmHg	- Milímetro de mercúrio
MPa	- Mega Pascal
MMPs	- Metaloproteinasesdentinárias
mW/cm ²	- MiliWatts por centímetro quadrado
NI	- Nanoinfusão em nitrato de prata
nm	- Nanômetro
Nº	- Número
np	- Não polimerizado
p	- Polimerizado
PD	- Perdido prematuramente
pH	- PotencialHidrogeniônico
rpm	- Rotações por minuto
RC	- Resina Composta
RU	- Resistência de união
s	- Segundos
TEGDMA	- Trietilenoglicol metacrilato
TPO	- 2,4,6-trimetilbenzoil difenil óxido de fosfina
UEPG	- Universidade Estadual de Ponta Grossa

Vs.

- Versus

Zn²⁺

- Íons Zinco

LISTA DE SÍMBOLOS

#	- Número
%	- Porcentagem
=	- Igual
>	- Maior
±	- Mais ou menos
≈	- Aproximadamente
°C	- Grau Celsius
C=C	- Duplas ligações carbônicas
X	- Número de vezes
α	- Alfa (valor de significância)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1 Adesão: uma revolução na Odontologia Restauradora	22
2.2 Sistemas adesivos e desafios da adesão	23
2.3 Degradação da interface adesiva e fenômenos envolvidos	26
2.3.1 Degradação do polímero formado	27
2.3.2 Degradação de fibrilas colágenas	29
2.4 Grau de conversão e a qualidade exercida	31
2.5 Espectroscopia micro-Raman	32
3 PROPOSIÇÃO	35
4 MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1 Preparo dos dentes	36
4.2 Desenho do experimento, procedimento adesivo e procedimento restaurador	38
4.3 Preparo dos corpos-de-prova (cps)	41
4.4 Teste de resistência de união (RU)	42
4.5 Análise de nanoinfiltração (NI) em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	45
4.6 Análise do grau de conversão (GC) por espectroscopia em micro-Raman	48
4.7 Análise estatística dos dados	50
5 RESULTADOS	51
5.1 Resistência de União (RU)	51
5.2 Nanoinfiltração (NI)	53
5.3 Grau de conversão (%)	57
6 DISCUSSÃO	62

7 CONCLUSÕES	68
REFERÊNCIAS	69
ANEXO A	78

1 INTRODUÇÃO

Uma adesão estável entre os compostos resinosos e os substratos dentais é um dos fatores mais importantes para o sucesso clínico das restaurações adesivas. Nakabayashi et al.¹ (1982) propôs que a adesão de compósitos à dentina é produzida pela criação da camada híbrida. Para tanto, a superfície dentinária deve ser condicionada por um ácido ou primers autocondicionantes e ser subsequentemente infiltrada por agentes adesivos resinosos antes da polimerização (Nakabayashi et al.¹ 1982, Kanca² 1992, Kanca³ 1992).

Os sistemas autocondicionantes além de reduzirem o tempo de aplicação pela diminuição do número de etapas (Van Meerbeek et al.⁴ 2003), também reduzem a sensibilidade da técnica e os riscos de erros durante a técnica adesiva (Van Meerbeek et al.⁴ 2003). A eliminação da etapa de condicionamento ácido separada dos outros passos da técnica adesiva tem sido responsável pela popularidade desses sistemas na prática diária (Tay, Pashley⁵ 2003). Apesar dos adesivos autocondicionantes, especialmente os sistemas simplificados, apresentarem técnica mais simples (Van Meerbeek et al.⁴ 2003), eles apresentam menores valores de resistência de união (Reis et al.⁶ 2005, Martins et al.⁷ 2009) e extensiva nanoinfiltração tanto no tempo imediato (Navarra et al.⁸ 2009) como ao longo do tempo quando comparado com os sistemas não simplificados (Van Meerbeek et al.⁴ 2003, Tay, Pashley⁵ 2003, Hashimoto et al.⁹ 2000).

De acordo com alguns autores (Yiu et al.¹⁰ 2005, Pashley et al.¹¹ 1998), os sistemas autocondicionantes, especialmente os simplificados, apresentam altas concentrações de solventes, podendo interferir no processo de polimerização dos monômeros resinosos no interior do substrato desmineralizado (Pashley et al.¹² 2002). Isto pode causar redução nas propriedades do material (Ferreira et al.¹³ 2011, Hass et al.¹⁴ 2011, Reis et al.¹⁵ 2010) e aumento da sorção de água, o que torna estas interfaces membranas semipermeáveis após a polimerização (Malacarne et al.¹⁶ 2006, Ito et al.¹⁷ 2005). A movimentação de fluidos, como resultado do gradiente osmótico entre a dentina e a camada de adesivo (Chersoni et al.¹⁸ 2004) pode contribuir para uma baixa durabilidade destas restaurações adesivas (Cadenaro et al.¹⁹ 2005, Breschi et al.²⁰ 2008).

Há autores que relatam que a conversão dos sistemas autocondicionantes simplificados é incompleta (Tay, Pashley⁵ 2003, Cadenaro et al.¹⁹ 2005, Breschi et al.²⁰ 2008, Nunes et al.²¹ 2006). O grau de conversão (GC) destes materiais tem sido definido como a taxa de ligações de carbono insaturadas dos monômeros que são convertidas em polímeros e isto tem sido associado como um importante fator no sucesso da adesão (Eick et al.²² 1997).

De fato, uma polimerização incompleta resulta no aumento da permeabilidade da camada adesiva (Malacarne et al.¹⁶ 2006, Cadenaro et al.¹⁹ 2005, Breschi et al.²⁰ 2008, Tay et al.²³ 2002) causando reduções nas propriedades dos materiais resinosos (Cadenaro et al.¹⁹ 2005, Bae et al.²⁴ 2005) e na formação de uma estrutura híbrida porosa, com reduzida capacidade de selamento e maior propensão à degradação (Malacarne et al.¹⁶ 2006, Chersoni et al.¹⁸ 2004, Tay et al.²³ 2002). Da mesma maneira, a presença de monômeros não reagidos também resultam em uma redução da biocompatibilidade dos compósitos resinosos no ambiente oral (Sasaki et al.²⁵ 2005).

Em função do exposto, alguns autores (Cadenaro et al.¹⁹ 2005, Breschi et al.²⁶ 2007) verificaram aumento do grau de polimerização, juntamente com uma diminuição da permeabilidade da interface adesiva com o aumento do tempo de fotoativação dos adesivos. Apesar do aumento do tempo de fotoativação ter sido relacionada com aumento da resistência de união para adesivos convencionais (Ferreira et al.¹³ 2011, Reis et al.¹⁵ 2010), não foi encontrado na literatura nenhum estudo que avaliasse a longevidade da resistência de união após fotoativação prolongada dos sistemas autocondicionantes.

Além disto, muitos dos trabalhos que investigaram o GC dos adesivos dentinários não foram realizados numa condição *in situ*. Na grande maioria dos casos, o GC dos materiais adesivos foi mensurado em espécimes confeccionados com o próprio material através de microscopia diferencial por calorimetria (Cadenaro et al.¹⁹ 2005, Tanimoto et al.²⁷ 2005, Imazato et al.²⁸ 2001, Maffezzoli, Terzi²⁹ 1995), microdureza (Cadenaro et al.¹⁹ 2005, Yap et al.³⁰ 2002, Ferracane³¹ 1985) e espectroscopia por infravermelho (Ferreira et al.¹³ 2011, Ferracane, Greener³² 1984).

Contudo, sabe-se que o processo de polimerização dos adesivos resinosos em situações clínicas ocorre em presença de umidade (Bae et al.²⁴ 2005) sendo, portanto muito mais complexado que a realizada em condições laboratoriais. Técnicas analíticas de alta resolução para mensuração direta, não destrutiva e que avaliam o GC do material *in situ* (ou seja, em contato com a estrutura dental) são necessárias (Pashley et al.³³ 2002). A espectroscopia em micro-Raman tem se destacado por promover uma caracterização da composição estrutural e química de adesivos resinosos, colágeno e minerais com uma resolução de até 1 μm e também muito usada na determinação do grau de conversão de compósitos resinosos (Navarra et al.⁸ 2009, Wang et al.³⁴ 2006, Wang, Spencer³⁵ 2005, Miyazaki et al.³⁶ 2003, Tarle et al.³⁷ 2006, Tarle et al.³⁸ 2002) por providenciar uma mensuração direta da porcentagem de conversão das duplas ligações carbônicas (Navarra et al.⁸ 2009).

Diante do exposto, o propósito do presente estudo foi verificar o efeito do tempo de fotoativação prolongado de adesivos autocondicionantes simplificados no GC *in situ*, na resistência de união à dentina e nanoinfiltração em tempo imediato e após 6 meses de armazenamento em água.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Adesão: uma revolução na Odontologia Restauradora

Por um longo período de tempo a Odontologia baseava-se apenas em procedimentos curativos, onde na maioria deles grande parte de estrutura dentária sadia deveria ser removida, tendo em mente extensão preventiva e definição dos preparos cavitários(Black³⁹ 1908), para possibilitar a retenção dos materiais restauradores disponíveis no mercado da época, principalmente o amálgama dental.

A adesão a estrutura dental trouxe nova ótica à visão odontológica, pois além de permitir abordagens cada vez mais conservadoras, consegue reproduzir função e estética dos tecidos dentais (Tyas et al.⁴⁰ 2000). O surgimento e desenvolvimento dos sistemas adesivos modificaram totalmente a prática odontológica, representando uma das maiores conquistas para a Odontologia Conservadora e Estética (Reis, Loguercio⁴¹ 2007).

A união de materiais restauradores aos substratos dentais ocorre principalmente através da interação micromecânica do agente de união com os tecidos dentais em questão, seja ele o esmalte condicionado ou com as fibrilas colágenas expostas na dentina (Reis, Loguercio⁴¹ 2007). Por outro lado, a qualidade da adesão está diretamente relacionada à eficiência da penetração dos monômeros resinosos nos espaços interfibrilares, ao completo recobrimento das fibrilas colágenas pelo adesivo e ainda, pela adequada polimerização do sistema adesivo (Reis et al.⁴² 2007).

A despeito das grandes vantagens da técnica adesiva, este assunto ainda é foco de muitas pesquisas e ainda representa um grande desafio para prática clínica, seja pelo seguimento criterioso dos passos clínicos durante sua execução como pelas diferenças intrínsecas dos substratos dentais (Van Meerbeek et al.⁴ 2003, Perdigão⁴³ 2007).

2.2 Sistemas Adesivos e Desafios da Adesão

O mecanismo básico da adesão aos substratos dentais é determinado pela remoção do componente inorgânico e substituição por monômeros resinosos que se conectam micro-mecanicamente nas porosidades criadas pela ação de ácidos (Van Meerbeek et al.⁴ 2003). Os procedimentos adesivos no esmalte são considerados muito efetivos (Lopes et al.⁴⁴ 2002, Swift et al.⁴⁵ 1995) devido à morfologia homogênea de sua estrutura e alto conteúdo mineral, já a adesão ao substrato dentinário representa um grande desafio devido à complexidade associado às características intrínsecas e morfológicas da dentina, apresentando menor conteúdo mineral e presença de umidade em seu substrato, além da presença da *smearlayer* (Perdigão⁴³ 2007).

Na tentativa de amenizar as diferenças intrínsecas dos substratos dentais os sistemas adesivos foram sendo modificados e aprimorados por gerações ao longo dos anos. Atualmente eles podem ser classificados de diversas formas, sendo que a mais comum delas é a classificação de acordo com a estratégia de união com o substrato dental, na qual podem ser considerados sistemas convencionais e autocondicionantes (Van Meerbeek et al.⁴ 2003, Breschi et al.²⁰ 2008, Tay, Pashley⁴⁶ 2002).

Nos sistemas convencionais ou *etch-and-rinse*, o passo do condicionamento ácido é empregado separadamente da aplicação de *primer* e adesivo, e como consequência de sua estratégia, há remoção da *smearlayer*. Eles podem ser subdivididos de acordo com o número de passos para a sua aplicação em: convencionais de três passos, que apresenta ácido + *primer* + adesivo em etapas separadas e convencionais de dois passos que apresenta ácido + adesivo, onde o *primer* está junto com o adesivo em um único frasco (Carvalho et al.⁴⁷ 2004).

As teorias sobre adesão ao substrato dentinário relacionadas aos sistemas que requerem separadamente a etapa de condicionamento ácido, sugerem que dois processos fundamentais sejam envolvidos: primeiro a remoção da porção mineral da dentina pelo condicionamento ácido sem causar danos à estrutura colágena e em segundo, os espaços deixados pela retirada do mineral devem ser preenchidos pelo sistema adesivo. Esse adesivo deve penetrar pela rede de

colágeno exposto, impregnando e protegendo as fibras (Spencer et al.⁴⁸ 2000) para assim formar a camada híbrida (Nakabayashi et al.¹ 1982).

Para garantir a integridade das fibras colágenas evitando-se colapso das mesmas, é necessária a presença de certa quantidade de água preenchendo os espaços interfibrilares para posterior penetração dos monômeros resinosos (Wang, Spencer⁴⁹ 2003, Hashimoto et al.⁵⁰ 2002, Pioch et al.⁵¹ 2002).

No entanto, muitos estudos verificaram uma discrepância entre o grau de desmineralização da dentina criado pelo condicionamento ácido e a penetração dos monômeros resinosos podendo resultar em defeitos na impregnação e polimerização dos sistemas adesivos e zonas de colágeno exposto não infiltrado por monômeros resinosos, principalmente na base da camada híbrida (Wang et al.³⁴ 2006, Spencer et al.⁴⁸ 2000, Miyazaki et al.⁵² 2002). A presença de fibras colágenas não infiltradas pode aumentar a susceptibilidade de penetração de fluidos orais e a degradação hidrolítica da interface adesiva (Pioch et al.⁵¹ 2002, Hashimoto et al.⁵³ 2000, Okuda et al.⁵⁴ 2002, Burrow et al.⁵⁵ 1993) comprometendo todo o procedimento restaurador, principalmente a longo prazo (Hashimoto et al.⁹ 2000, Okuda et al.⁵⁴ 2002, Hashimoto et al.⁵⁶ 2003). Esses defeitos/porosidades podem ser criados durante a penetração bem como durante a polimerização dos monômeros resinosos, contração de polimerização ou devido à extração de monômeros hidrofílicos não adequadamente polimerizados (Sano et al.⁵⁷ 1995).

Ao contrário dos sistemas convencionais, os adesivos autocondicionantes não necessitam da aplicação isolada de um ácido para produzir porosidades no substrato. Esses sistemas englobam em suas formulações monômeros resinosos ácidos, que simultaneamente desmineralizam e infiltram-se nos tecidos dentais (Carvalho et al.⁵⁸ 2005). Estes sistemas foram teoricamente desenvolvidos para diminuir e ou eliminar essas imperfeições na desmineralização e penetração dos monômeros resinosos. Eles podem ser comercializados em dois passos, nos quais um dos frascos é composto por *primer* ácido e outro frasco é composto pelo adesivo propriamente dito, ou ainda podem ser de passo único, também conhecidos por *one-step self-etchou all-in-one*.

Nesses sistemas, a *smearlayer* é dissolvida, modificada ou incorporada interface adesiva (Van Meerbeek et al.⁴ 2003, Tay, Pashley⁴⁶ 2002).

Para permitir o tratamento da smearlayer sem a ação de um ácido aplicado separadamente do sistema adesivo, os adesivos autocondicionantes apresentam como característica um pH mais ácido em relação aos sistemas convencionais. Eles apresentam basicamente “médio” e “forte” acidez, onde os de “forte” acidez com $\text{pH} < 1,0$ exibem ultramorfolgia interfacial semelhante a produzida pelos sistemas convencionais. Os de “média” acidez (pH em torno de 2,0 dissolvem a superfície dentinária apenas parcialmente, assim um significativo número de cristais de hidroxiapatita remanescentes podem permanecer no interior da camada híbrida (Van Landuyt et al.⁵⁹ 2007).

Para viabilizar sua estratégia de união, na formulação dos sistemas autocondicionantes de passo único há a presença de água, solventes e grande quantidade de monômeros hidrofílicos para possibilitar a penetração ao substrato dentinário. A água presente nos espaços interfibrilares maximiza a expansão das fibrilas colágenas e mantém os espaços necessários para a infiltração dos monômeros e dependendo da composição do solvente presente no adesivo, e a dentina desmineralizada pode ser re-hidratada (Pashley et al.³³ 2002, Maciel et al.⁶⁰ 1996, Eddleston et al.⁶¹ 2003, Dal-Bianco et al.⁶² 2006).

A facilidade de aplicação com redução do número de passos operatórios, a diminuição de cometer erros durante a manipulação nas etapas de aplicação (Van Meerbeek et al.⁴ 2003) e teoricamente a ausência de discrepância entre o grau de desmineralização e infiltração do adesivo (Spencer et al.⁴⁸ 2000, Itou et al.⁶³ 2001), tornaram estes sistemas alternativas interessantes do ponto de vista clínico.

Contudo, a característica hidrofílica desses sistemas aumenta a capacidade de retenção de água e solventes no polímero formado, dificultando a sua polimerização, fazendo com que as camadas desses sistemas funcionem como membranas semipermeáveis à passagem de água através da camada híbrida, aumentando a nanoinfiltração e favorecendo a diminuição dos valores de resistência de união e a degradação ao longo do tempo (Malacarne et al.¹⁶ 2006, Ito et al.¹⁷ 2005, Tay et al.²³ 2002, Reis et al.⁶⁴ 2007). A presença de água remanescente (Paul et al.⁶⁵ 1999), bem como solventes (Cho, Dickens⁶⁶ 2004, Dickens, Cho⁶⁷ 2005) podem interferir na polimerização do sistema adesivo deixando monômeros

residuais mais susceptíveis à lixiviação dessas regiões em particular (Hashimoto et al.⁶⁸ 2004).

Essas características dos sistemas autocondicionantes de passo único nos auxiliam a entender os motivos pelos quais são considerados os adesivos com pior desempenho na literatura, sejam em estudos laboratoriais (De Munck et al.⁶⁹ 2005) ou em estudos clínicos (Heintze et al.⁷⁰ 2010 , Peumans et al.⁷¹ 2005).

2.3 Degradação da interface adesiva e fenômenos envolvidos

As interfaces adesivas são criadas pela impregnação de comônômeros resinosos no substrato dental. Assim, como definida por Nakabayashi¹ (1982) a camada híbrida consiste em uma estrutura composta pela mistura de matriz dentinária orgânica, cristalitos residuais de hidroxiapatita, monômeros resinosos e solventes. Baseados nesse conceito podemos considerar que a estabilidade da adesão é dependente de uma adequada impregnação e conversão de monômeros resinosos no interior da dentina mineralizada/desmineralizada, e assim prover adequada retenção e selamento no substrato dentinário. Sendo assim, as características intrínsecas individuais dos componentes da camada híbrida bem como a resistência desses componentes perante aos fenômenos de degradação são fatores essenciais a serem considerados na estabilidade adesiva (Van Meerbeek et al.⁴ 2003, Breschi et al.²⁰ 2008, Sano⁷² 2006).

Dois fatores vêm sendo apontados como os principais desencadeantes do processo de biodegradação da interface adesiva, são eles: a degradação das fibrilas colágenas e do polímero formado no interior da camada híbrida (Spencer et al.⁴⁸ 2000, Sano⁷² 2006, Wang, Spencer⁷³ 2004, Breschi et al.⁷⁴ 2004)

O mecanismo exato responsável pela degradação da camada híbrida ainda não foi completamente estabelecido (Breschi et al.²⁰ 2008, Hashimoto et al.⁷⁵ 2010). Contudo, sabe-se que o primeiro estágio envolvendo a biodegradação inicia-se através de ataque enzimático das fibrilas colágenas não adequadamente infiltradas por monômeros resinosos e através da passagem de água e fluidos orais

por espaços nanométricos presentes na camada híbrida, iniciando a atividade de degradação (Sano⁷² 2006). Essa passagem de água e fluidos orais através de espaços nanométricos foi definido por Sano et al.⁵⁸ (1995) como o fenômeno de nanoinfiltração ou infiltração na camada híbrida.

2.3.1 Degradação do polímero formado

Estudos prévios têm verificado que muitas formulações de adesivos simplificados são altamente propensas à sorção de água (Malacarne et al.¹⁶ 2006, Reis et al.⁶⁴ 2007). A grande maioria dos monômeros presentes na composição dos sistemas adesivos apresenta em suas estruturas heteroátomos de carbono e oxigênio ou nitrogênio (Van Landuyt et al.⁵⁹ 2007). Além disso, estes monômeros também apresentam em sua estrutura a presença de grupamentos susceptíveis à hidrólise, tais como ésteres, uretanos, grupamentos hidroxilas, carboxilas e fosfato (Ferracane⁷⁶ 2006).

A extensão e o grau de infiltração de água são dependentes da densidade do polímero formado e do potencial de ligações hidrogeniônicas e interações polares, ou seja, da hidrofiliabilidade do adesivo (Malacarne et al.¹⁶ 2006, Ito et al.¹⁷ 2005, Malacarne-Zanon et al.⁷⁷ 2009). A retenção de água e solventes antes da polimerização compromete a integridade da interface adesiva. Um recente estudo utilizando formulações de adesivos experimentais com diferentes hidrofiliabilidades e quantidades de solvente e água verificou que a porcentagem de solvente retido (a base de acetona e de etanol) aumenta significativamente conforme aumenta a hidrofiliabilidade das misturas resinosas (Yiu et al.¹⁰ 2005).

A presença de solvente orgânico e água no interior do adesivo podem comprometer sua integridade estrutural. Aumentando-se a concentração de acetona em sistemas adesivos simplificados observa-se uma diminuição nos valores de resistência de união e formação de fendas ou rachaduras nas interfaces adesivas (Cho, Dickens⁶⁶ 2004).

Embora protocolos para evaporação de solvente sejam recomendados por muitos fabricantes de adesivos odontológicos, sabe-se que a eliminação completa do solvente é uma situação crítica, se não impossível,

especialmente em sistemas mais hidrofílicos (Yiu et al.¹⁰ 2005, Carvalho et al.⁷⁸ 2003). Então, solventes voláteis residuais diluídos no adesivo podem dificultar a aproximação de moléculas reativas durante a reação de polimerização, atrapalhando a formação da estrutura polimérica dentro da camada híbrida (Paul et al.⁶⁵ 1999, Loguercio et al.⁷⁹ 2009, Ye et al.⁸⁰ 2007). Assim, ao invés de formar um emaranhado macromolecular denso, a estrutura polimérica pode permanecer com espaços vazios em diversos graus que variam de acordo com a quantidade de solvente orgânico presente durante a polimerização. Conseqüentemente, isso afeta os valores de resistência coesiva do material adesivo (Loguercio et al.⁷⁹ 2009) resultando na redução da resistência de união da interface adesiva (Hass et al.¹⁴ 2011, Reis et al.¹⁵ 2010, Takahashi et al.⁸¹ 2002).

Uma incompleta polimerização também está associada a um aumento da permeabilidade dos sistemas adesivos simplificados tanto convencionais como autocondicionantes, provavelmente, devido a um relativo aumento nas concentrações de monômeros hidrofílicos e solventes (Cadenaro et al.¹⁹ 2005). E como conseqüência da polimerização parcial, os sistemas adesivos ficam mais permeáveis a movimentação de fluidos (Malacarne-Zanon et al.⁷⁷ 2009) podendo acelerar o processo de sorção de água e comprometer a integridade da interface adesiva ao longo do tempo.

A fácil passagem de água através da camada adesiva e híbrida desestrutura (amolece) o polímero por inchaço da sua estrutura e reduz as forças friccionais entre as cadeias poliméricas (Ferracane⁷⁶ 2006, Santerre et al.⁸² 2001). Depois do processo de relaxamento, monômeros não-reagidos presos no polímero formado são lixiviados para o meio, criando novos canais para penetração de água por difusão aumentando ainda mais a sorção em um processo auto-acelerativo. A eluição de monômeros residuais e de baixo peso molecular também causa um aumento da porosidade no interior da camada híbrida (Hashimoto et al.⁹ 2000, Sano et al.⁸³ 1999) reduzindo ainda mais os valores de resistência máxima à tração de adesivos simplificados (Yiu et al.⁸⁴ 2004) e seu módulo de elasticidade (Ito et al.¹⁷ 2005). Esses são considerados alguns dos motivos que geram a degradação resinosa dentro da camada híbrida, contribuindo ainda mais para redução da resistência de união criada pelos sistemas adesivos ao longo do tempo (Breschi et al.²⁰ 2008).

2.3.2 Degradação das fibrilas colágenas

O conceito de camada híbrida ideal refere-se a uma estrutura formada pela desmineralização da superfície e subsuperfície dentinária, seguida de uma infiltração de monômeros e subsequente polimerização (Nakabayashi et al.¹ 1982). Contudo, muitos estudos verificaram que nem todo substrato desmineralizado é perfeitamente infiltrado pelo sistema adesivo, fato evidenciado nos sistemas convencionais (Wang et al.³⁴ 2006, Wang, Spencer⁴⁹ 2003, Santini, Miletic⁸⁵ 2008) e também por algumas categorias dos sistemas autocondicionantes (Wang, Spencer³⁵ 2005, Carvalho et al.⁵⁸ 2005).

Esta discrepância entre a desmineralização e infiltração monomérica resulta em zonas incompletamente infiltradas ao longo da camada híbrida que contém fibrilas colágenas não encapsuladas por monômeros resinosos imediatamente após a adesão. Isto foi primeiramente demonstrado por Sano et al.⁵⁸ (1995) e os autores chamaram de: nanoinfiltração ou infiltração dentro da camada híbrida.

A eluição resinosa de hidrogéis poliméricos hidroliticamente instáveis dentro da camada híbrida pode continuar a ocorrer através de canais de nanoinfiltração com o passar do tempo, produzindo exposição contínua de fibrilas colágenas (Malacarne et al.¹⁶ 2006, Ito et al.¹⁷ 2005). Este fato possibilita à matriz colágena previamente infiltrada tornar-se mais suscetível ao ataque de enzimas proteolíticas.

Recentemente foi demonstrado que as enzimas envolvidas na destruição de matriz colágena durante a patogênese da cárie dentária (Tjäderhane et al.⁸⁶ 1998, van Strijp et al.⁸⁷ 2003) e doença periodontal (Lee et al.⁸⁸ 1995) tem implicações potencialmente relevantes na degradação da interface adesiva (Pashley et al.⁸⁹ 2004). Esses autores especularam que tal atividade proteolítica poderia ocorrer pela ação de metaloproteinases dentinárias (MMPs), que também se expressam no complexo dentino-pulpar (Tjäderhane et al.⁸⁶ 1998).

As metaloproteinases (MMPs) são uma família de enzimas Zn^{2+} - e Ca^{2+} - dependentes. Essas enzimas endógenas são importantes componentes em muitos processos biológicos e patológicos devido a sua habilidade para degradar diversos componentes da matriz extracelular. Dentro do ambiente oral, têm se dado

considerável interesse para a detecção, distribuição e função de derivados de MMPs e diversas delas têm sido identificadas dentro do complexo dentino-pulpar (Hannas et al.⁹⁰ 2007 , Sorsa et al.⁹¹ 2004). Um dos estudos pioneiros que verificou o envolvimento das MMPs na degradação da matriz dentinária desmineralizada foi conduzido por Tjäderhane et al.⁸⁷ (1998). Estes autores verificaram que as bactérias acidogênicas são necessárias para remoção de minerais e subsequente ativação das MMPs, mas somente as bactérias por si só não são capazes de promover a degradação da matriz dentinária. Assim, acredita-se que depois da desmineralização, as MMPs ativadas seriam as responsáveis pela destruição da matriz dentinária e progressão de lesões de cárie cervical (Tjäderhane et al.⁸⁶ 1998).

Mais recentemente, foi discutido em um estudo (Pashley et al.⁸⁹ 2004), o envolvimento das MMPs na degradação da camada híbrida provavelmente infiltrada. Através da liberação e subsequente ativação de enzimas endógenas durante o procedimento adesivo (Mazzoni et al.⁹² 2006, Nishitani et al.⁹³ 2006, Tay et al.⁹⁴ 2006) as MMPs podem ser as responsáveis pelo completo desaparecimento de porções da camada híbrida da interface adesiva após 4 anos de armazenamento em água (De Munck et al.⁹⁵ 2003). Mais recentemente, outro grupo de proteases foi identificado em ambos tecidos humanos, sadio e cariado, e faz parte de cisteína proteases (Tersariol et al.⁹⁶ 2010)

No entanto, é importante ressaltar que o procedimento de condicionamento com ácido fosfórico pode inibir a atividade colagenolítica/gelatinolítica da dentina (Pashley et al.⁸⁹ 2004, Mazzoni et al.⁹² 2006), porém estas são reativadas (Mazzoni et al.⁹² 2006) pela aplicação de sistemas adesivos convencionais simplificados (Mazzoni et al.⁹² 2006) e autocondicionantes (Nishitani et al.⁹³ 2006)

Contudo, algumas exceções vêm sendo encontradas. Recentes estudos têm reportado que alguns autocondicionantes de média acidez (De Munck et al.⁹⁷ 2009, De Munck et al.⁹⁸ 2010) e alguns monômeros dos sistemas adesivos simplificados tais como TEGDMA, HEMA e amônioquaternário metacrilatos são capazes de inibir a atividade das MMPs (Carvalho et al.⁹⁹ 2009, Carvalho et al.¹⁰⁰ 2010, Tezvergil-Mutluay et al.¹⁰¹ 2011).

2.4 Grau de conversão e a qualidade adesiva

A conversão de monômeros em polímeros é um fator determinante da resistência físico-mecânica do polímero resultante (Bae et al.²⁴ 2005). Na literatura, o conteúdo de duplas ligações presentes no monômero convertidas para polímero é comumente definida como o grau de conversão (GC), e é convencionalmente calculada como o grau de duplas ligações carbônicas (C=C) nos materiais polimerizados e não polimerizados, relatado para um padrão interno (Miletic et al.¹⁰² 2009 , Miletic, Santini¹⁰³ 2010).

Assim como nas propriedades poliméricas dos sistemas adesivos, o GC reflete diretamente na qualidade e estabilidade da interface adesiva. Uma camada adesiva sub-polimerizada e rica em terminações hidrofílicas tende a absorver maior quantidade de água do meio oral, o que afeta suas propriedades mecânicas imediatas e ao longo do tempo (Reis et al.⁶ 2005, Carrilho et al.¹⁰⁴ 2005) e produz uma camada híbrida mais propensa à degradação (Pashley et al.⁸⁹ 2004, Carrilho et al.¹⁰⁵ 2007).

Contudo, o GC nos sistemas adesivos é considerado relativamente baixo, especialmente os sistemas de passo único (Tay, Pashley⁵ 2003, Cadenaro et al.¹⁹ 2005, Breschi et al.²⁰ 2008). Isto resulta em uma camada híbrida com maior permeabilidade, maior sorção de água e alto teor de monômeros residuais não reagidos para o meio, podendo apresentar efeito citotóxico no ambiente oral, especialmente os monômeros dimetacrilatos (Sasaki et al.²⁵ 2005). Assim, um alto GC é necessário para que o polímero alcance boas propriedades físicas, químicas bem como propriedades de biocompatibilidade (Geurtsen et al.¹⁰⁶ 1999, Geurtsen et al.¹⁰⁷ 1998).

Vários são os fatores que podem afetar o processo de polimerização, entre eles estão: a intensidade de luz ou densidade de potência, tempo de exposição, a formulação dos monômeros e também a quantidade de fotoiniciadores (Yamamoto et al.¹⁰⁸ 2006). Em seu trabalho, Yamamoto e colaboradores¹⁰⁹ (2006) verificaram o efeito da intensidade de luz nos valores de resistência de união à dentina utilizando sistemas adesivos autocondicionantes e

concluíram que baixas intensidades de luz podem refletir em menores valores de resistência de união à dentina para adesivos autocondicionantes.

Dos fatores que podem estar associados ao GC acima citados, a intensidade de luz e especialmente o tempo de exposição, são de grande interesse devido ao fato de estarem sob o controle do clínico. Baseados nisso, Reis et al.¹³ (2010) verificaram o efeito do aumento do tempo de ativação de adesivos convencionais simplificados na durabilidade da resistência adesiva e na qualidade do polímero formado através dos testes de resistência de união à dentina por microtração, microscopia eletrônica de varredura e termogravimetria. Nesse trabalho concluíram que um aumento no tempo de fotoativação por luz além do preconizado pelos fabricantes, não preveniu a degradação ao longo do tempo, porém retardou a degradação da união provavelmente devido a uma melhor remoção do conteúdo de solvente e quantidade de monômero residual.

Cadenaro et al.¹⁹ (2005) em seu estudo analisaram o GC, microdureza e permeabilidade de sistemas adesivos convencionais e autocondicionantes, ambos simplificados e não-simplificados, variando o tempo de fotoativação. Nesse estudo concluíram que os adesivos dentinários apresentam incompleta polimerização em diversos graus, mesmo em tempos de fotoativação mais prolongados. A permeabilidade e o grau de incompleta polimerização são mais extensos para sistemas simplificados. Assim, prolongando o tempo de fotoativação do preconizado pelos fabricantes, há uma melhor polimerização e redução da permeabilidade, sendo, portanto esta uma possível alternativa para melhorar a *performance* dos sistemas simplificados.

2.5 Espectroscopia micro-Raman

Muitas são as técnicas que buscam investigar a interface adesiva, em especial o GC dos polímeros resinosos, tais como microscopia diferencial por calorimetria (Cadenaro et al.¹⁹ 2005, Tanimoto et al.²⁷ 2005, Imazato et al.²⁸ 2001, Maffezzoli, Terzi²⁹ 1995), microdureza (Cadenaro et al.¹⁹ 2005, Yap et al.³⁰ 2002, Ferracane³¹ 1985) e espectroscopia por infravermelho (Ferreira et al.¹³ 2011,

Ferracane, Greener³² 1984). Contudo, a maioria desses métodos não permite mensurar o GC em uma condição *in situ*, bem como requerem preparação dos espécimes com o próprio material.

A espectroscopia micro-Raman tem se destacado por proporcionar uma análise quantitativa e qualitativa da interface adesiva através da captação das vibrações moleculares inerentes a cada elemento. Essa técnica, devido à sua capacidade de análise do espécime sem qualquer preparo adicional produza alteração dimensional ou estrutural no mesmo, tem sido utilizada para mapeamento químico/estrutural, bem como para análise do GC, numa condição *in situ* da camada híbrida (Navarra et al.⁸ 2009, Wang et al.³⁴ 2006, Miyazaki et al.⁵² 2002, Wang, Spencer⁷³ 2004, Santini, Miletic⁸⁵ 2008, Miletic et al.¹⁰² 2009, Miletic, Santini¹⁰³ 2010, Miyazaki et al.¹⁰⁹ 2003, Cadenaro et al.¹¹⁰ 2010).

Santini e Miletic⁸⁶ (2008) ao realizarem um estudo quantitativo da desmineralização dentinária, penetração do adesivo e GC, utilizando diferentes sistemas adesivos polimerizados no tempo de fotoativação recomendado pelo fabricante. Assim, verificaram que os sistemas adesivos apresentam menor GC no interior da camada híbrida em relação à camada adesiva, e ainda que, todos os sistemas adesivos apresentaram quantidade significativa de monômeros não reagidos na camada híbrida, em especial os sistemas convencionais. Contudo, os sistemas autocondicionantes sofreram menor variação no GC da camada adesiva para camada híbrida.

Miletic, Santini e Trkulja¹⁰³ (2009) em seu estudo quantificaram a eluição de monômeros de diferentes sistemas adesivos utilizando cromatografia líquida reversa de alta *performance* e correlacionaram com o grau de duplas ligações carbônicas de monômero para polímero, utilizando espectroscopia micro-Raman. Nesse estudo não houve uma correlação direta entre a eluição de monômeros não reagidos com o GC dos sistemas adesivos testados.

Miletic e Santini¹⁰⁴ (2010) verificaram o conteúdo de duplas ligações de carbono no monômero não reagido para polímero (grau de conversão) presentes em sistemas adesivos polimerizados com diferentes fontes polimerizadoras. Nesse trabalho pôde-se observar que o GC atingido em 20 s de fotoativação com lâmpada

halógena foi maior do que no tempo de 10 s e ainda, maior do que em 10 s de fotoativação com diversos LEDs de alta intensidade de luz.

Navarra et al.⁸ (2009) utilizando espectroscopia micro-Raman, verificaram o GC e nanoinfiltração de sistemas autocondicionantes de um passo polimerizados segundo as recomendações dos fabricantes e concluíram que um baixo GC está relacionado a altos valores de nanoinfiltração, o que pode comprometer a qualidade e a estabilidade da interface adesiva ao longo do tempo.

Assim, o GC parece estar relacionado com as propriedades adesivas, mais especificamente a resistência adesiva e nanoinfiltração. Estudos como os de Ferreira et al.¹⁵ (2011) e Cadenaro et al.¹⁹ (2005) verificaram melhora nas propriedades adesivas aumentando o tempo de fotoativação do preconizado pelos fabricantes. Contudo, esse tipo de estudo ainda é escasso na literatura e carece maiores investigações.

3. PROPOSIÇÃO

O propósito deste trabalho foi avaliar o efeito do tempo de fotoativação prolongado de adesivos autocondicionantes simplificados no grau de conversão *in situ* da camada híbrida e nos valores de resistência de união à dentina e nanoinfiltração, tanto no tempo imediato como após 6 meses de armazenamento dos espécimes.

A hipótese nula desta pesquisa foi que tempos prolongados de fotoativação não afeta o grau de conversão, resistência de união e nanoinfiltração destes adesivos autocondicionantes simplificados.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Preparo do dentes

Foram utilizados para este trabalho noventa terceiros molares humanos hígidos, os quais foram obtidos através do Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa após aprovação da Comissão de Ética em Pesquisa (COEP) (Anexo 1). O esmalte da superfície oclusal dos dentes foi removido com lixas de carbeto de silício de granulação #180, sob irrigação constante, com água, em uma politriz universal (AROPOL, São Paulo, São Paulo, Brasil) até obtenção de uma superfície dentinária plana totalmente livre de esmalte. As bordas periféricas restantes de esmalte foram também removidas com pontas diamantadas em alta rotação com irrigação constante. Posteriormente a superfície foi polida com lixa de carbeto de silício de granulação #600 por 60 s para padronização da *smearlayer* (Figura 1).

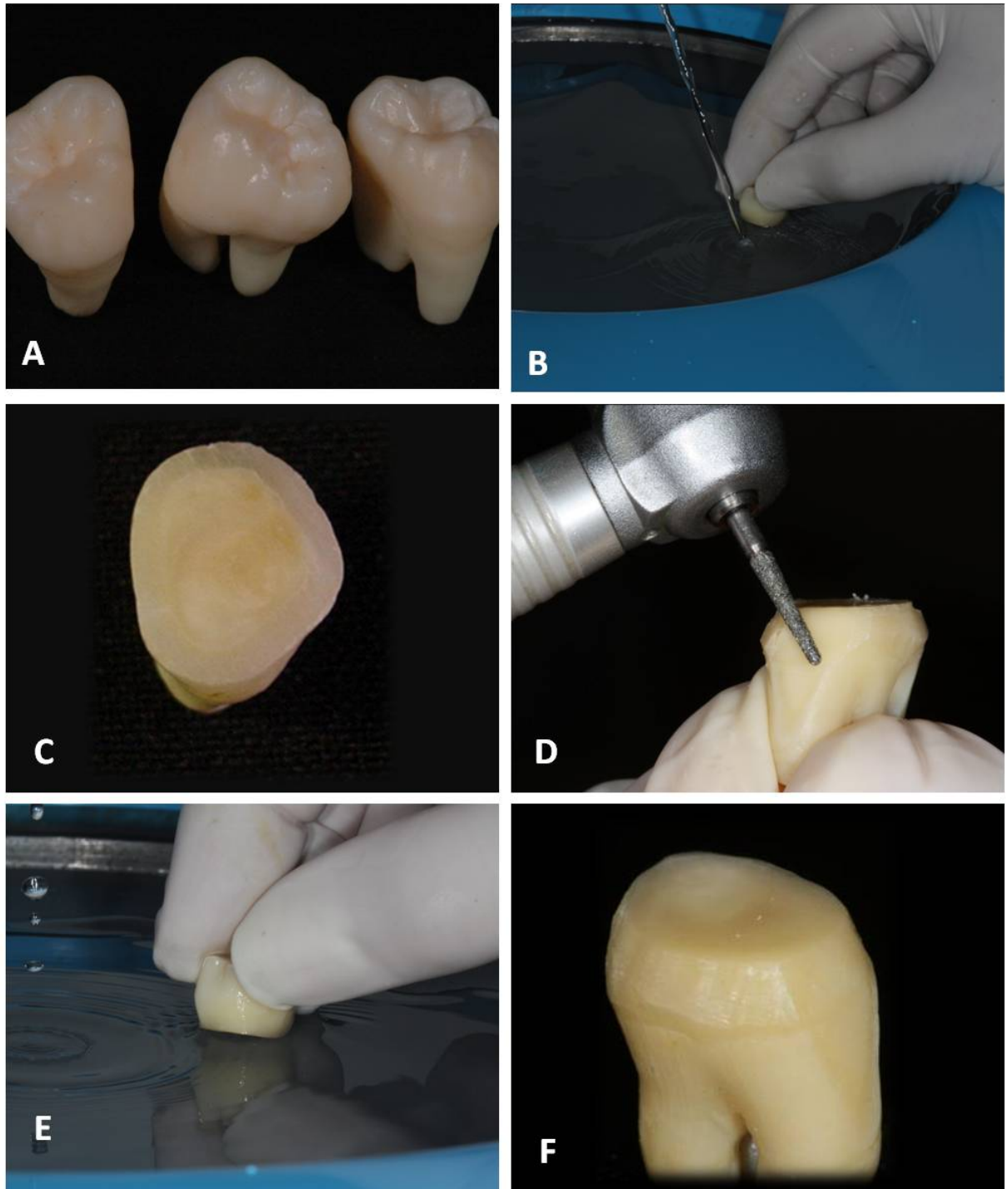





Figura 1 – Preparo dos dentes. A: terceiros molares hígidos; B: eliminação do esmalte com lixa de carbeto de silício com granulação #180 sob irrigação constante com água; C: aspecto após remoção de esmalte oclusal; D e E: eliminação do esmalte periférico com ponta diamantada em alta rotação; F: padronização da *smearlayer* com lixa de carbeto de silício com granulação #600 por 60 s.

4.2 Desenho do experimento, procedimento adesivo e procedimento restaurador

Um total de 18 condições experimentais foi avaliado neste estudo, resultantes da combinação dos fatores principais: adesivo (AdperEasyOne [EO]; Clearfil S3 Bond [CS] e Go [GO]); tempo de fotoativação (10, 20 e 40 s) e tempo de armazenamento (imediato, ou seja, 24 h após o procedimento [IM] e 6 meses [6M]). Avaliou-se neste estudo a resistência de união à dentina (RU), a penetração de nitrato de prata (NI) em microscopia eletrônica de varredura (nanoinfiltração) e o grau de conversão (GC) do adesivo dentro da camada híbrida nas condições acima mencionadas.

Os três sistemas adesivos autocondicionantes de um passo empregados foram: AdperEasyOne (3M ESPE, St. Paul, Minesota, EUA); Clearfil S3 Bond (Kuraray, Okayama, Japão) e Go (SDI Limited, Bayswater, Victoria, Austrália) (Quadro 1).

Sistema adesivo (número do lote)	Composição	Modo de aplicação	Tempo de Fotoativação
Clearfil S3 Bond (061251) 	MDP; HEMA, Bis-GMA, metacrilato hidrofóbico, água, etanol, di-canforoquinona e sílica coloidal silanizada.	1. Aplicar na superfície por 20 s; 2. jato de ar por 5 s; 3. fotoativação.	10 s (recomendação do fabricante) 20 s 40 s
Go! (181601) 	Monômero ester fosfato, monômero dimetacrilato, monômero metacrilato, água, acetona, fluoreto de sódio, sílica, fotoiniciadores e estabilizadores.	1. Aplicar uma camada de adesivo na superfície úmida durante 20 s; 2. jato de ar por 5 s; 4. fotoativação	10 s (recomendação do fabricante) 20 s 40 s
Adper Easy One (417876) 	HEMA, Bis-GMA, ésteres fosfóricos de metacrilato, dimetacrilato, 1,6 hexanodiol, metacrilato funcionalizado, copolímero de acrílico e ácido itacônico, sílica tratada com silício, etanol, água, canforoquinona e difenil (2,4,6-trimetilbenzoi) – óxido de fosfina.	1. Aplicação de uma camada de adesivo esfregando por 20 s; 2. jato de ar por 10 s; 3. fotoativação	10 s (recomendação do fabricante) 20 s 40 s

*Abreviações: Bis-GMA: bisfenolglicidil metacrilato; DMA: dimetacrilato; HEMA: 2-hidroxiethyl metacrilato; 10-MDP: 10-metacrililoiloxidecildihidrogenofosfato.

Quadro 1. Sistemas adesivos (número do lote), composição, modo de aplicação e tempo de fotoativação.

Os sistemas adesivos foram aplicados em superfície dentinária segundo as recomendações dos fabricantes (Quadro 1), porém a fotoativação foi realizada por tempos de 10, 20 e 40 s com um aparelho de lâmpada halógena (VIP, Bisco, Schaumburg, Illinois, EUA) com intensidade de aproximadamente 600mW/cm² (Figura 2).

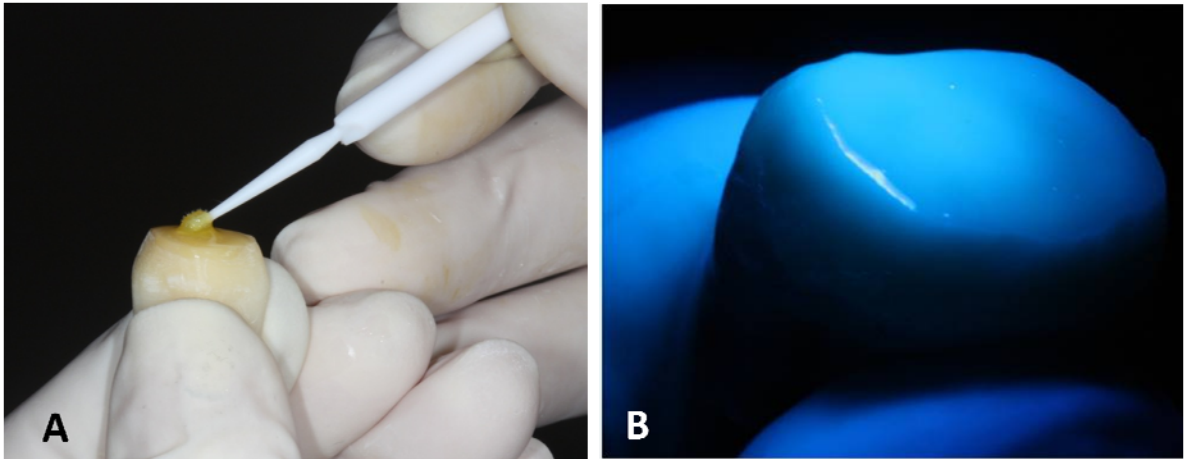


Figura 2. Procedimento adesivo. A: aplicação dos sistemas adesivos conforme as instruções dos fabricantes; B: fotoativação por 10, 20 ou 40s.

Após procedimento adesivo, os dentes foram restaurados com resina composta (Opallis, FGM, Joinville, SC, Brasil) com aproximadamente 2,0 mm de altura. Cada incremento de resina de 1 mm foi fotoativado por 40 s a 600 mW/cm² com o mesmo aparelho anteriormente citado (Figura 3). As unidades experimentais foram em seguida armazenadas em água destilada a 37° C por 24 h.

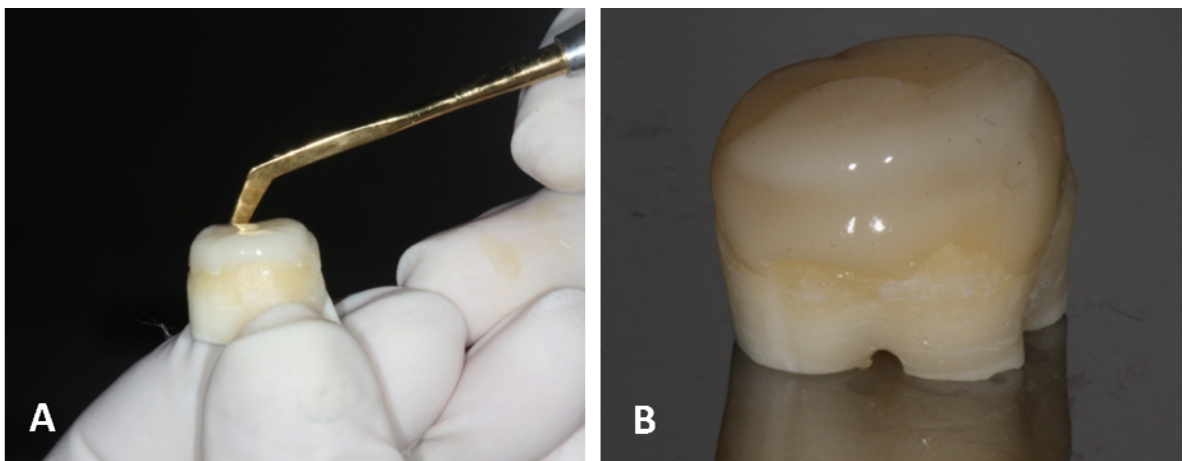


Figura 3. Procedimento restaurador. A: inserção de resina composta em 2 incrementos; B: Aspecto final da unidade experimental.

4.3 Preparo dos corpos-de-prova (cps)

Cada unidade experimental foi fixada num dispositivo para ser adaptado na máquina de corte (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA). Para o teste de RU e NI, as unidades experimentais foram seccionadas nas direções “x” e “y” através da interface de união para obtenção de cps na forma de “palitos” com aproximadamente $0,8\text{mm}^2$ de área de secção transversal (Figura 4).

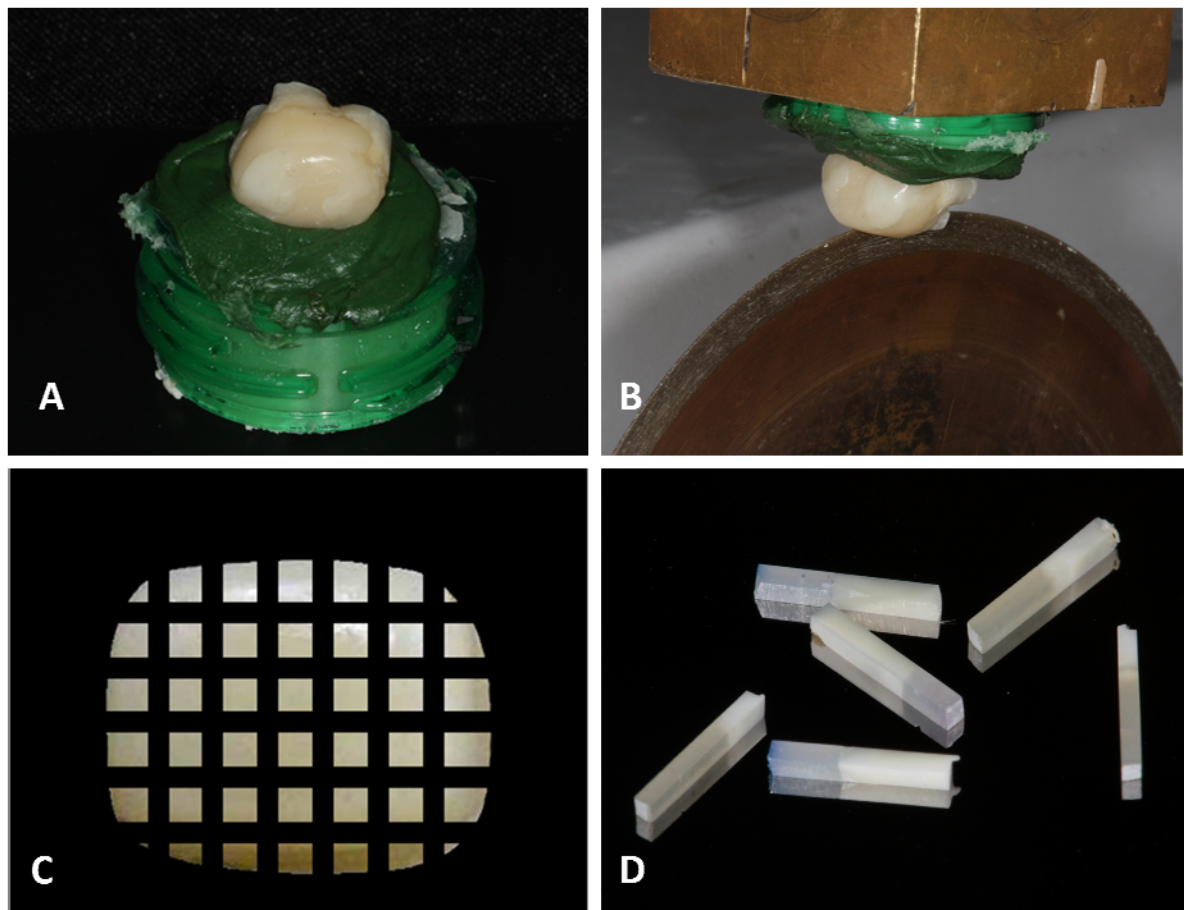


Figura 4. Preparo dos corpos-de-prova para o teste de RU e NI. A: fixação das unidades experimentais no dispositivo para ser adaptado na máquina de corte; B: dispositivo adaptado na máquina de corte com as unidades experimentais e corte dessas unidades; C: cortes nos sentidos “x” e “y”; D: cps para RU e NI.

Para o teste de GC foram utilizados 5 dentes por condição experimental, nos quais realizou-se cortes paralelos longitudinais no sentido mesio-distal, obtendo aproximadamente 4 fatias por dente com aproximadamente 1 mm de espessura (Figura 5). Todos os cortes foram realizados utilizando um disco diamantado (Diamond WaferBlade, Series 15 HC, Buehler, EUA) girando a 400 rpm sob refrigeração constante com água. Duas fatias por dente, selecionadas aleatoriamente, foram levadas para leitura do GC.

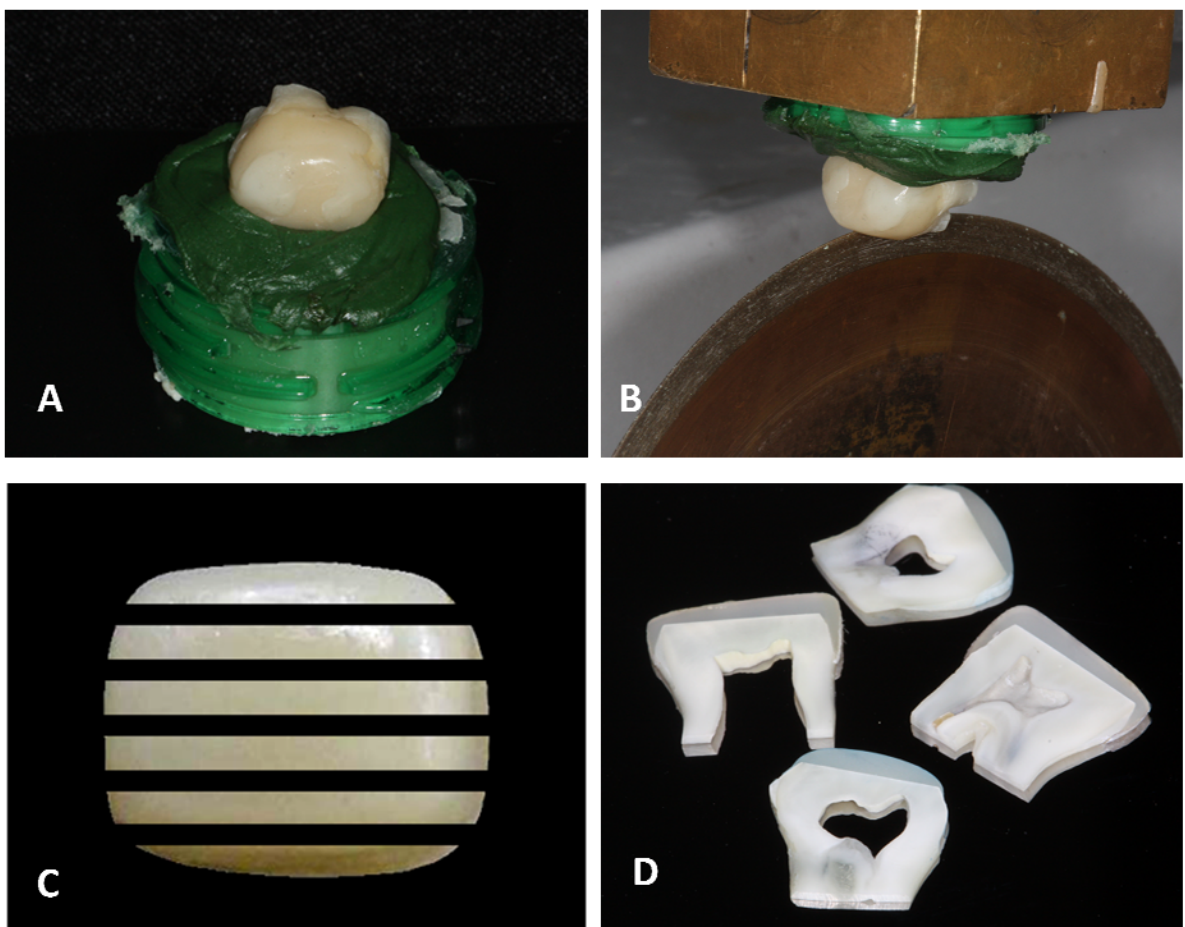


Figura 5. Preparo dos corpos-de-prova para o teste de GC. A: fixação das unidades experimentais no dispositivo para ser adaptado na máquina de corte; B: dispositivo adaptado na máquina de corte com as unidades experimentais e corte dessas unidades; C: cortes no sentido mesio-distal; D: unidades experimentais cortadas longitudinalmente e obtenção de cps no formato de fatias para teste de GC.

4.4 Teste de resistência de união (RU)

Um total de 5 dentes foram empregados para cada uma das condições experimentais resultantes da combinação dos fatores principais Adesivo e Tempo de fotoativação. Os cps em formato de palitos obtidos de cada dente foram divididos aleatoriamente para serem testados nos tempos IM e 6M.

Os cps destinados para serem testados em 6M foram armazenados em *ependorfs* contendo água destilada e mantidos em uma estufa a 37° C durante o tempo de 6 meses (Figura 6).

Cada cp em seu respectivo período de análise foi fixado com cola de cianoacrilato em gel (SuperBonder Gel, Loctite, São Paulo, Brasil) em uma garra de Geraldelli(Perdigão et al.¹¹¹ 2002)(Figura 6). Esta garra foi acoplada em uma máquina de ensaios universal (KratosDinamometros, Cotia, São Paulo, Brasil) e os cps tracionados até sua ruptura sob uma velocidade de 0,5 mm/min. Para calcular a tensão de ruptura de cada cp em MPa, a área de secção transversal dos espécimes foi mensurada com um paquímetro digital (DigimaticCapiler, Mitutoyo, Tóquio, Japão). A análise dos espécimes fraturados foi realizada com o auxílio de uma lupa (40X) e classificada nos seguintes padrões: 1-adesiva/mista na interface; 2-coesiva de dentina ou resina; 3-perda prematura.

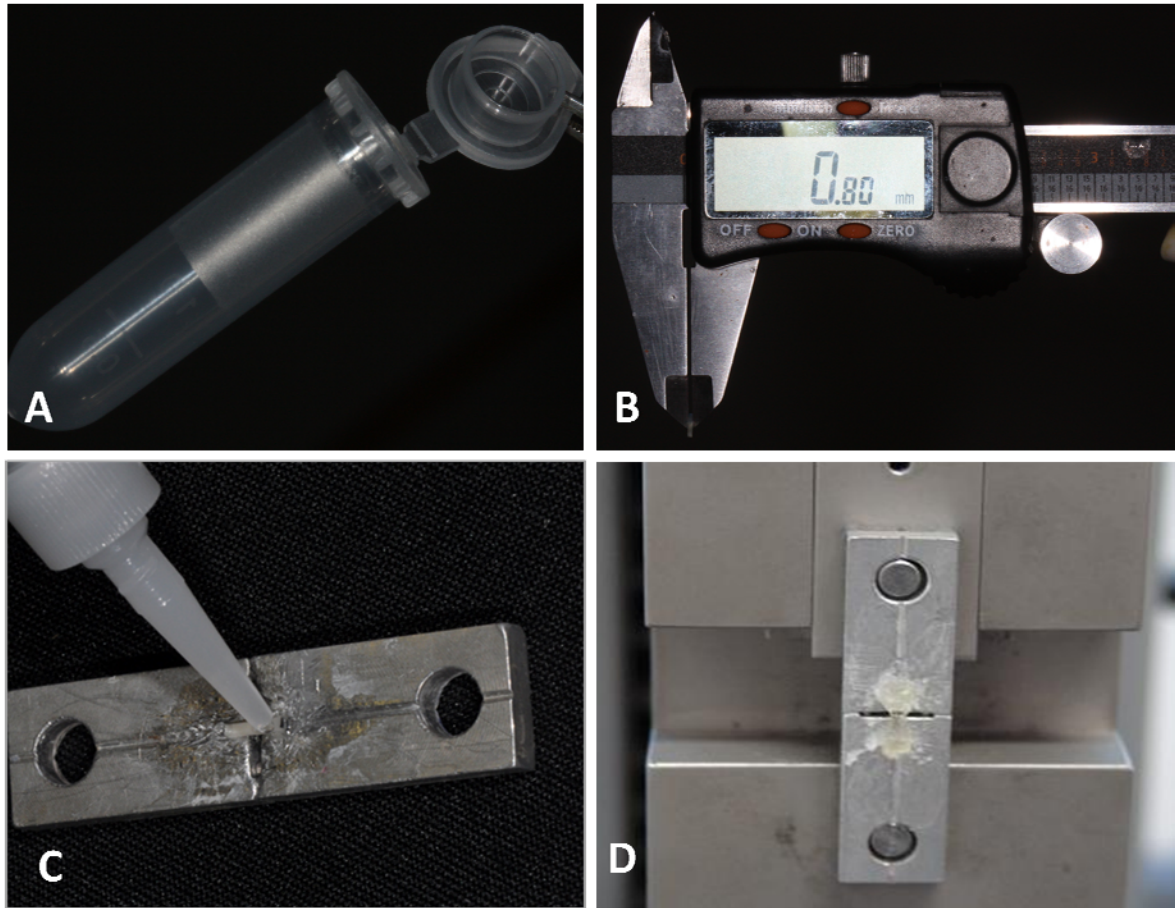


Figura 6. Armazenamento dos cps e teste de microtração. A: *eppendorf* para armazenamento dos cps; B: mensuração da área de secção transversal com paquímetro digital; C: fixação de cp nas garras para microtração; D: garras para microtração adaptadas na máquina de ensaios universal.

Realizou-se uma média com os valores de RU dos cps provenientes do mesmo dente em cada período de tempo, totalizando 5 médias por condição experimental. Os palitos perdidos prematuramente durante o corte e manuseio juntamente com os palitos que sofreram fraturas tipo coesiva foram excluídos da análise.

4.5 Análise da nanoinfiltração (NI) em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Dois cps de cada unidade experimental dos dois períodos de avaliação, selecionados aleatoriamente, não foram testados em tração e reservados para análise da NI. Os cps selecionados foram imersos em solução aquosa de nitrato de prata amoniacal 50% em peso (pH=7,0) em ambiente escuro durante o período de 24 h. Após isso, os cps foram lavados em água corrente e imersos em solução reveladora (Kodak, Rochester, Nova York, EUA) sob luz fluorescente por 8 h para que houvesse redução dos íons de prata ao longo das microporosidades na interface de união (Tay et al.¹¹² 2002). Depois de revelados, os cps foram novamente lavados em água corrente e fixados com parafina em *stubs* de alumínio, que por sua vez foram posicionados sem um dispositivo que exercia um determinado peso para favorecer o polimento uniforme da amostra (Figura 7). O polimento foi realizado numa politriz universal (AROPOL, São Paulo, SP, Brasil) com lixas de granulações 1000, 1200, 1500, 2000, 2500 e pastas diamantadas com granulação decrescente 1 e 0,25 μm (Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, USA) sob irrigação constante com água (Figura 7). Nos intervalos entre as lixas e pastas de polimento, os cps foram lavados em cuba ultrassônica (Dabi Atlante - 3L, Ribeirão Preto, SP, Brasil) por 15 min e ao término do polimento as amostras foram lavadas da mesma maneira durante 30 min. O excesso de água foi removido com papel absorvente e os cps foram desidratados em um dessecador contendo sílica coloidal por 24 h. As amostras foram metalizadas em ouro (Shimadzu IC 50, Tóquio, Japão) para permitir a avaliação das interfaces de união em MEV (SSX-550, Shimadzu, Tóquio, Japão) em modo de elétrons retroespalhados com 12 Kv de voltagem (Figura 7).

Três fotomicrografias com aumento de 1200X foram obtidas da interface de união de cada cp por um técnico cego às condições experimentais do estudo. A primeira foto foi tomada no centro do cp e as outras duas distavam 0,3 mm à esquerda e à direita. O percentual relativo de nitrato dentro da área ocupada pela camada de adesivo e camada híbrida (Figura 7), foram mensurados de forma automatizada pelo *software* UTHSCSA ImageTool 3.0 *software* (Centro da Ciência da Saúde, Universidade do Texas, San Antonio, Texas, EUA). Realizou-se uma

média dos valores percentuais de infiltração de nitrato dos cps provenientes do mesmo dente para fins estatísticos.

Para o sistema adesivo Go foi necessária uma modificação na técnica, pois os cps no formato de palitos não resistiram às etapas de polimento, havendo ruptura da interface adesiva. Dessa maneira as mesmas fatias utilizadas para o teste de GC, após serem analisadas em espectroscopia de micro-Raman, foram submetidas às mesmas etapas anteriormente citadas para o preparo do teste de NI por MEV.

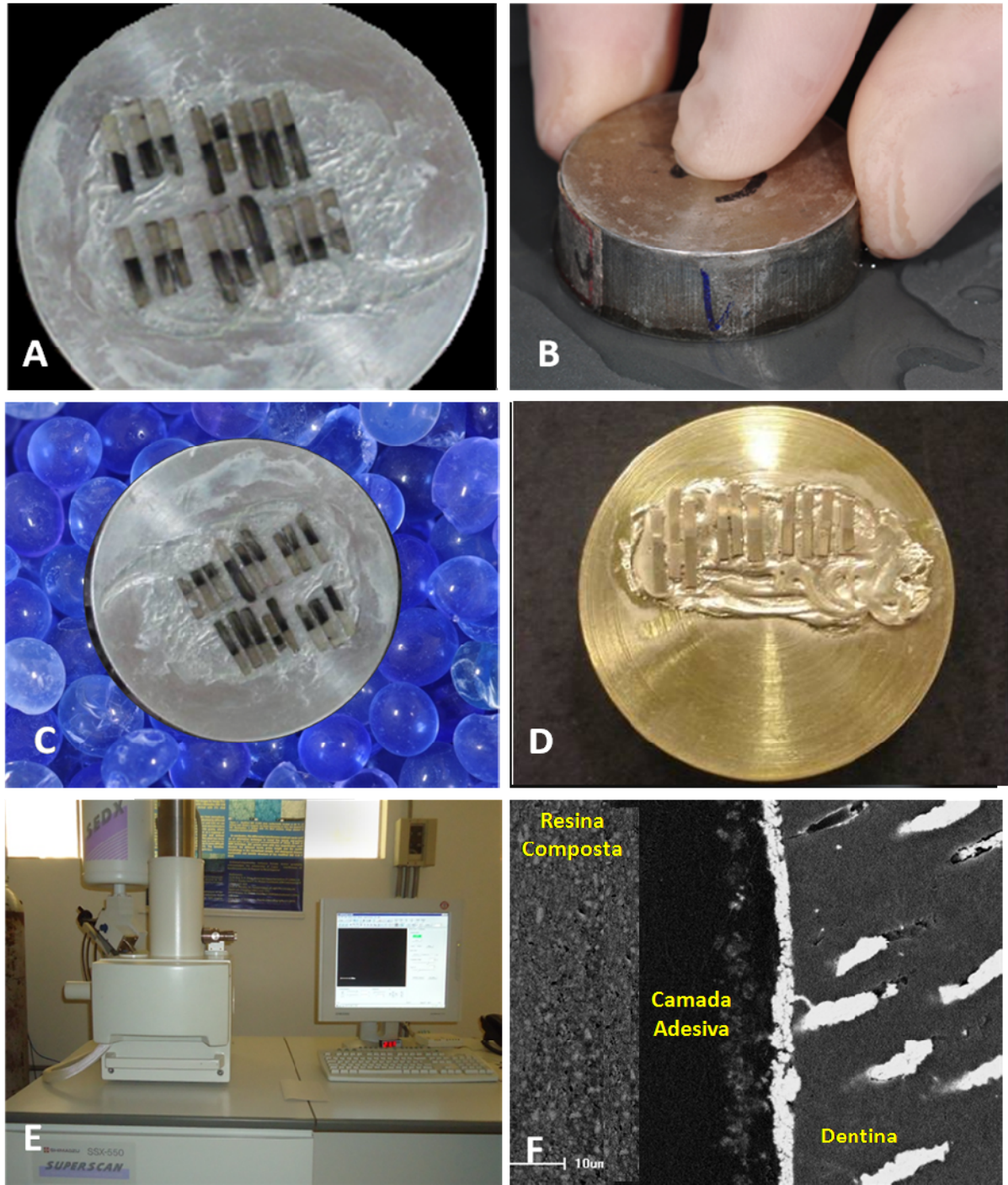


Figura 7. Preparo e análise por MEV. A: cps fixados com parafina em *stub* de alumínio; B: polimento dos cps em politriz sob irrigação; C: desidratação das amostras em sílica; D: amostras metalizadas; E: microscópio eletrônico de varredura; F: fotomicrografia da interface de união

4.6 Análise do grau de conversão (GC) por espectroscopia em micro-Raman

As fatias obtidas após seccionamento das unidades experimentais foram submetidos a um leve polimento com lixas de granulação 1500 e 2000 (BuehlerLtd, Lake Bluff, IL, USA), 30 s em cada lixa, sob constante irrigação com água. A seguir, os cps foram lavados em cuba ultrassônica (Dabi Atlante - 3L, Ribeirão Preto, SP, Brasil) durante o período de 30 min armazenados em água destilada a 37° C por 24 h antes de serem submetidos a leitura em espectrofotômetro micro-Raman para análise do GC. Os cps foram analisados em tempos IM (24 h) e 6M (6 meses de armazenamento em água).

A análise do GC na interface adesiva foi realizada *in situ* por um espectrofotômetro de Raman (BrukerOptikGmbH, Ettlingen, Baden-Württemberg, Alemanha) (Figura 8). O aparelho foi primeiramente calibrado por zero e então para os valores coeficientes foi usado uma amostra de silicone. As amostras foram analisadas sob os seguintes parâmetros: um laser de Neônio com 532 nm de comprimento de onda a 20 mW de potência, uma resolução espacial de $\approx 3 \mu\text{m}$, resolução espectral de $\approx 5 \text{ cm}^{-1}$, com 30 s de tempo de acumulação e 6 co-adições em magnificação de 100X (Olympus UK, London, UK) para um laser de $\approx 1 \mu\text{m}$ de diâmetro. Os espectros foram obtidos da interface adesiva de sítios randomizados na região da camada híbrida formada entre os túbulos dentinários (Figura 8). Uma imagem digital de cada sítio analisado foi obtida antes de cada aquisição. Dois sítios foram examinados para cada cp.

Para fins de comparação do GC, espectros dos adesivos não polimerizados foram realizados como referência. Após a aquisição dos espectros (Figura 8), os dados foram trabalhados utilizando o software Opus Spectroscopy (version 6.5, BrukerOptikGmbH, Ettlingen, Baden-Württemberg, Alemanha) para determinação dos valores da área integrada dos picos registrados. O grau de conversão de duplas ligações do monômero em polímero foi calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$GC \% = 1 - \left\{ \frac{I_{reat(p)} / I_{ref(p)}}{I_{reat(np)} / I_{ref(np)}} \right\} \times 100\%$$

Onde "I reat" refere-se aos valores integrados do pico reativo e "I ref" refere-se aos valores integrados do pico de referência, "p" e "np" referem-se a polimerizado e não polimerizado respectivamente. Os picos alifáticos e aromáticos empregados foram os 1639 cm^{-1} e 1609 cm^{-1} respectivamente (Miletic et al.¹⁰² 2009).

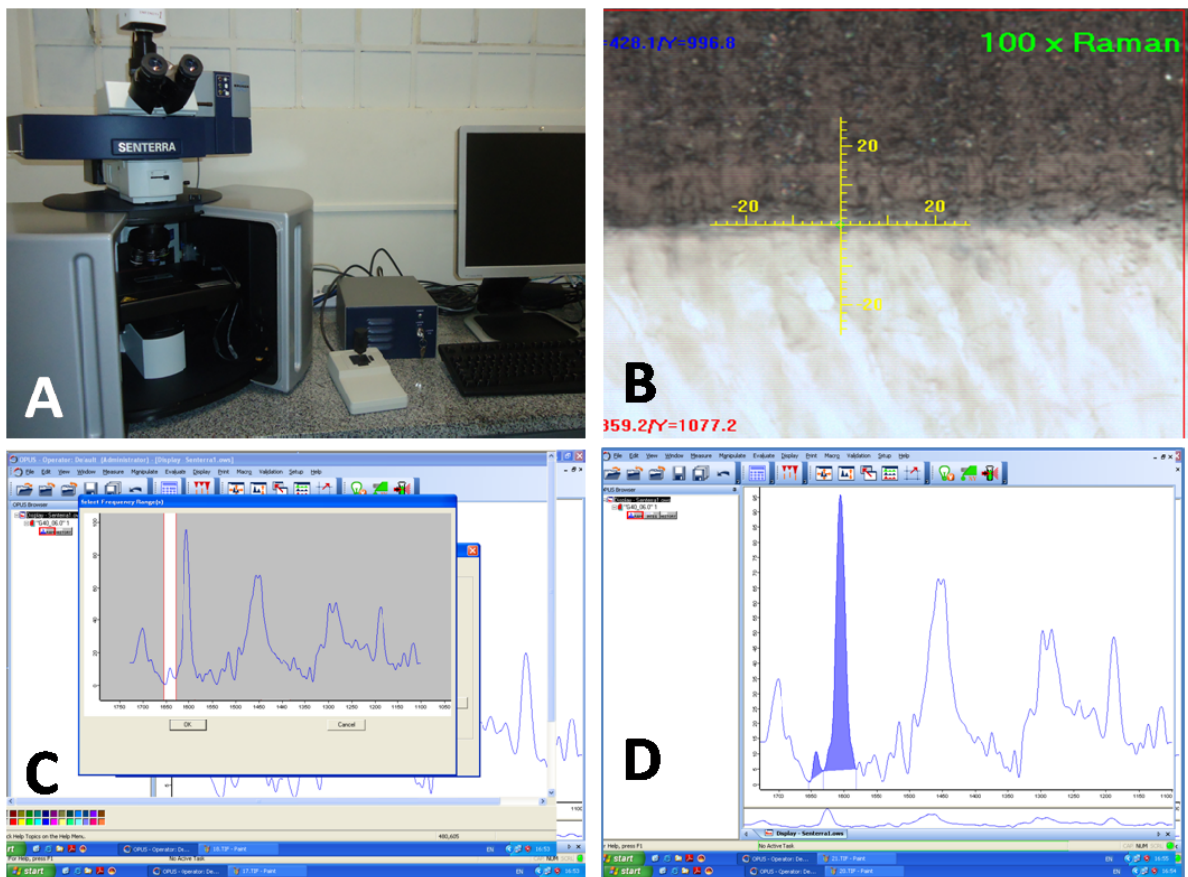


Figura 8. Análise do grau de conversão. A: espectrofotômetro micro-Raman; B: fotomicrografia da região intertubular analisada; C: espectro adquirido e localização dos picos de interesse; D: espectro integrado.

4.7 Análise estatística dos dados

As médias de RU (MPa), porcentagem NI e GC (%) de todos os cps do mesmo dente para cada condição experimental foram anotados e submetidos a uma análise de variância ANOVA de 3 fatores de medidas repetidas (adesivo x tempo de fotoativação x tempo de armazenamento) e teste de Tukey para comparação das médias com nível de significância pré-estabelecido em 5%.

5 RESULTADOS

Aproximadamente 35 cps no formato de “palitos” foram obtidos por cada dente incluindo os que sofreram falhas prematuras. A média da área de secção transversal de cada cp foi de aproximadamente $0,7 \pm 0,13 \text{ mm}^2$ e não houve diferença significativa entre os grupos ($p>0,05$). A percentagem de espécimes com perdas prematuras durante o seccionamento está apresentada na tabela 1. Poucos espécimes apresentaram falhas prematuras, exceção feita para o adesivo GO.

Para este material, um total de 22 dentes foram necessários ser restaurados para que pudéssemos obter um número relativo de cps para serem testados.

Tabela 1. Número e percentagem de espécimes (%) de acordo com o modo de fratura e perda prematura dos espécimes para cada condição experimental (*).

Tempo de fotoativação (s)	Adper Easy One			Clearfil S3Bond			Go		
	A/M	C	PP	A/M	C	PP	A/M	C	PP
10	158(83)	12(7)	19(10)	172(78)	3(1)	46(21)	22(7)	0(0)	245(93)
20	129(86)	7(5)	13(9)	117(72)	8(5)	37(23)	46(30)	8(6)	98(64)
40	94(86)	4(4)	11(10)	160(90)	8(4)	9(6)	53(38)	0(0)	88(62)

(*) **A/M** – Adesiva/Mista; **C** – Coesiva em Dentina ou Resina; **PP** – Espécimes perdidos prematuramente.

5.1 Resistência de União (RU)

As médias e os respectivos desvios-padrões do teste de RU de todas as condições experimentais estão apresentados na tabela 2. A análise de variância de 3 fatores detectou que houve significância estatística entre os fatores principais adesivo, tempo de fotoativação, tempo de armazenamento e interação

entre os fatores Adesivo x Tempo de fotoativação e Adesivo x Tempo de armazenamento ($p < 0,001$).

Tabela 2. Médias e desvios padrões (MPa) da resistência de união para cada condição experimental.

Tempo de fotoativação (s)	EO		CS3		GO	
	IM	6M	IM	6M	IM	6M
10	39,6 ± 4,0	27,8 ± 4,7	18,2 ± 4,1	16,2 ± 2,9	21,7 ± 3,5	13,2 ± 4,6
20	36,3 ± 3,8	31,2 ± 5,8	33,3 ± 3,7	30,2 ± 5,7	28,9 ± 4,4	14,6 ± 3,1
40	31,8 ± 2,8	25,2 ± 5,7	24,0 ± 3,8	26,2 ± 3,1	26,1 ± 4,0	15,0 ± 2,3

Os dados das interações entre os fatores Adesivo x Tempo de fotoativação e Adesivo x Tempo de armazenamento estão apresentados nas tabelas 3 e 4. O aumento do tempo de fotoativação aumentou significativamente os valores de RU somente para CS3 e não para EO e GO. Reduções dos valores de RU após 6 meses de armazenamento foram observados para EO e GO, mas não para CS3, independente do tempo de fotoativação.

Tabela 3. Médias e desvios padrões (MPa) dos valores de RU para as condições experimentais resultantes da combinação dos fatores Adesivo vs. Tempo de armazenamento.

	IM	6 M
EO	35,9 ± 4,7 a	28,0 ± 6,0 b
CS3	25,2 ± 7,3 b	24,2 ± 7,2 b
GO	25,6 ± 5,0 b	14,3 ± 3,7 c

(*) Grupos com mesma letra não apresentam diferença estatisticamente significativa (Teste de Tukey, $p > 0,05$).

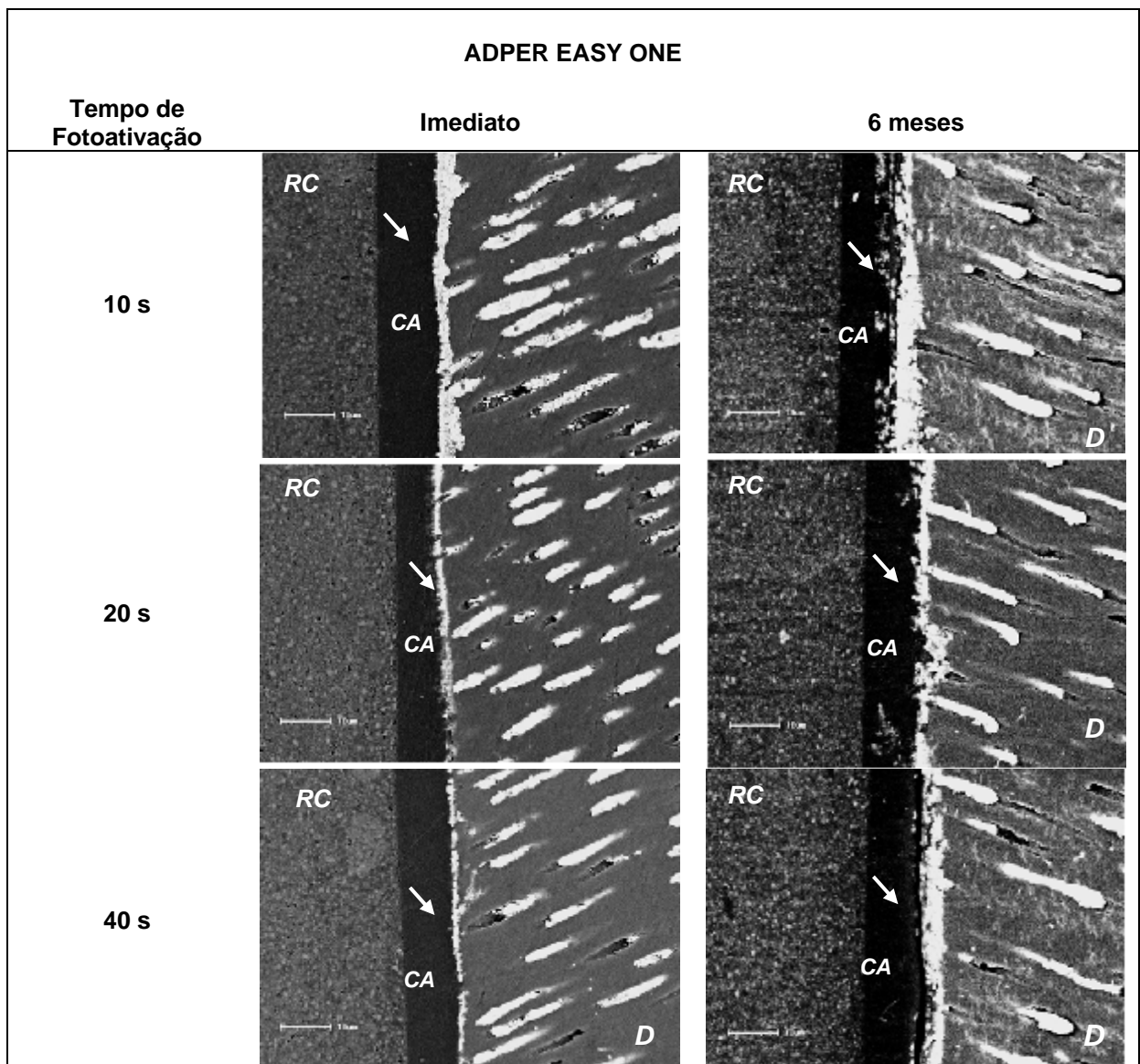
Tabela 4. Médias e desvios padrões (MPa) dos valores de RU para as condições experimentais resultantes da combinação dos fatores principais Adesivo vs. Tempo de fotoativação.

	10	20	40
EO	34,3 ± 7,2 a	34,0 ± 5,4 ab	28,9 ± 5,5 ab
CS3	17,3 ± 3,7 e	31,9 ± 4,9 ab	25,0 ± 3,7 dc
GO	17,9 ± 5,8 e	22,5 ± 8,1 bcde	21,2 ± 6,6 de

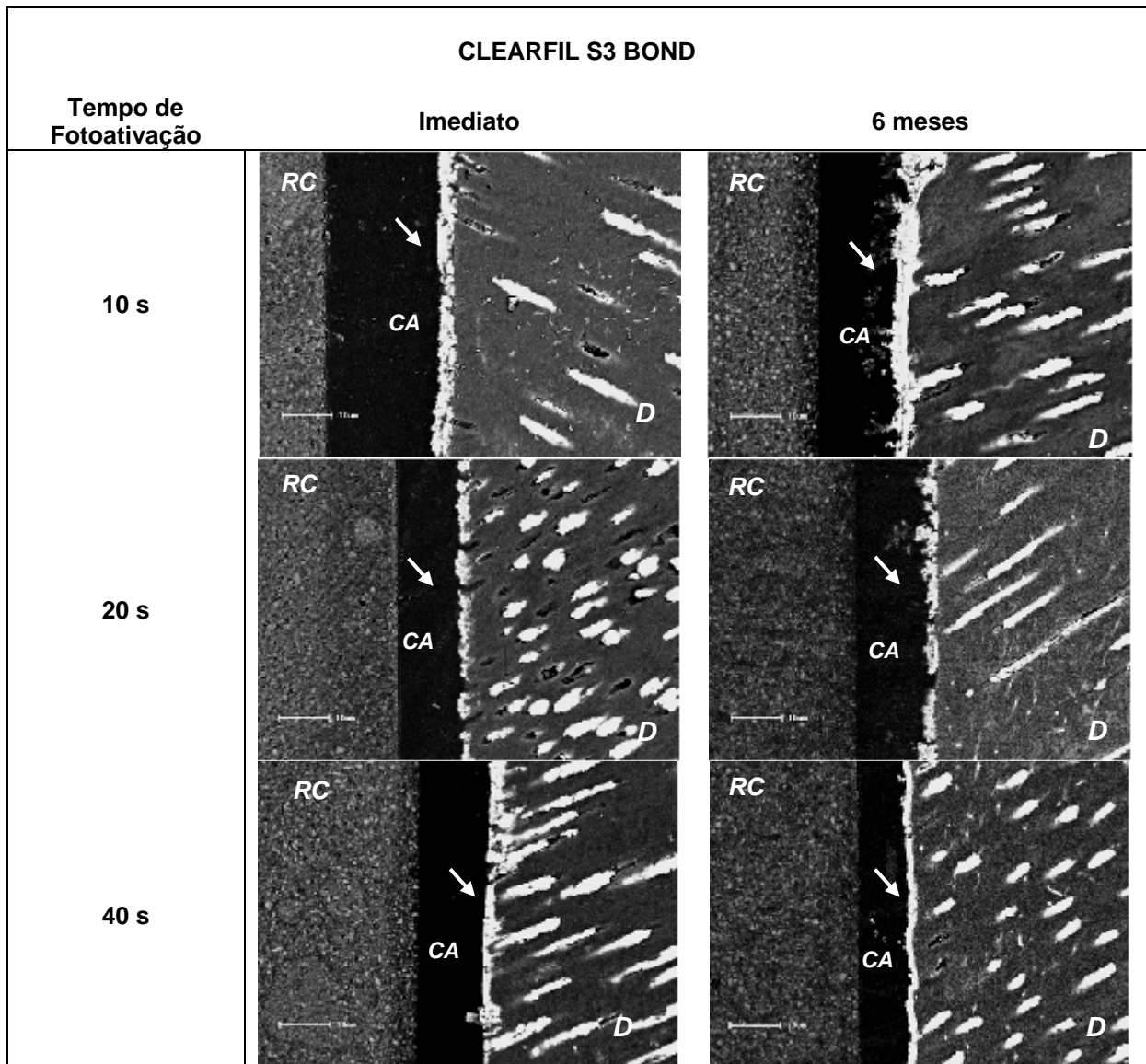
(*) Grupos com mesma letra não apresentam diferença estatisticamente significativa (Teste de Tukey, $p > 0,05$).

5.2 Nanoinfiltração (NI)

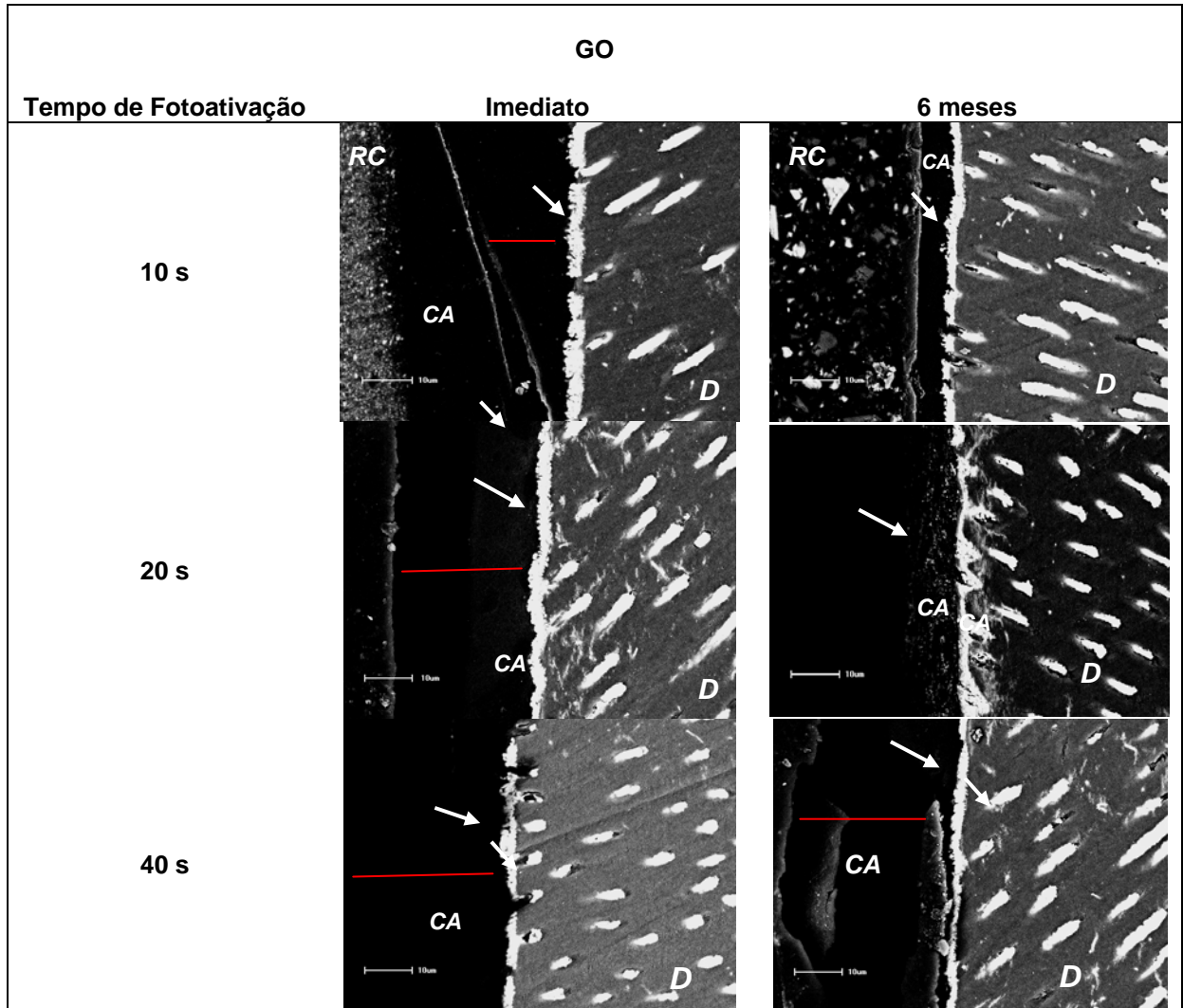
As fotomicrografias representativas de cada condição experimental, obtidas por MEV para análise da NI estão apresentadas nos quadros 2, 3 e 4. Os dados das médias e desvios padrões (%) de NI para todos os grupos experimentais estão apresentados na tabela 5. Os fatores principais Adesivo ($p=0,014$), Tempo de fotoativação ($p<0,001$), Tempo de armazenamento ($p<0,001$) e interação entre os fatores Adesivo x Tempo de armazenamento ($p=0,020$) foram estatisticamente significantes.



Quadro 2. Fotomicrografias representativas das imagens obtidas por MEV (1200X) do sistema EO para cada condição experimental. A deposição de nitrato de prata ocorreu praticamente na base da camada híbrida e está sendo indicada pelas setas. RC: resina composta; CA: camada adesiva; D: dentina.



Quadro 3. Fotomicrografias representativas das imagens obtidas por MEV (1200X) do sistema CS3 para cada condição experimental. A deposição de nitrato de prata ocorreu praticamente na base da camada híbrida e está sendo indicada pelas setas. RC: resina composta; CA: camada adesiva; D: dentina.



Quadro 4. Fotomicrografias representativas das imagens obtidas por MEV (1200X) do sistema Go para cada condição experimental. A deposição de nitrato de prata está sendo indicada pelas setas. RC: resina composta; CA: camada adesiva; D: dentina. A barra vermelha demonstra a ruptura da interface adesiva.

Tabela 5. Médias e respectivos desvios padrões (%) dos valores de nanoinfiltração obtidos em cada condição experimental.

Tempo de fotoativação (s)	EO		CS3		GO		Fator principal Tempo de fotoativação
	IM	6M	IM	6M	IM	6M	
10	15,2 ± 4,2	29,5 ± 14,2	12,3 ± 1,2	25,3 ± 8,3	32,4 ± 18,5	31,4 ± 14,3	24,8 ± 13,2 a
20	9,6 ± 4,4	14,8 ± 4,4	8,5 ± 1,4	15,7 ± 3,7	16,9 ± 13,3	13,3 ± 9,2	13,3 ± 7,5 b
40	9,3 ± 3,8	23,1 ± 2,2	6,4 ± 1,3	14,1 ± 3,5	16,7 ± 19,3	14,7 ± 7,1	13,5 ± 9,3 b

(*) Grupos com mesma letra não apresentam diferença estatisticamente significativa (Teste de Tukey, $p > 0,05$).

Com relação ao fator principal Tempo de fotoativação (Tabela 5), um grau similar de NI (%) foi observado nos tempos de fotoativação de 20 s ($13,3 \pm 7,5$) e 40 s ($13,5 \pm 9,3$) ($p > 0,05$), os quais foram estatisticamente menores que os valores observados no tempo 10 s ($24,8 \pm 13,2$) ($p > 0,05$). As médias dos valores de nanoinfiltração (%) da interação entre os fatores Adesivo x Tempo de armazenamento estão apresentados na tabela 6. Um aumento nos valores de NI do tempo IM para 6M foi observado para EO e CS3 ($p < 0,05$), mas não para o adesivo GO ($p > 0,05$), já que este último material apresentou um grau de NI no tempo IM bem maior que os outros materiais.

Tabela 6. Médias e desvios padrões dos valores de NI (%) para a combinação dos fatores principais Adesivo vs. Tempo de armazenamento.

	IM	6 M
EO	11,5 ± 4,9 bc	22,5 ± 10,6 a
CS3	8,8 ± 2,8 c	18,5 ± 7,4 ab
GO	24,2 ± 19,1 a	19,7 ± 7,4 ab

(*) Grupos com a mesma letra não apresentam diferença estatisticamente significativa (Teste de Tukey, $p > 0,05$).

5.3 Grau de conversão (%)

As figuras 10 e 11 apresentam os espectros representativos dos sistemas adesivos não polimerizados e polimerizados na camada híbrida *in situ* em tempo imediato e após 6 meses de armazenamento respectivamente. O pico aromático 1609 cm^{-1} foi usado como padrão de referência. Após a reação de polimerização a intensidade do pico alifático 1639 cm^{-1} diminui à medida que as duplas ligações carbônicas foram convertidas em ligações simples durante o processo de polimerização.

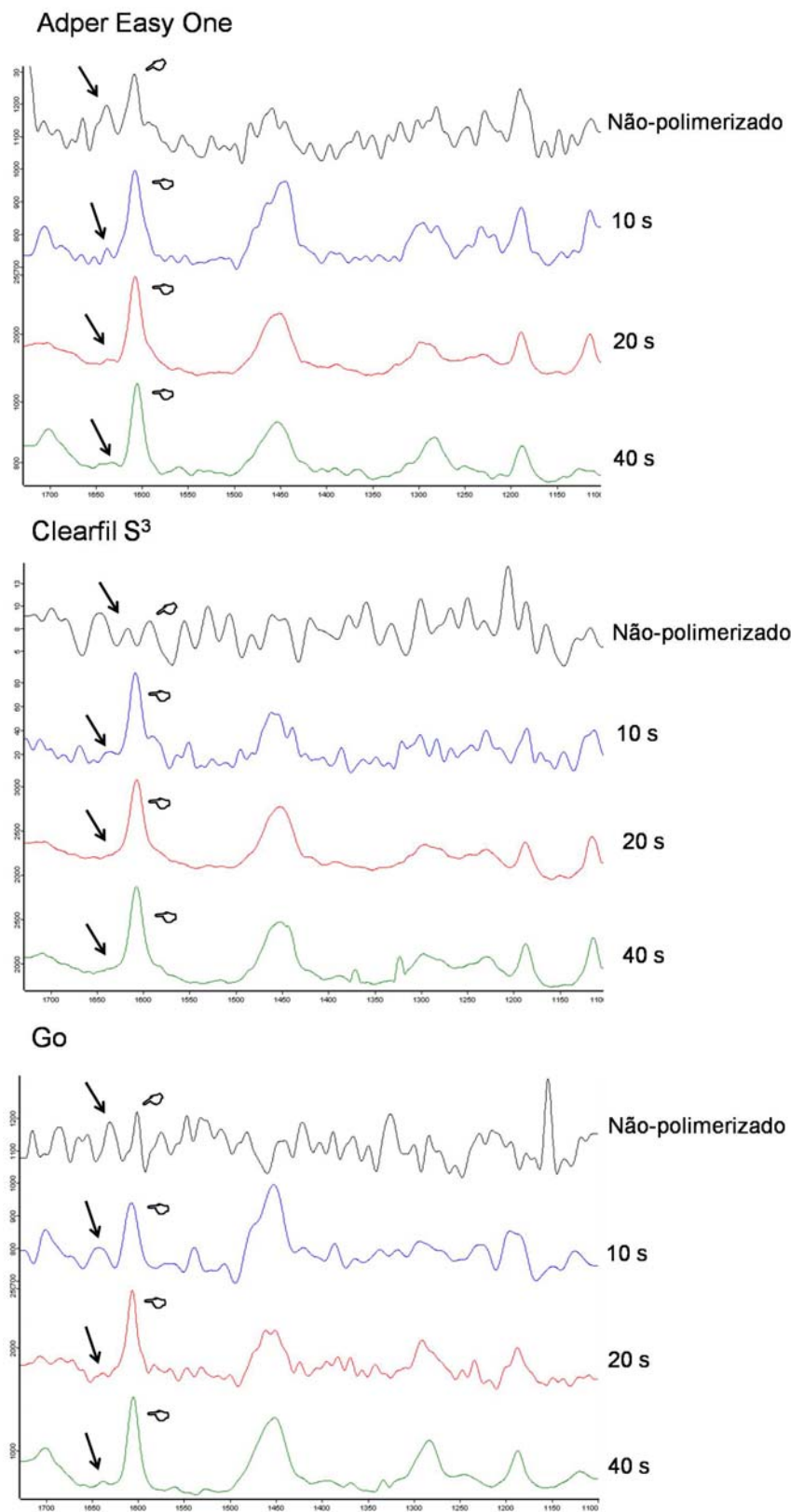
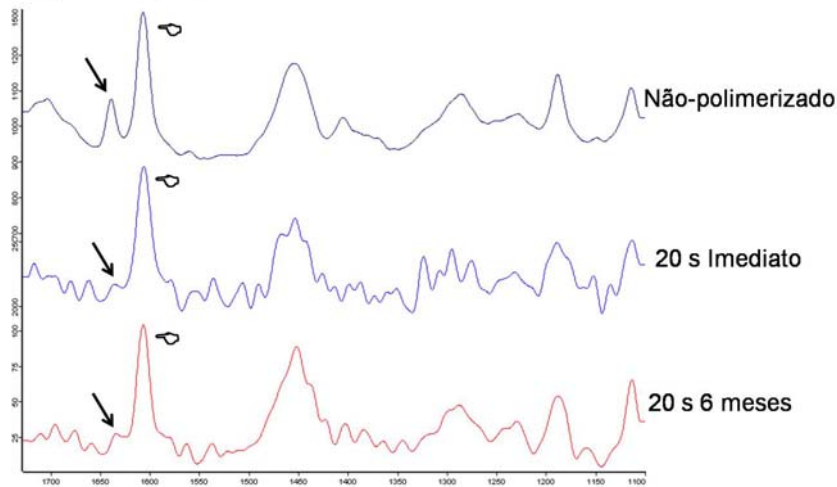
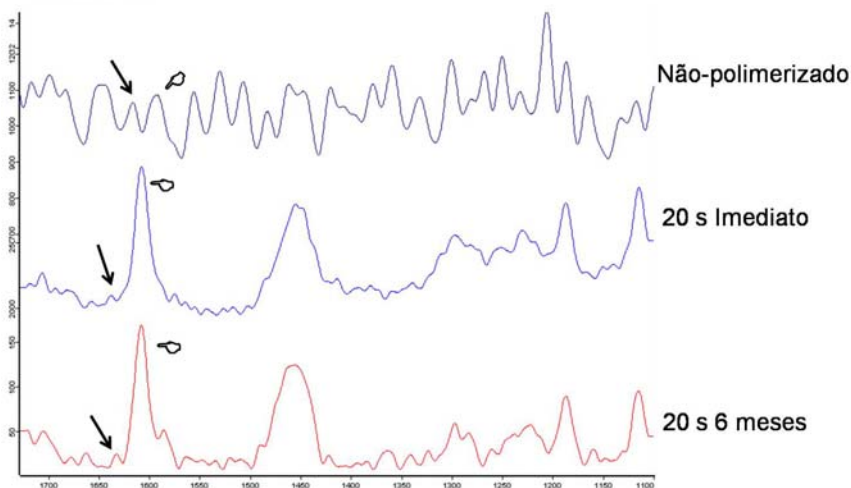


Figura 9. Espectros representativos obtidos dos sistemas adesivos não polimerizados e fotoativados na camada híbrida *in situ* em tempo imediato. O pico de referência 1609 cm^{-1} está indicado pelas setas, enquanto que o pico reativo 1639 cm^{-1} está indicado pelo *pointer*.

Adper Easy One



Clearfil S3



Go

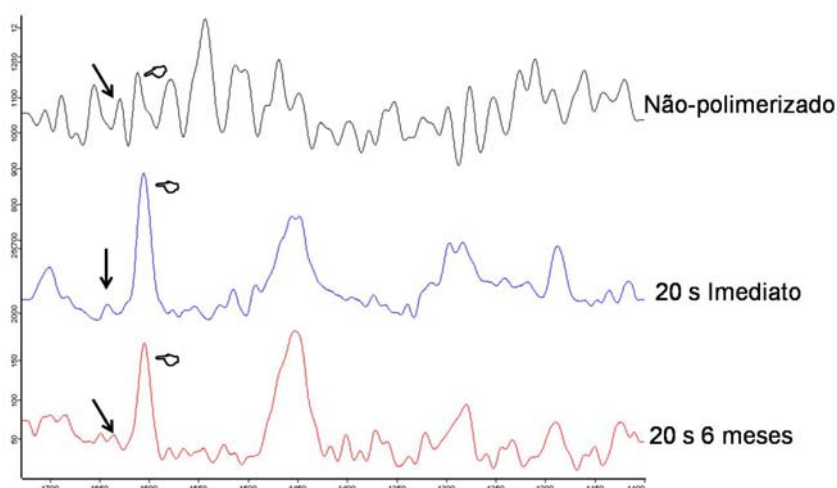


Figura 10. Espectros representativos obtidos dos sistemas adesivos não polimerizados e fotoativados por 20 s na camada híbrida *in situ* em tempo imediato e após 6 meses de armazenamento. O pico de referência 1609 cm^{-1} está indicado pelas setas, enquanto que o pico reativo 1639 cm^{-1} está indicado pelo pointer.

Os valores das médias do GC e desvios padrões estão apresentados na tabela 7. Somente os fatores principais Adesivo ($p < 0,001$) e Tempo de fotoativação ($p < 0,001$) foram estatisticamente significante. Os adesivos EO e CS3 apresentaram similar grau de conversão ($p > 0,05$), os quais foram estatisticamente maiores do que o observado para o adesivo GO ($p < 0,05$). Os tempos de fotoativação 20 e 40 s resultaram em maior GC do que no tempo 10 s ($p < 0,05$).

Tabela 7. Médias e respectivos desvios padrões do GC (%) para cada condição experimental e para os fatores principais Tempo de exposição e Adesivo.

Tempo de Fotoativação (s)	EO		CS3		GO		Fator principal Tempo de fotoativação**
	IM	6M	IM	6M	IM	6M	
10	74,2 ± 5,3	74,3 ± 20,4	76,2 ± 7,4	76,5 ± 16,4	51,9 ± 21,3	50,6 ± 17,0	67,3 ± 19,5 a
20	87,8 ± 3,5	85,0 ± 9,9	93,3 ± 3,0	88,0 ± 5,5	76,7 ± 8,4	76,7 ± 21,5	84,6 ± 12,3 b
40	89,3 ± 6,1	79,4 ± 17,1	86,4 ± 6,8	88,0 ± 10,8	79,6 ± 10,5	74,5 ± 15,8	82,9 ± 13,1 b
Fator principal adesivo*	81,7 ± 13,6 A		84,7 ± 11,3 A		68,4 ± 20,5 B		

*As mesmas letras maiúsculas indicam médias estatisticamente iguais ($\alpha=0,05$). * As mesmas letras minúsculas indicam médias estatisticamente iguais ($\alpha=0,05$).

6 DISCUSSÃO

Muitos estudos têm demonstrado que as propriedades físicas dos adesivos resinosos podem ter uma profunda influência na resistência de união (Reis et al.⁶ 2005, Bae et al.²⁴ 2005, Takahashi et al.⁸¹ 2002), contudo, além desses estudos serem realizados somente com sistemas autocondicionantes não-simplificados e experimentais (Reis et al.⁶ 2005, Bae et al.²⁴ 2005, Takahashi et al.⁸¹ 2002) e apesar de Hass e cols.¹⁴ (2011) usarem sistemas autocondicionantes de passo único, uma avaliação da longevidade da união após fotoativação prolongada ainda não havia sido reportada.

No presente estudo, o aumento do tempo de fotoativação resultou em uma melhora no GC *in situ* para todos os sistemas adesivos testados, embora essa melhora não tenha reduzido significativamente a degradação da interface de união para alguns dos sistemas testados. Desta forma, a hipótese nula foi parcialmente rejeitada, pois apesar de prolongados tempos de fotoativação (20 e 40 s) melhorarem o GC *in situ*, diminuírem a nanoinfiltração para todos os adesivos testados e reduzir o número de espécimes perdidos prematuramente (tabela 1), não foi observada uma melhora nos valores de resistência de união para 2 (EO e GO) dos 3 sistemas adesivos testados e também não preveniu a degradação da interface adesiva ao longo do tempo.

Já é reportado na literatura que apesar dos sistemas autocondicionantes simplificados apresentarem uma reduzida sensibilidade técnica e praticidade de uso, eles exibem baixos valores de resistência de união (Van Meerbeek et al.⁴ 2003) e um reduzido desempenho clínico quando comparado aos sistemas não-simplificados (Tay, Pashley⁵ 2003, De Munck et al.⁶⁹ 2005). A incompleta polimerização dos monômeros adesivos tem sido investigada como uma das razões para ocorrência de nanoinfiltração e diminuição da estabilidade na interface adesiva de sistemas autocondicionantes (Cadenaro et al.¹⁹ 2005, Nunes et al.²¹ 2006).

Conforme mencionado na introdução uma tentativa de melhorar a performance dos sistemas adesivos autocondicionantes e suas propriedades físicas,

foi através do aumento da eficácia da polimerização da camada adesiva (Cadenaro et al.¹⁹ 2005, Breschi et al.²⁶ 2007, Yamamoto et al.¹⁰⁸ 2006), contudo, nesses trabalhos a eficácia da polimerização foi realizada apenas numa condição *in vitro* e não *in situ* como nesse estudo.

Muitas razões podem ter colaborado para a melhoria do GC imediata dos adesivos, como a qualidade da polimerização e aumento da conversão de monômeros em polímeros. Isto aumenta a capacidade de selamento da camada híbrida conseqüentemente diminuindo a porosidade e nanoinfiltração (Breschi et al.²⁶ 2007). Contudo, é comum esperarmos uma relação direta entre GC e resistência de união (Ferreira et al.¹³ 2011) assim como entre resistência de união e nanoinfiltração. A relação entre a resistência de união e gaps/infiltração é pobremente compreendida. Alguns estudos têm tentado correlacionar resultados de gaps/infiltração com os valores de resistência de união e esses resultados são controversos (Cenci et al.¹¹³ 2005, Ding et al.¹¹⁴ 2009, Guzman-Armstrong et al.¹¹⁵ 2003, Loguercio et al.¹¹⁶ 2004, Stanislawczuk et al.¹¹⁷ 2009).

Diferentemente de outros estudos os quais diminuíram os valores de permeabilidade de filmes de adesivo aumentando o tempo de exposição como Cadenaro et al.¹⁹ (2005) e Breschi et al.²⁶ (2007), este estudo verificou uma diminuição da nanoinfiltração no interior da camada híbrida com o aumento do GC. Apesar de esses estudos avaliarem a capacidade de selamento através de diferentes metodologias (Cadenaro et al.¹⁹ 2005, Breschi et al.²⁶ 2007), as razões que podem ter contribuído para as melhoras observadas podem ser as mesmas. Prolongando o tempo de fotoativação, melhoramos a qualidade e integridade do polímero formado, aumentamos a capacidade de selamento, pois maior quantidade de energia (fótons) para os fotoiniciadores estará disponível, e estes reagem com uma amina para produzir radicais livres, fato importante para o processo de polimerização (Peutzfeldt¹¹⁸ 1997). Isto pode colaborar para a boa formação estrutural polimérica provavelmente resultando na melhor qualidade do polímero formado.

Contudo, é muito importante considerar fatores como a formulação do sistema adesivo (Breschi et al.²⁶ 2007). Conforme pudemos observar nos resultados do presente estudo o adesivo GO apresentou os piores valores de grau

de conversão. Ao contrário de CS3 e EO, GO apresentou menor GC e alta nanoinfiltração, o que pode ser resultante da pobre polimerização sofrida por esse adesivo. Nas figuras 9 e 10 pode-se notara presença do pico alifático remanescente (1640 cm^{-1}) mesmo em condições de fotoativação prolongada. Esta conversão reduzida pode ter sido responsável pelo maior porcentual de nanoinfiltração deste material no tempo imediato.e pela maior fragilidade da interface de união, uma vez que um grande número de espécimes foram necessários para conseguir mensurar as propriedades avaliadas neste estudo.

Muitas razões podem ter contribuído para essa polimerização deficiente, entre elas o tipo e quantidade de solvente presente na formulação de GO. De acordo com Van Landuyt, et al.⁵⁸ 2007 o máximo de absorção de energia pelo fotoiniciador num determinado comprimento de onda pode variar dependendo do solvente no qual esse fotoiniciador é dissolvido. Dentre os materiais avaliados, o GO é o único sistema adesivo que contém acetona e água como solvente. Como a acetona apresenta menor temperatura de ebulição ($56,5^{\circ}\text{C}$) e maior pressão de vapor (200 mmHg) que outros solventes comumente empregados como o etanol ($78,3^{\circ}\text{C}/43,9\text{ mmHg}$) e água ($100^{\circ}\text{C}/17,5\text{ mmHg}$)(Abate et al.¹¹⁹ 2000), a camada adesiva de sistemas a base de acetona após a evaporação podem ser mais finas do que as camadas formadas por materiais a base de outros solventes, como previamente demonstrado (Cho, Dickens⁶⁶ 2004).

A camada adesiva mais fina é mais suscetível à inibição pelo oxigênio durante a polimerização, a qual também pode ser uma das razões para o baixo desempenho desse material. Alguns sugeriram que $20\text{ }\mu\text{m}$ como a espessura mínima para impedir a inibição pelo oxigênio durante a polimerização (Rueggeberg, Margeson¹²⁰ 1990). Isto reduz a resistência devido à formação de fendas interfaciais na camada híbrida/camada adesiva ou na camada adesiva/resina composta em espécimes confeccionados com formulações rica em acetona. Além disto, altos conteúdos de acetona nas soluções adesivas podem, na etapa de evaporação, deixar solvente residual no adesivo, o qual pode contribuir para formação de poros na camada adesiva polimerizada (Cho, Dickens⁶⁶ 2004), levando a maior grau de nanoinfiltração e reduzido GC e resistência de união.

De fato, altas concentrações de solvente diluído no líquido adesivo podem prevenir a aproximação entre moléculas reativas, fazendo com que a reação de formação estrutural do polímero dentro da camada híbrida seja dificultada (Loguercio et al.⁷⁹ 2009, Ye et al.⁸⁰ 2007). Então, ao invés de se formar um polímero denso, a estrutura polimérica pode ser bastante porosa em função da presença do solvente durante a polimerização. A presença de solventes afeta a resistência coesiva do adesivo em si (Loguercio et al.⁷⁹ 2009) e também reduz a resistência de união da interface de união (Reis et al.⁶ 2005, Hass et al.¹⁴ 2011, Takahashi et al.⁸¹ 2002).

Altos valores de GC foram obtidos para CS3 e EO, sendo que esses valores aumentaram com maiores tempos de fotoativação. Isto pode também ser verificado nas figuras 9 e 10, que mostra uma mínima intensidade do pico alifático remanescente (1640 cm^{-1}) após fotoativação prolongada. Como resultado desta melhor conversão, menores valores de nanoinfiltração foram obtidos para esses dois sistemas principalmente nos tempos de fotoativação prolongados.

Apesar de tempos de fotoativação prolongados aumentar o GC para o adesivo EO, não houve melhora nos valores de resistência de união como observado o CS3. Além disto, contrariamente ao CS3, uma degradação dos valores de RU foi observada para o EO. A polimerização dos monômeros resinosos é um processo complexo de difusão controlada e depende de diversos parâmetros, como a formulação monomérica, a reatividade desses monômeros, tipo e quantidade de fotoiniciadores, grau de polimerização e tempo de exposição (Yamamoto et al.¹⁰⁸ 2006). Além da presença de canforoquinona, o sistema EO apresenta em sua formulação a presença do fotoiniciador TPO (2,4,6-trimetilbenzoil difenil óxido de fosfina). Este sistema fotoiniciador pertence a um grupo de fotoiniciadores por fotofragmentação para o processo de polimerização por radicais livres. Como todos os óxidos de fosfina, o TPO tem uma forte absorção próxima à luz visível também se estendendo pouco além do espectro de luz visível. Em vantagens à canforoquinona, o TPO tem coloração neutra. Contudo, por apresentar três grupamentos fenil, o TPO é uma molécula hidrofóbica que o torna menos estável em sistemas adesivos que contém água em sua composição como o adesivo EO (Van Landuyt et al.⁵⁹ 2007). Assim, a estabilidade dos óxidos de fosfina não é garantida na presença de água e etanol (Moszner et al.¹²¹ 2005). Como a longevidade das interfaces adesivas

depende da estabilidade dos componentes da camada híbrida, isso pode ter contribuído para uma maior susceptibilidade à degradação da interface adesiva produzida por EO.

O teste de resistência de união por microtração é uma metodologia que possui muitas vantagens para mensuração de resistência da interface adesiva por considerar irregularidades, particularidades e áreas muito pequenas (Takahashi et al.⁸¹ 2002). Novamente, a presença de interações significativas entre os fatores principais deste estudo nos indica que a estabilidade da camada híbrida depende da resistência intrínseca dos seus componentes individuais (Van Meerbeek et al.⁴ 2003, Breschi et al.²⁰ 2008, Sano⁷² 2006).

Dos três adesivos avaliados, apenas o CS3 melhorou seus valores de RU com o aumento do tempo de fotoativação. Além disto, este sistema mostrou maior estabilidade da interface adesiva, pois não apresentou degradação dos valores de RU após 6 meses de armazenamento em água. Diferentemente do EO e GO, o adesivo CS3 possui partículas de sílica coloidal silanizadas, que pode ter contribuído para uma maior integridade e estabilidade do polímero formado (Sideridou et al.¹²² 2002). Além disto, o CS3 também apresenta em sua formulação o 10-MDP (10-metacriloiloxidecil dihidrogenofosfato) que é um monômero ácido considerado relativamente mais estável à hidrólise (Van Landuyt et al.⁵⁹ 2007). Este monômero por possuir longas cadeias carbônicas torna-se totalmente hidrofóbico após polimerização. Como o polímero formado não possui afinidade com a água, ele se torna mais estável à hidrólise. Também como vantagem, esse monômero é capaz de formar fortes ligações iônicas com o cálcio, promovendo uma união química com a hidroxiapatita do esmalte ou dentina (Yoshida et al.¹²³ 2004).

A característica hidrofílica dos sistemas autocondicionantes é inerente a própria estratégia de união e apesar de diversos protocolos de evaporação de solvente serem recomendados por muitos fabricantes, a completa evaporação do solvente é uma etapa crítica, se não impossível, especialmente para misturas altamente hidrofílicas (Yiu et al.¹⁰ 2005, Carvalho et al.⁷⁸ 2003) podendo interferir no processo de polimerização. A incompleta polimerização e a natureza ácida dos sistemas autocondicionantes, associados à água retida no interior dos túbulos dentinários tornam a camada híbrida formada por esses sistemas

susceptível a um contínuo condicionamento pela incompleta cura dos monômeros acídicos durante o armazenamento em água (Armstrong et al.¹²⁴ 2004). A maior hidrofiliabilidade do material e a sorção de água resultam na degradação hidrolítica (Malacarne et al.¹⁶ 2006, Reis et al.⁶⁴ 2007, Reis et al.¹²⁵ 2007) contribuindo para a criação de uma camada híbrida permeável não somente à água do ambiente oral, mas também permeável ao fluxo de água dos túbulos dentinários (Chersoni et al.¹⁸ 2004).

A degradação do componente resinoso é um dos fatores responsáveis pela redução dos valores de resistência de união observados ao longo do tempo de armazenamento em água. A absorção de água pelo polímero atua como um agente plastificador, alterando parcialmente a energia de coesão das cadeias poliméricas (Ferracane⁷⁶ 2006, Jacobsen, Söderholm¹²⁶ 1995). No início, a presença da água causa a diminuição prematura das propriedades mecânicas do polímero (Carrilho et al.¹⁰⁴ 2005), que com o passar do tempo resulta em hidrólise de suas moléculas, condenando sua estrutura. Assim a degradação ao longo do tempo é um fator que ainda pode ser considerado um limitante para os sistemas autocondicionantes simplificados, uma vez que mesmo empregando protocolos com tempos de fotoativação prolongados não foi possível prevenir a degradação da interface de união após 6 meses de armazenamento em água.

7 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos conclui-se que prolongados tempos de fotoativação melhoram o grau de conversão dentro da camada híbrida e reduzem a nanoinfiltração para sistemas autocondicionantes simplificados, porém não são capazes de prevenir a degradação da interface adesiva ao longo do tempo.

REFERÊNCIAS

1. Nakabayashi M, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into the substrates. *J Biomed Mater Res.* 1982 May;16(3):265-73.
2. Kanca J. Effect of resin primer solvents and surface wetness on resin composite bond strength to dentin. *Am J Dent.* 1992 Aug;5(4):213-5.
3. Kanca J. III. Resin bonding to wet substrate. 1. Bonding to dentin. *Quintessence Int.* 1992 Sep;23(9):625-7.
4. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent.* 2003;28(3):215-35.
5. Tay FR, Pashley DH. Have dentin adhesives become too hydrophilic? *J Can Dent Assoc.* 2003 Dec;69(11):726-31.
6. Reis A, Grandi V, Carlotto L, Bortoli G, Patzlaff R, Accorinte M, 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.
7. Martins GC, Calixto AL, Gomes OMM, Loguercio AD, D'Alpino PHP, Reis A. Effect of water storage on resin-dentin bond strengths formed by different bonding approaches. *Indian J Dent Res.* 2009;20(4):431-6.
8. Navarra CO, Cadenaro M, Codan B, Mazzoni A, Sergio V, De Stefano Dorigo E, et al. Degree of conversion and interfacial nanoleakage expression of three one-step self-etch adhesives. *Eur J Oral Sci.* 2009 Aug;117(4):463-9.
9. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res.* 2000 Jun;79(6):1385-91.
10. Yiu C, Pashley E, Hiraishi N, King N, Goracci C, Ferrari M, et al. Solvent and water retention in dental adhesive blends after evaporation. *Biomaterials.* 2005;26(34):6863-72.
11. Pashley EL, Zhang Y, Lockwood PE, Rueggeberg FA, Pashley DH. Effects of HEMA on water evaporation from water-HEMA mixtures. *Dent Mater.* 1998;14(1):6-10.
12. Pashley E, Agee K, Pashley D, Tay F. Effects of one versus two applications of an unfilled, all-in-one adhesive on dentine bonding. *J Dent.* 2002;30(2):83-90.
13. Ferreira SQ, Costa TR, Klein-Junior CA, Accorinte M, Meier MM, Loguercio AD, et al. Improvement of exposure times: effects on adhesive properties and resin-dentin bond strengths of etch-and-rinse adhesives. *J Adhes Dent.* 2011 Jun;13(3):235-41.

14. Hass V, Folkuenig MS, Reis A, Loguercio AD. Influence of Adhesive Properties on Resin-Dentin Bond Strength of One-step Self-etching Adhesives. *J Adhes Dent*. 2011 Oct;13(5):417-24.
15. Reis A, Ferreira SQ, Costa TR, Klein-Junior CA, Meier MM, Loguercio AD. Effects of increased exposure times of simplified etch-and-rinse adhesives on the degradation of resin-dentin bonds and quality of the polymer network. *Eur J Oral Sci*. 2010 Oct;118(5):502-9.
16. Malacarne J, Carvalho RM, de Goes MF, Svizero N, Pashley DH, Tay FR, et al. Water sorption/solubility of dental adhesive resins. *Dent Mater*. 2006 Oct;22(10):973-80.
17. Ito S, Hashimoto M, Wadgaonkar B, Svizero N, Carvalho RM, Yiu C, et al. Effects of resin hydrophilicity on water sorption and changes in modulus of elasticity. *Biomaterials*. 2005 Nov;26(33):6449-59.
18. Chersoni S, Suppa P, Breschi L, Ferrari M, Tay FR, Pashley DH, et al. Water movement in the hybrid layer after different dentin treatments. *Dent Mater*. 2004 Nov;20(9):796-803.
19. Cadenaro M, Antonioli F, Sauro S, Tay FR, Di Lenarda R, Prati C, et al. Degree of conversion and permeability of dental adhesives. *Eur J Oral Sci*. 2005 Dec;113(6):525-30.
20. 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 Jan;24(1):90-101.
21. Nunes TG, Garcia FC, Osorio R, Carvalho RM, Toledano M. Polymerization efficacy of simplified adhesive systems studied by NMR and MRI techniques. *Dent Mater*. 2006 Oct;22(10):963-72.
22. Eick J, Gwinnet A, Pashley D, Robinson S. Current concepts on adhesion to dentin. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1997;8(3):306-35.
23. Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Itthagarun A. Single-step adhesives are permeable membranes. *J Dent*. 2002;30(7):371-82.
24. Bae JH, Cho BH, Kim JS, Kim MS, Lee IB, Son HH, et al. Adhesive layer properties as a determinant of dentin bond strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2005 Aug;74(2):822-8.
25. Sasaki N, Okuda K, Kato T, Kakishima H, Okuma H, Abe K, et al. Salivary bisphenol-A levels detected by ELISA after restoration with composite resin. *J Mater Sci Mater Med*. 2005 Apr;16(4):297-300.
26. Breschi L, Cadenaro M, Antonioli F, Sauro S, Biasotto M, Prati C, et al. Polymerization kinetics of dental adhesives cured with LED: Correlation between extent of conversion and permeability. *Dent Mater*. 2007;23(9):1066-72.
27. Tanimoto Y, Hayakawa T, Nemoto K. Analysis of photopolymerization behavior of UDMA/TEGDMA resin mixture and its composite by differential scanning calorimetry. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2005 Feb 15;72(2):310-5.

28. Imazato S, McCabe JF, Tarumi H, Ehara A, Ebisu S. Degree of conversion of composites measured by DTA and FTIR. *Dent Mater.* 2001 Mar;17(2):178-83.
29. Maffezzoli A, Terzi A. Thermal analysis of visible-light activated dental composites. *Thermochim Acta.* 1995;269:319-35.
30. Yap AU, Soh MS, Siow KS. Effectiveness of composite cure with pulse activation and soft-start polymerization. *Oper Dent.* 2002 Jan-Feb;27(1):44-9.
31. Ferracane JL. Correlation between hardness and degree of conversion during the setting reaction of unfilled dental restorative resins. *Dent Mater.* 1985 Feb;1(1):11-4.
32. Ferracane JL, Greener EH. Fourier transform infrared analysis of degree of polymerization in unfilled resins--methods comparison. *J Dent Res.* 1984 Aug;63(8):1093-5.
33. Pashley EL, Agee KA, Pashley DH, Tay FR. Effects of one versus two applications of an unfilled, all-in-one adhesive on dentine bonding. *J Dent.* 2002 Feb-Mar;30(2-3):83-90.
34. Wang Y, Spencer P, Xiaomei Y. Micro-Raman imaging analysis of monomer/mineral distribution in intertubular region of adhesive/dentin interfaces. *J Biomed Opt.* 2006;11(2):24005-1-7.
35. Wang Y, Spencer P. Continuing etching of an all-in-one adhesive in wet dentin tubules. *J Dent Res.* 2005 Apr;84(4):350-4.
36. Miyazaki M, Onose H, Lida N, Kazama H. Determination of residual double bonds in resin-dentin interface by Raman spectroscopy. *Dent Mater.* 2003 May;19(3):245-51.
37. Tarle Z, Knezevic A, Demoli N, Meniga A, Sutalo J, Unterbrink G, et al. Comparison of composite curing parameters: effects of light source and curing mode on conversion, temperature rise and polymerization shrinkage. *Oper Dent.* 2006 Mar-Apr;31(2):219-26.
38. Tarle Z, Meniga A, Knezevic A, Sutalo J, Ristic M, Pichler G. Composite conversion and temperature rise using a conventional, plasma arc, and an experimental blue LED curing unit. *J Oral Rehabil.* 2002 Jul;29(7):662-7.
39. Black G. *A work on Operative Dentistry.* Chicago: The Medico-Dental Publ Co; 1908.
40. Tyas M, Anusavice K, Frencken J, Mount G. Minimal intervention dentistry--a review. FDI Commission Project 1-97. *Int Dent J.* 2000;50(1):1-12.
41. Reis A, Loguercio A. *Materiais Dentários Diretos - dos Fundamentos à Aplicação Clínica.* São Paulo: Editora Santos; 2007.
42. Reis AF, Pereira PNR, Giannini M. *Sistemas Adesivos: Atualidades e Perspectivas.* São Paulo: APCD; 2007.

43. Perdigão J. New developments in dental adhesion. *Dent Clin North Am.* 2007;51(2):333-57.
44. Lopes GC, Baratieri LN, de Andrada MA, Vieira LC. Dental adhesion: present state of the art and future perspectives. *Quintessence Int.* 2002 Mar;33(3):213-24.
45. Swift EJ, Jr., Perdigao J, Heymann HO. Bonding to enamel and dentin: a brief history and state of the art, 1995. *Quintessence Int.* 1995 Feb;26(2):95-110.
46. Tay FR, Pashley DH. Dental adhesives of the future. *J Adhes Dent.* 2002;4(91-103).
47. Carvalho RM, Carrilho MRdO, Pereira LCG, Garcia FCP, Marquesini LJ, Silva SMD, et al. Sistemas adesivos: fundamentos para a compreensão de sua aplicação e desempenho em clínica. *Biodonto.* 2004;2(1):1-89.
48. Spencer P, Wang Y, Walker M, Wieliczka D, Swafford J. Interfacial Chemistry of the Dentin/Adhesive Bond. *J Dent Res.* 2000;79(7):1458-63.
49. Wang Y, Spencer P. Hybridization efficiency of the adhesive dentin interface with wet bonding. *J Dent Res.* 2003;82(2):141-5.
50. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Sano H, Endo K, Oguchi H. Fractured surface characterization: wet vs dry bond. *Dent Mater.* 2002;18(2):95-102.
51. Pioch T, Staehle HJ, Schneider H, Duschner H, Dorfer CE. The nanoleakage phenomenon: influence of moist vs dry bonding. *J Adhes Dent.* 2002;4(1):23030.
52. Miyazaki M, Onose H, Moore B. Analysis of the dentin-resin interface by use of laser Raman spectroscopy. *Dent Mater.* 2002 Dec;18(8):576-80.
53. Hashimoto M, Ohno H, Endo K, Kaga M, Sano H, Oguchi H. The effect of hybrid layer thickness on bond strength: demineralized dentin zone of the hybrid layer. *Dent Mater.* 2000;16(6):406-11.
54. Okuda K, Pereira PNR, 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.
55. Burrow MF, Tagami J, Hosoda H. The long-term durability of bond strength to dentin. *Bull Tokyo Med Dent Univ.* 1993 Dec;40(4):173-91.
56. 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 Sep;24(21):3795-803.
57. Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner J, Matthews W, Pashley DH. Nanoleakage: Leakage within the hybrid layer. *Oper Dent.* 1995;20(1):18-25.
58. Carvalho RM, Chersoni S, Frankenberger R, Pashley DH, Prati C, Tay FR. A challenge to the conventional wisdom that simultaneous etching and resin infiltration always occurs in self-etch adhesives. *Biomaterials.* 2005 Mar;26(9):1035-42.

59. Van Landuyt KL, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin Aea. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*. 2007 Sep;28(26):3757-85.
60. Maciel KT, Carvalho RM, Ringle RD, Preston CD, Russell CM, Pashley DH. The effects of acetone, ethanol, HEMA, and air on the stiffness of human decalcified dentin matrix *J Dent Res*. 1996;75(11):1851-8.
61. Eddleston CL, Hindle AR, Agee K, Carvalho RM, Tay FR, Rueggeberg FA, et al. Dimensional changes in acid-demineralized dentin matrices following the use of HEMA-water versus HEMA-alcohol primers. *J Biomed Mater Res*. 2003;Part A 67(3):900-7.
62. Dal-Bianco K, Pellizzaro A, Patzlaff R, de Oliveira Bauer J, Loguercio AD, Reis A. Effects of moisture degree and rubbing action on the immediate resin-dentin bond strength. *Dent Mater*. 2006;22(12):1150-6.
63. Itou K, Torii Y, Takimura T, Chikami K, Ishikawa K, Suzuki K. Effect of priming time and tensile bond strength to bovine and morphologic structure of interfaces created by self-etching primers. *J Prosthet Dent*. 2001;14(3):225-30.
64. Reis AF, Giannini M, Pereira PNR. Influence of water-storage time on the sorption and solubility behavior of current adhesives and primer/adhesive mixtures. *Oper Dent*. 2007;32(1):53-9.
65. Paul SJ, Leach M, Rueggeberg FA, Pashley DH. Effect of water content on the physical properties of model dentine primer and bonding resins. *J Dent*. 1999;27(3):209-14.
66. Cho BH, Dickens SH. Effects of the acetone content of single solution dentin bonding agents on the adhesive layer thickness and the microtensile bond strength. *Dent Mater*. 2004 Feb;20(2):107-15.
67. Dickens SH, Cho BH. Interpretation of bond failure through conversion and residual solvent measurements and Weibull analyses of flexural and microtensile bond strengths of bonding agents. *Dent Mater*. 2005 Apr;21(4.):354-64.
68. Hashimoto M, Sano H, Yoshida E, Hori M, Kaga M, Oguchi H, et al. Effects of multiple adhesive coatings on dentin bonding. *Oper Dent*. 2004 Jul-Aug;29(4):416-23.
69. 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 Feb;84(2):118-32.
70. Heintze SD, Ruffieux C, Rousson V. Clinical performance of cervical restorations--a meta-analysis. *Dent Mater*. 2010 Oct;26(10):993-1000.
71. Peumans M, Kanumilli P, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Braem Mea. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: A systematic review of current clinical trials. *Dent Mater*. 2005 Sep;21(9):864-81.
72. Sano H. Microtensile testing, nanoleakage, and biodegradation of resin-dentin bonds. *J Dent Res*. 2006;85(1):11-4.

73. Wang Y, Spencer P. Physicochemical interactions at the interfaces between self-etch adhesives systems and dentin. *J Dent*. 2004 Sep;32(7):567-79.
74. Breschi L, Prati C, Gobbi P, Pashley DH, Mazzotti G, Teti G, et al. Immunohistochemical analysis of collagen fibrils within the hybrid layer: a FEISEM study. *Oper Dent*. 2004;29(5):538-46.
75. Hashimoto M, Fujita S, Nagano F, Ohno H, Endo K. Ten-years degradation of resin-dentin bonds. *Eur J Oral Sci*. 2010;118(4):404-10.
76. Ferracane JL. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks *Dent Mater*. 2006;22(3):211-22.
77. Malacarne-Zanon J, Pashley DH, Agee KA, Foulger S, Alves MC, Breschi L, et al. Effects of ethanol addition on the water sorption/solubility and percent conversion of comonomers in model dental adhesives. *Dent Mater*. 2009 Oct;25(10):1275-84.
78. Carvalho RM, Mendonça JS, Santiago SL, Silveira RR, Garcia FC, Tay FR, et al. Effects of HEMA/solvent combinations on bond strength to dentin. *J Dent Res*. 2003;82(8):597-601.
79. Loguercio AD, Loeblein F, Cherobin T, Ogliari F, Piva E, Reis A. Effect of solvent removal on adhesive properties of simplified etch-and-rinse systems and on bond strengths to dry and wet dentin. *J Adhes Dent*. 2009 Jun;11(3):213-9.
80. Ye Q, Spencer P, Wang Y, Misra A. Relationship of solvent to the photopolymerization process, properties, and structure in model dentin adhesives. *J Biomed Mater Res A*. 2007 Feb;80(2):342-50.
81. Takahashi H, Sato H, Uno S, Pereira PN, Sano H. Effects of mechanical properties of adhesive resins on bond strength to dentin. *Dent Mater*. 2002;18(3):263-8.
82. Santerre J, Shajii L, Leung B. Relation of dental composite formulations to their degradation and release of hydrolyzed polymeric-resin-derived products. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2001;12(2):136-51.
83. Sano H, Yoshikawa T, Pereira PN, Kanemura N, Morigami M, Tagami J, et al. Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. *J Dent Res*. 1999;78(4):906-11.
84. Yiu CK, King NM, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Carrilho MR, et al. Effect of resin hydrophilicity and water storage on resin strength. *Biomaterials*. 2004 Nov;25(26):5789-96.
85. Santini A, Miletic V. Quantitative micro-Raman assessment of dentine demineralization, adhesive penetration, and degree of conversion of three dentine bonding systems. *Eur J Oral Sci*. 2008 Apr;116(2):177-83.
86. Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M, Salo T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *J Dent Res*. 1998;77(8):1622-9.

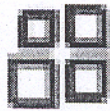
87. van Strijp AJ, Jansen DC, DeGroot J, Ten Cate JM, Everts V. Host-derived proteinases and degradation of dentine collagen in situ *Caries Res.* 2003;37(1):58-65.
88. Lee W, Aitken S, Sodek J, McCulloch CA. Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo: role of active enzyme in human periodontitis. *J Periodontal Res.* 1995;30(1):23-33.
89. Pashley D, Tay F, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho R. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res.* 2004;83(3):216-21.
90. Hannas AR, Pereira JC, Granjeiro JM, Tjäderhane L. The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. *Acta Odontol Scand.* 2007 Feb;65(1):1-13.
91. Sorsa T, Tjäderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis.* 2004 Nov;10(6):311-8.
92. Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, Breschi L, Mannello F, Tjäderhane L, et al. Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. *Biomaterials.* 2006;27(25):4470-6.
93. Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, Breschi L, Mannello F, Mazzoni A, et al. Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. *Eur J Oral Sci.* 2006;114(2):160-6.
94. Tay FR, Pashley DH, Loushine RJ, Weller RN, Monticelli F, Osorio R. Self-etching adhesives increase collagenolytic activity in radicular dentin *J Endod.* 2006;32(9):862-8.
95. De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K, et al. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res.* 2003;82(2):136-40.
96. Tersariol IL, Geraldeli S, Minciotti CL, Nascimento FD, Pääkkönen V, Martins MT, et al. Cysteine cathepsins in human dentin-pulp complex. *J Endod.* 2010;36(3):475-81.
97. De Munck J, Van den Steen PE, Mine A, Van Landuyt KL, Poitevin A, Opdenakker G, et al. Inhibition of enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces. *J Dent Res.* 2009;88(12):1101-6.
98. De Munck J, Mine A, Van den Steen PE, Van Landuyt KL, Poitevin A, Opdenakker G, et al. Enzymatic degradation of adhesive–dentin interfaces produced by mild self-etch adhesives. *Eur J Oral Sci.* 2010 Oct;118(5):494-501.
99. Carvalho RV, Ogliari FA, de Souza AP, Silva AF, Petzhold CL, Line SR, et al. 2-hydroxyethyl methacrylate as an inhibitor of matrix metalloproteinase-2. *Eur J Oral Sci.* 2009;117(1):64-7.
100. Carvalho RV, Ogliari FA, Marques MR, de Souza AP, Petzhold CL, Line SR, et al. Inhibition of the activity of matrix metalloproteinase 2 by triethylene glycol dimethacrylate. *Clin Oral Investig.* 2010; Jul 10:[Epub ahead of print].

101. Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Uchiyama T, Imazato S, Mutluay MM, Cadenaro M, et al. The inhibitory effects of quaternary ammonium methacrylates on soluble and matrix-bound MMPs. *J Dent Res*. 2011 Apr;90(4):535-40.
102. Miletic V, Santini A, Trkulja I. Quantification of monomer elution and carbon-carbon double bonds in dental adhesive systems using HPLC and micro-Raman spectroscopy. *J Dent*. 2009 Mar;37(3):177-84.
103. Miletic V, Santini A. Micro-Raman Assessment of the Ratio of Carbon-Carbon Double Bonds of Two Adhesive Systems Cured with LED or Halogen Light-curing Units. *Quintessence Int*. 2010 Dec;12(6):461-7.
104. Carrilho MR, Tay FR, Pashley DH, Tjaderhane L, Carvalho RM. Mechanical stability of resin-dentin bond components. *Dent Mater*. 2005 Mar;21(3):232-41.
105. Carrilho MR, Geraldeli S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjaderhane L, et al. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res*. 2007 Jun;86(6):529-33.
106. Geurtsen W, Spahl W, Muller K, Leyhausen G. Aqueous extracts from dentin adhesives contain cytotoxic chemicals. *J Biomed Mater Res*. 1999;48(6):772-7.
107. Geurtsen W, Lehmann F, Spahl W, Leyhausen G. Cytotoxicity of 35 dental resin composite monomers/additives in permanent 3T3 and three human primary fibroblast cultures. *J Biomed Mater Res*. 1998 Sep 5;41(3):474-80.
108. Yamamoto A, Tsubota K, Takamizawa T, Kurokawa H, Rikuta A, Ando S, et al. Influence of light intensity on dentin bond strength of self-etch systems. *J Oral Sci*. 2006 Mar;48(1):21-6.
109. Miyazaki M, Onose H, Lida N, Kazama H. Determination of residual Double bonds in resin-dentin interface by Raman spectroscopy. *Dent Mater*. 2003;19:245-51.
110. Cadenaro M, Antonioli F, Codan B, Agee K, Tay FR, Dorigo Ede S, et al. Influence of different initiators on the degree of conversion of experimental adhesive blends in relation to their hydrophilicity and solvent content. *Dent Mater*. 2010 Apr;26(4):288-94.
111. Perdigão J, Geraldeli S, Carmo AR, Dutra HR. In vivo influence of residual moisture on microtensile bond strengths of one-bottle adhesives. *J Esthet Restor Dent*. 2002;14(1):31-8.
112. Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M. Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. *J Dent Res*. 2002;81(7):472-6.
113. Cenci M, Demarco F, de Carvalho RM. Class II composite resin restorations with two polymerization techniques: Relationship between microtensile bond strength and marginal leakage. *J Dent*. 2005;33(7):603-10.
114. Ding PG, Wolf D, Pioch T, Staehle HJ, Dannewitz B. Relationship between microtensile bond strength and nanoleakage at the composite-dentin interface. *Dent Mater*. 2009;25(1):135-41.

115. Guzman-Armstrong S, Armstrong SR, Qian F. Relationship between nanoleakage and microtensile bond strength test at the resin–dentin interface. *Oper Dent*. 2003;28(1):60-6.
116. Loguercio AD, Reis A, Ballester RY. Polymerization shrinkage: Effects of constraint and filling technique in composite restorations. *Dent Mater*. 2004;20(3):236-43.
117. Stanislawczuk R, Amaral RC, Zander-Grande C, Gagler D, Reis A, Loguercio AD. Chlorhexidine-containing acid conditioner preserves the longevity of resin-dentin bonds. *Oper Dent*. 2009;34(4):481-90.
118. Peutzfeldt A. Resin composite in dentistry: the monomer systems. *Eur J Oral Sci*. 1997 Apr;105(2):97-116.
119. Abate PF, Rodrigues VI, Macchi RL. Evaporation of solvent in one-bottle adhesives. *J Dent*. 2000;28(6):437-40.
120. Rueggeberg FA, Margeson DH. The effect of oxygen inhibition on an unfilled/filled composite system. *J Dent Res*. 1990;69(10):1652-8.
121. Moszner N, Salz U, Zimmermann J. Chemical aspects of selfetching enamel–dentin adhesives: a systematic review. *Dent Mater*. 2005;21(10):895-910.
122. Sideridou I, Tserki V, Papanastasiou G. Effect of chemical structure on degree of conversion in light-cured dimethacrylate-based dental resins. *Biomaterials*. 2002 Apr;23(8):1819-29.
123. Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, H. S, et al. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res*. 2004;83(6):454-8.
124. Armstrong SR, Vargas MA, Chung I, Pashley DH, Campbell JA, Laffoon JE, et al. Resin-dentin interfacial ultrastructure and microtensile dentin bond strength after five-year water storage. *Oper Dent*. 2004;29(6):705-12.
125. Reis AF, Bedran-Russo AKB, Giannini M, Pereira PNR. Interfacial ultramorphology of single-step adhesives: nanoleakage as a function of time. *J Oral Rehabil*. 2007;34:213-21.
126. Jacobsen T, Söderholm K. Some effects of water on dentin bonding. *Dent Mater*. 1995;11(132-136).

ANEXO A

Aprovação do projeto pela Comissão de Ética em Pesquisa da
Universidade Estadual de Ponta Grossa. COEP - UEPG

**COEP**

COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA

PARECER Nº 49/2010
Protocolo: 15432/09

Em reunião ordinária, realizada dia 24 de Junho de 2010, a Comissão de Ética em Pesquisa, **APROVOU** o protocolo de pesquisa intitulado "Efeito do aumento do tempo de polimerização na resistência de união à dentina de adesivos de adesivos autocondicionantes" de responsabilidade do pesquisador Alessandro Dourado Loguercio.

Conforme Resolução CNS 196/96, solicitamos que sejam apresentados a esta Comissão, relatórios sobre andamento da pesquisa, conforme modelo (<http://www.uepg.br/coep/>).

Data para entrega do relatório Final: Junho de 2011.

Ponta Grossa, 24 de Junho de 2010.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

.....
Prof. Dr. Ulisses Coelho
Coordenador