



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**AVALIAÇÃO DA NANOINFILTRAÇÃO EM DENTINA DE UM
SISTEMA ADESIVO UNIVERSAL EXPERIMENTAL SEM BIS-
GMA**

Trabalho submetido por
Samuel Filipe Eduardo Félix
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

outubro de 2020



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**AVALIAÇÃO DA NANOINFILTRAÇÃO EM DENTINA DE UM
SISTEMA ADESIVO UNIVERSAL EXPERIMENTAL SEM BIS-
GMA**

Trabalho submetido por
Samuel Filipe Eduardo Félix
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor Mário Cruz Polido

e coorientado por
Prof. Doutora Joana Vasconcelos e Cruz

outubro de 2020

*Aos meus pais, por serem os meus pilares desde
sempre e por tudo aquilo que me proporcionaram até
aos dias de hoje. Se na vida conseguir dar metade
de tudo aquilo que recebi, posso dizer que sou
uma pessoa realizada.*

***“A única forma de chegar ao impossível,
é acreditar que é possível”
-Lewis Carroll***

Agradecimentos

Em primeiro lugar um agradecimento especial ao meu orientador, Prof. Doutor Mário Polido, por todos os ensinamentos, apoio e prontidão de tudo o que foi preciso nesta etapa.

À minha coorientadora, Prof. Doutora Joana Vasconcelos por ser o pilar mais importante nesta etapa da minha vida académica, por todas as horas incondicionais em que me apoiou a 200% e por tudo aquilo que fez por mim nesta altura desafiante. Um obrigado não chega.

Ao meu irmão, ao meu mais que tudo, àquele a quem eu dava a vida por qualquer coisa deste mundo. Vejo em mim parte de ti, e porque sem ti eu não teria chão. Preciso de ti no mundo lá fora e sem ti nada era a mesma coisa.

Aos meus avós por todo o apoio incondicional, por todas as palavras de força e coragem ao longo da minha vida e por todos os ensinamentos transmitidos! Muito devo a vós!

Às pessoas mais importante da minha vida, a Laurinha, uma guerreira nata, que já passou por tantos altos e baixos e nunca baixou os braços! Obrigado por todo o apoio, conversas, momentos e principalmente por seres quem és. Obrigado por tornares todos os maus momentos melhores. Se terminei este curso, muito devo a ti! Adoro-te!

Ao Barros, um irmão que esta faculdade me deu, o meu braço direito que levo para a vida. Por todas as aventuras, memórias e momentos inesquecíveis que vivemos juntos. Sem ti tudo isto não era possível de ser vivido!

À Patrícia, a primeira pessoa que entrou na minha vida nesta jornada, e que não podia ter sido melhor coincidência. O destino nos cruzou e só tenho que agradecer a Deus por isso! Apesar de tudo, levo-te comigo para a vida até sermos velhinhos. Obrigado por todos os bons momentos ao longo dos últimos 7 anos. Muitos mais virão.

Ao meu Monhé, ao meu irmão que apesar de todos os percalços, sempre o tive como um irmão de verdade e um pilar neste percurso! Um obrigado não chega para tudo aquilo que vivemos os dois! Sem ti, estes 7 anos não teriam sido a mesma coisa! Tão boas memórias que guardo nossas! Adoro-te!

Ao André, ao melhor amigo que a Egas Moniz me deu, obrigado por todos os bons momentos de camaradagem, diversão, gargalhadas, copos e noites! Irei levar para a vida todos os momentos e apoio ao longo destes anos. Sei que poderei contar contigo para tudo e um obrigado nunca será suficiente.

À Olga, minha fiel amiga, por todos os momentos que passamos, por teres sido o meu braço de apoio nas circunstâncias mais adversas dos últimos tempos, por todas as chamadas de atenção e “abre-olhos” que só a ti agradeço. Obrigado pela confiança e amizade incondicional que me proporcionaste.

À Natacha por toda a amizade e por todos os momentos inesquecíveis que me proporcionaste, por esse feitiço tão especial e por sempre que foi preciso, estavas lá! Por todas as saídas, gargalhadas e momentos de bem-estar! Levo-te contigo para a vida!

À Marta Picolo, por todo o apoio incansável e pela tão boa amizade vivida nos últimos anos! Uma pessoa que nunca mudou do 1º dia até ao “último”. Um obrigado torna-se uma palavra tão pequena quando me dirijo a ti!

À Daniela, à Joana, à Flávia e ao Nuno por estarem sempre presentes desde sempre! Por serem o meu porto de abrigo quando as coisas corriam menos bem e que me obrigavam a procurar o meu refúgio no meu Baleal. Por todas as palavras, apoio, bons momentos e noites de copos que me proporcionaram! Um obrigado não chega!

À Maria João por todos os ensinamentos, porque para além de ser minha mentora esteve sempre lá quando precisei sem negar uma única ajuda. Obrigado por todo o apoio e por todo o “à vontade” desde o início. Um exemplo de pessoa que quero seguir!

À Nádia por todo o apoio e amizade verdadeira nestes últimos anos, nos bons e maus momentos deste percurso. Daqui levo uma amizade. Obrigado.

Ao Fiúza, que se cruzou na minha vida por uma simples brincadeira mas que apesar de tudo, ao longo deste anos sempre me apoiou e me deu as palavras de maior força, e que neste momento consigo dizer que ganhei mais uma amizade para a vida! Obrigado por tudo.

À AEISCSEM, como nos velhos tempos, por ser a minha casa durante 5 anos, por ser o meu amor incondicional e a quem dei tudo nesta etapa da minha vida. Tudo o que eu te dei, tudo me deste a mim, mais era impossível de fazer! Nunca te irei esquecer meu querido refúgio. *Como é que é, Como é que é...*

À Egas Moniz, a minha segunda casa durante os últimos 7 anos! Uma palavra de gratidão não chega por tudo aquilo que me deste. São tantas as memórias que me proporcionaste e das quais conseguiste fazer os últimos anos, os melhores da minha vida. Um obrigado não chega, e neste momento só consigo afirmar que *“Levo-te comigo para a vida”*.

“À Drª Isabel Nogueira do IST por todo o apoio e disponibilidade demonstrada ao longo desta investigação em todos os momentos.”

Resumo

Objetivos: Avaliar a nanoinfiltração na dentina de dois sistemas adesivos universais experimentais, e de dois adesivos universais comerciais, nas vertentes *Etch-and-Rinse* e *Self-Etch*.

Materiais e Métodos: Foram utilizados 24 dentes molares hígidos divididos aleatoriamente em 8 grupos (n=3): Em 4 grupos foram utilizados dois sistemas adesivos comerciais – FUT (*Futurabond M+TM*) e SBU (*ScotchbondTM*) e os restantes 4 grupos em dois sistemas adesivos experimentais – EM1 (com Bis-GMA) e EM2 (sem Bis-GMA), nas vertentes *Etch-and-Rinse* e *Self-etch*. A superfície da dentina foi exposta, os sistemas adesivos foram aplicados segundo as instruções do fabricante e foram construídos blocos de resina composta de 6-8mm de altura. As amostras foram cortadas em fatias de 0,7mm de espessura num micrótomo de tecido duros sendo para cada grupo selecionadas as 3 fatias centrais. Todos os espécimes foram incubados numa estufa a 37°C durante três meses em água destilada. Findo este período, as amostras foram preparadas para a observação da nanoinfiltração por SEM-EDS sendo desidratadas e fixadas com nitrato de prata. A análise estatística da nanoinfiltração foi efetuada em SPSS através de modelos lineares mistos.

Resultados: Existem diferenças significativas na nanoinfiltração entre os adesivos estudados e em função do protocolo aplicado (*Etch-and-Rinse* e *Self- Etch*). O EM1 apresenta menor nanoinfiltração quando comparado com FUT ($p<0,001$) e SBU ($p=0,002$) sob qualquer protocolo. O EM2 apresenta menor nanoinfiltração quando comparado com FUT e SBU sobre o protocolo *Etch-and-Rinse* ($p <0,001$). O EM1 apresenta menor nanoinfiltração quando comparado com EM2 apenas sob protocolo *Self-Etch* ($p<0,001$).

Conclusões: Os sistemas adesivos experimentais em estudo revelaram resultados promissores comparativamente com os sistemas adesivos comerciais estudados. Após 3 meses de envelhecimento, o EM1 revelou a menor taxa de nanoinfiltração em ambos os protocolos (*Etch-and-Rinse* e *Self-Etch*) e sem diferenças para o EM2 apenas quando aplicado com o protocolo *Etch-and-Rinse*.

Palavras-Chave: *Etch-and-Rinse*; Nanoinfiltração; *Self-Etch*; Sistemas Adesivos Universais

Abstract

Objectives: To evaluate the dentin nanoleakage of two experimental universal adhesive systems and two commercial universal adhesives in the *Etch-and-Rinse* and *Self-Etch* protocol.

Materials and Methods: 24 healthy molar teeth were randomly divided into 8 groups ($n = 3$): 4 groups were used two commercial adhesive systems - FUT (Futurabond M + TM) and SBU (ScotchbondTM) and the remaining 4 groups were used two experimental adhesive systems - EM1 (with Bis-GMA) and EM2 (without Bis-GMA), in the *Etch-and-Rinse* and *Self-Etch* strands. The dentin surface was exposed, the adhesive systems were applied according to the manufacturer's instructions and blocks of 6-8mm height composite resin were built. The samples were cut into 0.7mm thick slices in a hard tissue microtome and the 3 central slices were selected for each group. All specimens were incubated in an oven at 37°C for three months in distilled water. At the end of this period, the samples were prepared for the observation of nanoleakage by SEM-EDS and were dehydrated and fixed with silver nitrate. The statistical analysis of nanoleakage was carried out in SPSS using mixed linear models.

Results: There are significant differences in nanoleakage between the studied adhesives according to the applied protocol (*Etch-and-Rinse* and *Self-Etch*). EM1 has less nanoleakage when compared to FUT ($p < 0.001$) and SBU ($p = 0.002$) under any protocol. EM2 shows less nanoleakage when compared to FUT and SBU on the *Etch-and-Rinse* protocol ($p < 0.001$). EM1 presents less nanoleakage when compared with EM2 only under the *Self-Etch* protocol ($p < 0.001$).

Conclusions: The experimental adhesive systems under study showed promising results compared to the commercial adhesive systems studied. After 3 months of aging, EM1 revealed the lowest rate of nanoleakage in both protocols (*Etch-and-Rinse* and *Self-Etch*) and with no differences for EM2 only when applied with the *Etch-and-Rinse* protocol.

Key words: Etch-and-Rinse; Nanoleakage; Self-Etch; Universal Adhesive Systems

ÍNDICE GERAL

I. INTRODUÇÃO	11
1. Substrato	13
1.1. Dentina.....	13
1.2. Esmalte	14
2. Conceitos Sobre Adesão.....	16
2.1. Adesão	16
2.2. Adesão à Dentina.....	18
2.3. Adesão ao Esmalte.....	19
2.4. Smear Layer.....	20
2.5. Camada Híbrida.....	22
3. Classificação Dos Adesivos Dentários	24
3.1. Adesivos de Condicionamento Ácido Total (<i>Etch-and-Rinse</i>)	25
3.2. Sistemas Adesivos Autocondicionantes (<i>Self-Etch</i>).....	27
3.3. Sistemas Adesivos Universais	29
3.3.1. Composição Química dos Sistemas Adesivos Universais.....	31
4. Nanoinfiltração	33
II. OBJETIVOS	39
III. MATERIAIS E MÉTODOS	41
1. Preparação das amostras	41
2. Colocação dos sistemas adesivos	44
3. Preparação das amostras para observação em FEG-SEM	49
4. Análise Estatística.....	54
IV. RESULTADOS	55
1. Análise da observação microscópica.....	55
2. Análise dos Dados	59
V. DISCUSSÃO	63
VI. CONCLUSÃO	71
VII. BIBLIOGRAFIA	73

Índice de Figuras

Figura 1- Esquema representativo do ângulo de contacto e da energia de superfície. Retirado do Planas et al., 1996.	18
Figura 2– Classificação dos sistemas adesivos pela técnica Etch-and-Rinse consoante os vários passos clínicos (Retirada e adaptada “A. Sezinando et al, 2014)	26
Figura 3- Técnica Etch-and-Rinse, procedimento de adesão (Retirada e adaptada “Sturdevant’s Art & Science Of Operative Dentistry”, 7th Edition).	26
Figura 4- Técnica Self-Etch, procedimento de adesão (Retirada e adaptada “Sturdevant’s Art & Science Of Operative Dentistry”, 7th Edition).	28
Figura 5- Composição dos sistemas adesivos universais. (Retirado e Adaptado de Bedran-Russo et al., 2017)	32
Figura 6 - Molares Humanos hígidos cedidos pelo banco de dentes do IUEM	41
Figura 7 – (a) Dente aplicado no porta amostras. (b) Micrótomo de tecidos duros (Accutom-50, Struers, Dinamarca).....	43
Figura 8– (a) Cola de cianoacrilato para preenchimento da câmara pulpar. (b) Polimento da amostra. (c) Polidora (LaboForce-1, Struers, Denmark)	44
Figura 9 - Sistemas adesivos utilizados no estudo	44
Figura 10 - Filtek™ Z250 (3M ESPE, St.Paul, MN, USA)	47
Figura 11 – Fotopolimerizador Optilux 501 (Kerr, Middleton, USA)	47
Figura 12 - Estufa de Incubação (Mettmert INE 400, Mettmert, Germany)	48
Figura 13 – (a) Corte das amostras num micrótomo de tecidos duros (Accutom-50, Struers, Dinamarca). (b) Amostra em fatias com 0,7mm.....	49
Figura 14 – Preparação das fatias de 0,7mm com revestimento a verniz para observação FEG-SEM	50
Figura 15 – Amostras impregnadas em nitrato de prata amoniacal	50
Figura 16 – Sequência de discos de carbetto de silício e pastas diamantadas.....	51
Figura 17 – Amostra após polimento	52
Figura 18 – Microscópio eletrónico de varrimento de alta resolução (FEG-SEM)	53
Figura 19 – (a) Imagem de FEG-SEM com detetor de eletrões retrodifundidos da interface adesiva do espécime do Sistema Adesivo Experimental com Bis-GMA pela técnica adesiva Self-Etch, em ampliações de 200X. (b) Área representativa de nanoinfiltração com uma ampliação de 2000X	55

Figura 20 – Gráfico Representativo através da análise EDS onde se verifica a presença do elemento prata na região da interface adesiva (figura 18b).....	55
Figura 21 – Interface adesiva observada a 400X (a) e a 2000X (b) com representação da nanoinfiltração. Observação de nitrato de prata presente na camada híbrida (seta).....	56
Figura 22 - Imagens de FEG-SEM com detetor de elétrons retrodifundidos de todos os sistemas adesivos universais (experimentais e comerciais) quando aplicados pelas estratégias Etch-and-Rinse e Self-Etch onde se pode observar as zonas de depósito do nitrato de prata na interface adesiva dos mesmos. As regiões com aspeto granular brancas correspondem as regiões de deposição de prata. Ampliação de 400X.....	57
Figura 23 - Imagens de FEG-SEM com detetor de elétrons retrodifundidos de todos os sistemas adesivos universais (experimentais e comerciais) quando aplicados pelas estratégias Etch-and-Rinse e Self-Etch onde se pode observar as zonas de depósito do nitrato de prata na interface adesiva dos mesmos. As regiões com aspeto granular brancas correspondem as regiões de deposição de prata. Ampliação de 2000X.....	58
Figura 24 – Representação gráfica da nanoinfiltração, por percentagem, nos grupos experimentais consoante o adesivo/estratégia de adesão utilizados.....	59

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Grupos de Trabalho	42
Tabela 2 - Composição, Lote, Validade e pH de cada material utilizado	43
Tabela 3 - Instruções de aplicação dos adesivos segundo o fabricante	45
Tabela 4 - Instruções de aplicação da resina composta segundo o fabricante.....	47
Tabela 5 – Representação da análise do modelo misto	59
Tabela 6 – Representação do modelo obtido.....	60
Tabela 7 – Resultado do contraste de todas as variáveis.....	61

Lista de Abreviaturas

FUT	<i>Futurabond[®] M+</i> (Voco, Cuxhaven, Germany)
SBU	<i>ScotchbondTM Universal</i> (3M ESPE, St. Paul, MN, USA)
EM1	Sistema Adesivo Experimental com Bis-GMA
EM2	Sistema Adesivo Experimental sem Bis-GMA
SE	<i>Self-Etch</i>
ER	<i>Etch-and-Rinse</i>
HMDS	Hexametildisilazano
TEGDMA	Trietilen glicol dimetacrilato
PENTA	Éster fosfórico de dipentaeritrol
10-MDP	10-metacriloxidecil di-hidrogénio fosfato
MDP	Metacriloxidecil fosfato
Bis-GMA	Bisfenol glicidil metacrilato
GPDM	Ácido glicerofosfóricodimetacrilato
HEMA	2-Hidroxietil metacrilato
BDA	Etil4 - Dimetilaminobenzoato
HPDPI	Hexafluorofosfato de difeniliodonio
NPG-GMA	N-fenilglicina e glicidilmetacrilato
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
MMP's	Metaloproteínases
CQ	Canforoquinona
pH	Potencial hidrogeniónico
ml	Mililitro
s	Segundo
MPa	Mega pascal
mA	MiliAmpere
rpm	Rotações por minuto
SiC	Carbeto de silício
µm	Micrómetro
ADA	<i>American Dental Association</i>
FEG-SEM	<i>Field emission gun scanning electron microscopy</i>
EDS	Espectroscopia por dispersão de energia
ISO/TS	<i>International Organization for Standardization/Technical Specification</i>
SEM	<i>Scanning Electron Microscopy</i>

I. INTRODUÇÃO

Greene Vardiman Black, um dos fundadores da Medicina Dentária moderna, no final do século XIX, definiu as bases da abertura e dos talhes dos preparos cavitários, sem dar especial enfoque à quantidade de estrutura dentária removida no processo, focando o seu trabalho nas restaurações dependentes de retenção mecânica. Ao longo das últimas décadas, porém, os métodos convencionais de retenção mecânica dos materiais vieram a ser substituídos pelas técnicas restauradoras adesivas (Perdigão et al., 1999).

Buonocore, no ano de 1955, verificou que o ácido fosfórico tradicionalmente usado industrialmente em coberturas de resina de superfícies metálicas e para aumentar a adesão em pintura, poderia ter aplicação para a adesão de restaurações no contexto da Medicina Dentária. Assim, sugeriu que o ácido fosfórico fosse aplicado sobre a superfície do esmalte, de modo a melhor prepará-lo para o processo adesivo e assegurar uma maior longevidade da restauração (Buonocore et al., 1955; Van Meerbeek et al., 1998; Perdigão et al., 2000).

Cinco anos após esta primeira consideração, no ano de 1962, Bowen referiu pela primeira vez os adesivos próprios para a dentina, cujo processo de adesão se processa de forma diferente, devido à sua composição e características. A dentina apresenta um conteúdo orgânico superior ao do esmalte, com a presença de fibras de colagénio, fluido no interior dos túbulos dentinários, uma humidade de superfície muito própria bem como outras variações na sua composição. Todos estes fatores vão condicionar a adesão à dentina face ao que acontece no esmalte, criando uma das problemáticas da Dentisteria moderna (Bowen et al., 1962; Perdigão et al., 1994; Avery et al., 2002).

As dificuldades inerentes a esse processo de adesão à dentina, aleadas ao interesse pela estética, estimularam o desejo de aprofundar o conhecimento sobre as técnicas e materiais para melhor alcançar esses resultados, tendo sido verificado um exponencial aumento de investigações sobre materiais restauradores estéticos (Van Meerbeek et al., 1998; Perdigão e Lopes, 1999a; Perdigão et al., 2000).

As técnicas restauradoras, em particular as de restauração estética, têm sido alvo de constantes melhorias e revisões ao longo das últimas décadas, assistindo-se a um aumento da relevância atribuída à adesão e às várias técnicas para tal disponíveis. (Perdigão e Lopes, 1999a)

Van Meerbeek, em 1998, reviu a prévia designação destes materiais de agentes de ligação, para "sistemas adesivos", compostos por inúmeros passos e procedimentos de aplicação dos mais simples aos mais completos. Os sistemas adesivos têm nos dias de hoje aplicações muito diversificadas, permitindo não só a adesão ao esmalte, como também à dentina, à amálgama, a outros metais e porcelanas estéticas em restaurações indiretas (Stefan e Scharer, 1997; Perdigão e Lopes, 1999a).

Para além de tudo o previamente referido, a Dentisteria restauradora foi amplamente marcada pelas evoluções tecnológicas da segunda metade do século XX.

Por outro lado, a constante evolução dos sistemas adesivos, bem como as crescentes exigências estéticas do mercado, fazem com que cada vez mais sistemas adesivos sejam introduzidos, alguns dos quais desprovidos de testes que comprovem a sua eficácia e longevidade, correndo o risco de um comprometimento do seu desempenho e consequentemente, da longevidade das restaurações (Van Meerbeek et al., 1998; Slavoljub, 2000).

Van Meerbeek et al. (1998) preconiza que a eficiência de um sistema adesivo se prende com o período de tempo durante o qual este suporta as restaurações, selando completa e devidamente as margens cavitárias e evitando a recidiva do processo cariogénico, a sensibilidade pós-operatória, e quaisquer outras patologias associadas com o insucesso restaurador. Um outro elemento que condiciona o sucesso restaurador prende-se com a contração de polimerização, presente durante a adesão, responsável pela formação de microfissuras entre a restauração e o substrato e permitindo a contaminação por microrganismos e fluidos orais (Barkmeier e Ericson, 1994; Slavoljub, 2000).

Assim, é possível definir como indicações para a utilização de sistemas adesivos, as restaurações diretas, quer com resina composta, quer com amálgama, a cimentação de restaurações indiretas como *overlays*, *onlays*, *inlays* e coroas, a adesão de *splints* ortodônticos, férulas periodontais e ainda tratamento da hipersensibilidade dentária.

No entanto, estas indicações e objetivos são muitas vezes dificultados, não só pela complexidade e minúcia inerentes ao protocolo adesivo mas também pelos obstáculos próprios da cavidade oral. O pH, a composição da flora oral e salivar e o dinamismo a que todas estas variáveis estão sujeitas, aleadas à presença e magnitude das forças oclusais, representam um enorme obstáculo ao sucesso adesivo (Stefan e Scharer, 1997; Van Meerbeek et al., 1998).

1. Substrato

1.1. Dentina

A dentina é um tecido duro e mineralizado e cuja composição mais consensual pode ser dada por 70% de matéria inorgânica, 20% de matéria orgânica e 10% de água (por peso) (Avery et al., 2002; Berkovitz et al., 2009).

A dentina é formada durante o processo de desenvolvimento da dentição, sendo um tecido duro que constitui o corpo do dente, servindo de camada protetora para a câmara pulpar e suporte para o esmalte que a envolve (Avery et al., 2002).

A sua componente inorgânica é composta por cristais de hidroxiapatite imersos numa matriz orgânica de fibras de colagénio embebidas em substância amorfa. A matriz orgânica é constituída por colagénio, maioritariamente de tipo I, proteínas não colagénicas e fosfolípidos (Berkovitz et al., 2009).

A dentina pode ser classificada quanto à sua estrutura e formação cronológica em: dentina primária, formada nas primeiras etapas da dentinogénese e até o dente entrar em oclusão; dentina secundária, formada após a conclusão do

desenvolvimento da raiz e dentina terciária, aquela que surge como resposta a um estímulo externo (Berkovitz et al., 2009).

Quanto à sua localização pode ainda ser classificada em dentina intertubular, em redor e entre os túbulos dentinários; dentina peritubular, dentro dos túbulos dentinários; dentina do manto, inicialmente na coroa do dente e finalmente, dentina circumpulpar, junto à polpa dentária (Avery et al., 2002).

Os túbulos dentinários penetram a sua espessura, encontrando-se desde a superfície pulpar até à junção amelodentinária e cimento-dentinária, variando de 2,5µm a 1µm de comprimento (Berkovitz et al., 2009).

Junto à junção amelodentinária, está presente uma menor quantidade de túbulos dentinários, cerca de 20000 por mm², relativamente aos túbulos adjacentes à câmara pulpar, onde a sua quantidade se situa entre os 59000 por mm² e os 76000 por mm². A densidade de túbulos é ainda inferior à raiz. (Avery et al., 2002).

A dentina intertubular, que separa os túbulos dentinários, é composta essencialmente por colagénio tipo I, reforçada por hidroxiapatite. Tal como a quantidade de dentina peritubular, também a quantidade de dentina intertubular varia com a localização, desde 12% na região da pré-dentina até 96% junto da junção amelodentinária, e a dentina peritubular indo de 60% a 3% na junção dentina-esmalte (Avery et al., 2002).

Os túbulos dentinários incorporam os processos odontoblásticos responsáveis pela sua formação e em algumas partes do tecido contêm ainda terminações nervosas aferentes (Berkovitz et al., 2009).

1.2. Esmalte

O esmalte é um tecido altamente mineralizado, constituindo o substrato calcificado mais duro do corpo humano. Cerca de 96% da sua estrutura é composta por matéria mineral, sendo os restantes 4% compostos por material orgânico e água. A matéria mineral ou conteúdo inorgânico é constituído por fosfato de

cálcio cristalino, hidroxiapatite, com íons de carbono, presentes nos ossos, cartilagens calcificadas, dentina e cimento dentário (Avery et al., 2002; Nanci, 2013).

Se, aquando da formação dos prismas do esmalte, estiverem presentes íons como fluoreto, magnésio, chumbo e estrôncio, estes podem ser incorporados na sua composição. O surgimento de cáries dentárias, advém da suscetibilidade destes cristais de sofrerem dissolução após a sua exposição a ácido (Nanci, 2013).

O esmalte é constituído por cristais de hidroxiapatite de carbono, longos e compactos, com 25 a 30 nm de espessura e 60 a 70 nm de largura. Alguns investigadores especulam que o comprimento longo dos cristais, em proporção com as suas demais medidas, se estende por toda a espessura da camada do esmalte (Avery et al., 2002; Nanci, 2013).

Estes cristais constituem 95% do peso do esmalte e 87% do seu volume, estendendo-se desde a dentina subjacente à superfície do dente. Os cristais apresentam uma forma particular de disposição, altamente organizados e extremamente próximos, designada por prismas (Simmer e Hu, 2001).

O esmalte é uma estrutura translúcida, cuja cor pode oscilar entre amarelo-claro até ao branco-acinzentado. A espessura no dente pode também variar, cerca de 2.5 mm, desde a superfície de trabalho até ao bordo cervical. Esta variação de espessura vai ser a principal responsável pelas diferentes colorações deste substrato, tornando ou não mais visível a tonalidade amarela da dentina subjacente (Avery et al., 2002; Nanci, 2013).

O esmalte é formado a partir de um complexo processo designado de amelogénese. Este processo pode ser dividido em quatro fases distintas, sendo elas: fase pré-secretória, fase secretória, transição e maturação. A definição destas fases prende-se com a morfologia e função desempenhada pelos ameloblastos, células responsáveis pela composição do esmalte (Bartlett, 2013).

2. Conceitos Sobre Adesão

2.1. Adesão

De modo a alcançar um correto entendimento do complexo processo de adesão e da degradação a que está sujeito na cavidade oral, é importante apresentar e compreender vários conceitos.

A adesão pode ser definida como a condição em que duas superfícies são mantidas juntas por forças químicas ou físicas, com o auxílio de um adesivo (ISO/TS 11405:2015E).

O processo de adesão física verifica-se quando há uma apreensão física do material restaurador dentro da cavidade que o recebe e depende de forças de valência secundárias, que acontecem em dipolos moleculares, resultantes da interação da nuvem eletrônica (Nakabayashi e Pashley, 2000).

Já a adesão química é demonstrada por forças de valência primárias, semelhantes às ligações iônicas, quer covalentes, quer metálicas e ainda forças de valência secundárias, tais como as ligações de Van der Waals (Nakabayashi e Pashley, 2000).

Para que se dê a ligação entre dois sólidos é aplicada uma camada de adesivo entre eles, que irá preencher as irregularidades superficiais e permitir a sua união. Os sistemas adesivos são compostos por uma combinação de monómeros resinosos hidrofílicos e hidrofóbicos, de diferentes pesos moleculares, e solventes, que irão assegurar a ligação entre o material restaurador e a estrutura dentária, após a sua polimerização (Perdigão et al., 2007).

Os adesivos são materiais fluidos, capazes de “molhar” as superfícies sujeitas a ligação e devem penetrar as irregularidades em profundidade para que, após a polimerização, endureçam e aderiram ambas as superfícies (Planas et al., 1996).

A propriedade do substrato de interagir com líquidos, designa-se de molhabilidade e é aquilo que vai permitir um contato íntimo entre ambos (Anusavice, 1998).

A molhabilidade de um substrato consiste na sua capacidade de interagir com líquidos de modo a estabelecer contacto entre eles (Anusavice, 1998).

Essa molhabilidade superficial por um líquido é usualmente caracterizada pela medida do ângulo de contacto entre uma gota do líquido e a superfície do sólido. Quanto mais o líquido se espalhar pela superfície, mais próximo será o ângulo de contacto de zero e, consequentemente, melhor será a molhabilidade (Planas et al., 1996).

Este ângulo de contacto é influenciado pela diferença entre a tensão de superfície do adesivo e a energia de superfície do substrato (Aguilar-Mendoza et al., 2008).

A tensão superficial corresponde ao resultado das forças de coesão molecular, constituindo a resistência da camada superficial e da entrada e saída de sólidos, líquidos e gasosos. Para que ocorra uma molhabilidade satisfatória do aderente sólido, é necessário que a tensão superficial do adesivo líquido seja igual ou menor à tensão superficial do aderente sólido. Para que adesão ocorra corretamente, é necessário que o líquido adesivo esteja intimamente ligado com o substrato, de modo a permitir a atração molecular e proporcionar essa ligação, quer química, quer mecânica. Os líquidos têm a capacidade de se unir quando humedecem a superfície, isto é, quando são capazes de se espalhar sobre ela (Nakabayashi e Pashley, 2000).

A energia de superfície pode, porém, ser influenciada pela contaminação oriunda de fluídos, tais como a saliva, levando a um comprometimento da molhabilidade e da consequente adesão. De modo a que se estabeleça um contacto íntimo entre o adesivo e o seu substrato, a tensão superficial do adesivo deve ser inferior à energia superficial do substrato, de modo a que o ângulo de contacto se aproxime de zero e favoreça a molhabilidade de superfície (Perdigão e Ritter, 2001).



Figura 1- Esquema representativo do ângulo de contacto e da energia de superfície. Retirado do Planas et al., 1996.

2.2. Adesão à Dentina

A adesão à dentina apresenta semelhanças com o processo adesivo ao esmalte, porém, revela-se mais complexo, requerendo maior cuidado e experiência do Médico Dentista (Perdigão et al., 1999).

O primeiro fator que condiciona essa complexidade e diferença no processo adesivo prende-se com as distintas composições de ambos os substratos. O esmalte é uma estrutura maioritariamente mineral, ao passo que a dentina contém uma percentagem superior de material orgânico, predominantemente composto por colagénio tipo I e água. A dentina é constituída por uma rede tubular, integrando prolongamentos dos odontoblastos e os processos odontoblásticos que contactam com a polpa. Cada túbulo é preenchido por fluido e rodeado por uma bainha de dentina peritubular, hipermineralizada. Este fluido faz da dentina um tecido muito húmido, em comparação com o esmalte. Já a dentina menos mineralizada e mais fibrosa que circunda os túbulos dentinários é denominada de dentina intertubular. O volume ocupado por dentina peritubular aumenta com a proximidade à polpa, enquanto que a dentina intertubular diminui a área que ocupa com essa proximidade ao tecido pulpar. Assim, quanto mais próxima da polpa for a cavidade a preparar, mais poroso, permeável e húmido será o substrato, contendo uma densidade superior de túbulos dentinários, com diâmetro crescente. É este dinamismo de composição da dentina que se apresenta como principal responsável pela infiltração marginal a que são sujeitos os sistemas adesivos resinosos aplicados sobre este substrato (Perdigão et al., 2000; Nanci, 2013).

Toledano et al. (2000), defende que o processo de adesão à dentina é fundamental na abordagem de cavidades onde o esmalte se encontra ausente, tais como restaurações

de classe V ou dentes que careçam de erosão cervical, que dificultam o talhe de cavidades com adequadas formas de retenção.

Um outro ponto fulcral para a adesão à dentina prende-se com a dureza das fibras de colagénio. Depois de realizado o condicionamento ácido total, a fase mineral da superfície dentária, bem como parte das proteínas não-colagénicas sofrem solubilização, sendo removida alguma da componente proteica e expondo a rede de colagénio da matriz da desmineralizada. A matriz de dentina desmineralizada torna-se mais macia e sofre um aumento de elasticidade, alcançando valores aproximados de 5 Mpa, quando húmida. Este valor é um milhar de vezes inferior aquele da dentina previamente mineralizada, significando que há um marcado aumento da sua fragilidade, facilitando o colapso das fibras de colagénio quando sofrem desidratação. O eventual colapso das fibras de colagénio revela-se como um obstáculo à adesão, reduzindo a quantidade de monómeros adesivos capazes de se incorporar na matriz (Nakabayashi e Pashley, 2000).

2.3. Adesão ao Esmalte

A adesão ao esmalte pode ser conseguida através do seu condicionamento ácido, criando porosidades e irregularidades na sua superfície normalmente lisa, aumentando assim a sua energia de superfície. Após esse condicionamento ácido, através do processo de atração capilar, é possível que os monómeros dos materiais resinosos penetrem nas irregularidades criadas, sendo estabelecida a sua adesão.

O fluxo com que os adesivos penetram nas porosidades criadas advém da criação de "*tags*" de resina que se unem mecanicamente à resina e ao esmalte anteriormente condicionado. O comprimento dos "*tags*" de resina varia de acordo com o tempo de condicionamento ao qual é sujeita a superfície do esmalte, podendo alcançar de dez a vinte micrómetros (Amussen e Munksgaard, 1988).

Assim, a profundidade de desmineralização do esmalte estará intimamente relacionada com o tempo de aplicação do ácido e os valores de concentração do mesmo. É, porém, de ressaltar que, uma profundidade de desmineralização superior não se traduzirá obrigatoriamente numa retenção superior (Gwinnett e Kanca, 1992).

De modo a que o ácido consiga atuar sobre o esmalte e o condicione corretamente, este deve ser previamente sujeito a um tratamento profilático, que vise diminuir o ângulo de contacto e aumentar a molhabilidade do condicionador ácido. Após conseguido esse condicionamento de contacto íntimo com a superfície do esmalte, os valores de adesão das resinas compostas ao esmalte ultrapassam os 20 MPa (Perdigão et al., 1999).

Uma retenção satisfatória é conseguida quando os valores adesivos se situam entre 17 e 24 MPa, alcançando ainda a diminuição da microinfiltração nos limites cavitários. Essa microinfiltração de fluido salivar e bactérias deve ser evitada uma vez que pode acarretar em recidiva da lesão de cárie, descoloração marginal e até mesmo, inflamação e consequente necrose pulpar (Van Meerbeek et al., 1998; Perdigão J. et al., 1999).

Para além da longevidade conseguida pelas restaurações de resina compostas aleadas a uma boa adesão, estas oferecem outros benefícios, tais como o reforço cuspídeo, reduzindo o risco de fratura dentária (Bartieri et al., 2001).

2.4. Smear Layer

Os procedimentos de corte realizados no âmbito da Medicina Dentária originam uma camada de resíduos, que variará em composição e tipologia. Ao nível do esmalte e dentina, esta camada é criada através do uso de instrumentos manuais e rotatórios no decorrer da preparação cavitária. Esta camada de resíduos pode ainda estar presente na dentina do canal radicular e cimento. Na sua composição encontra-se hidroxiapatite e colagénio, contendo uma superfície externa de colagénio desnaturado e gelificado. Esta camada é denominada de *smear layer* e oclui os túbulos dentinários formando então os *smear plugs*, reduzindo a sua permeabilidade em 86% (Palshley, 1990; Perdigão et al., 1999).

Segundo Gwinnet (1984), a camada de resíduos sobre a dentina inclui na sua composição não só cristais de hidroxiapatite e colagénio parcialmente desnaturado, como também, saliva, sangue e bactérias oriundas da cavidade oral. Foi definida como uma camada orgânica, porosa e formada por canais submicrométricos, de espessura compreendida entre os 0,5 e os 5 *um*. O fluxo de fluidos pelos túbulos dentinários é

mantido pelos canais submicrométricos. Para além das alterações morfológicas associadas ao substrato sobre o qual os instrumentos atuam, a composição da *smear layer* é alterada de acordo com os instrumentos de corte e material de que são feitos e pela região dentinária sobre a qual se deposita. Esta película sofre ainda alterações na sua composição em função da flora bacteriana que se acumula e cresce sobre ela, representando a *smear layer* um substrato favorável ao crescimento bacteriano.

No trabalho levado a cabo por Masatoshi et al (1999), acerca da adesão à dentina, os investigadores constataram que as características da *smear layer* são alteradas conforme a estrutura dentinária que a compõe. Verificaram que a *smear layer* na dentina cariada tem uma porosidade superior aquela da dentina normal, em resultado da diminuição da dureza da dentina cariada. Verificaram ainda que os *primers* auto condicionantes têm a capacidade de penetrar esta camada e alcançar a dentina cariada subjacente de forma mais fácil do que o observado sobre dentina sã. Assim, à existência de *smear layer* podem ser atribuídas algumas vantagens e desvantagens.

As vantagens associadas à *smear layer* residem na capacidade de diminuir a humidade da superfície da camada bem como, no seu poder de redução da difusão do fluído dentinário. Esta característica é possível pela obstrução dos túbulos dentinários, o que vai impedir o movimento do fluído dentinário, reduzindo assim, a possibilidade de sensibilidade pós-operatória e a penetração de bactérias, ácidos e toxinas. Contudo, a sua principal desvantagem reside no facto desta ser permeável aos produtos do metabolismo bacteriano, sendo estes capazes de originar uma resposta inflamatória da polpa.

Por outro lado, a *smear layer* pode condicionar a adesão, representando uma barreira física entre o substrato e o adesivo e levar à posterior infiltração marginal, diminuindo a longevidade do tratamento restaurador. Esta camada mantém-se aderida à superfície do dente por forças fortes e ainda desconhecidas, não sendo possível removê-la com soro fisiológico, água ou outras substâncias de pH neutro. Essa dificuldade na sua remoção levou ao uso de diversos materiais com vista a eliminá-la, de modo a alcançar uma profunda desinfeção da dentina e aumentar o seu potencial adesivo. Para esse fim, pode recorrer-se a uma diversidade de soluções, tais como os ácidos cítrico, fosfórico, maleico e poliacrílico, cuja ação variará conforme as concentrações aplicadas e o tempo de contacto (Gwinnett, 1984).

Com base no previamente mencionado, Erickson (1992) e Slavojub (2000) defendem que a *smear layer* pode representar um obstáculo à íntima ligação entre as resinas orgânicas e a dentina, reforçando que esta deve ser removida para que se alcance o melhor desempenho da adesão.

Não obstante do previamente referido, esta camada pode ser tida em consideração como um substrato de adesão, se utilizados os sistemas adesivos auto-condicionantes ou *Self-Etch*, visto ocorrer com esta técnica uma maior preservação do conteúdo de cálcio pelo menor grau de desmineralização criado. Assim, forma-se uma ligação química estável entre o cálcio da hidroxiapatite e os monómeros funcionais presentes no sistema adesivo que permite reforçar a adesão micromecânica já existente (Cardoso et al., 1999; Perdigão et al., 2000; Yoshida et al., 2006; Yoshida et al., 2012).

2.5. Camada Híbrida

Nakabayashi et al., no ano de 1982, foram os primeiros a descrever o que atualmente se define como camada híbrida. No entanto, o conceito foi alvo de revisões e aceite apenas cerca de uma década depois (Nakabayashi et al., 1982; Van Meerbeek et al., 1993).

Pode ser definida como uma estrutura mista onde cristais residuais de hidroxiapatite e resina envolvem as fibras de colagénio. No ano de 1995, Sano et al. definiu a camada híbrida como uma mistura entre polímeros biológicos e artificiais. A proximidade entre os monómeros adesivos de resina e as fibras de colagénio será dependente da característica hidrofílica dos monómeros, responsável pela sua solubilidade na água, e do modo como os solventes do sistema adesivo interagem com o colagénio (Van Meerbeek et al., 2003).

A camada híbrida é composta por dentina intertubular e dentina peritubular desmineralizadas, sendo atravessada pelos prolongamentos de resina que se estendem para o interior dos túbulos dentinários. Esta camada é essencial para alcançar as forças adesivas à dentina, sendo esta tida como o mecanismo essencial para que a adesão à dentina ocorra (Gwinnett e Kanca, 1992; Van Meerbeek et al., 1993).

Esses prolongamentos resinosos irão oferecer várias vantagens, tais como a capacidade de selamento dos túbulos dentinários, com diminuição da infiltração bacteriana, suas enzimas e subprodutos e, conseqüentemente, da inflamação pulpar e da sensibilidade pós-operatória (Titley et al., 1995).

Há ainda alguma controvérsia sobre a ação e benefícios dos prolongamentos de resina. Essa controvérsia prende-se com a ação de contribuírem de alguma forma para a retenção do material resinoso, uma vez que, ainda que representem a menor fração da dentina de superfície selada pela resina, constituem uma fração importante da superfície de união da dentina que reveste a câmara pulpar.

Nakabayashi e Pashley (1998), defendem que os prolongamentos poliméricos contribuem para a retenção da resina, se unidos aos túbulos, ou seja, hibridizados às suas paredes. Por outro lado, Pashley, em 1990, demonstrou que as forças adesivas diminuem quando os adesivos são aplicados a maiores profundidades, onde a dentina peritubular predomina sobre a dentina intertubular. Esta descoberta veio confirmar a teoria previamente desenvolvida, segundo a qual a estabilidade das forças adesivas, se prende fundamentalmente com a presença da camada híbrida.

Esta oferece ainda a vantagem de compensar a contração de polimerização da resina, e apresentar propriedades mecânicas superiores às da dentina desmineralizada, ainda que inferiores às da dentina aquando do processo de desmineralização, apresentando-se assim como uma camada elástica, e amortecedora para o dente (Van Meerbeek et al., 1993; Sano et al., 1995).

Contudo esta camada torna-se frágil pois os monómeros adesivos não são capazes de envolver totalmente a matriz de colagénio exposta, deixando totalmente ou parcialmente fibras de colagénio expostas na parte inferior da camada híbrida. A presença destas fibras desprotegidas num meio aquoso e ácido torna a interface adesiva suscetível à degradação hidrolítica ao longo do tempo e o colagénio vulnerável à ação das metaloproteínases (Betancourt et al., 2019).

Esta degradação das fibras de colagénio e dos componentes da resina hidrofílicos levará à destruição da camada híbrida e à perda da resistência de união à dentina ao longo do tempo (Toledano et al., 2012; Tjäderhane et al., 2013; Betancourt et al., 2019).

3. Classificação Dos Adesivos Dentários

De modo a permitir uma melhor compreensão acerca da relação presente entre os diversos sistemas adesivos presentes no mercado e as suas técnicas e protocolos de aplicação, fabricantes e investigadores procederam à sua classificação. A primeira classificação disponível, baseou-se apenas na sua ordem de introdução no mercado, tendo sido unicamente cronológica, e categorizando os sistemas adesivos em gerações, da primeira à sétima. Esta classificação apresenta como principal desvantagem o facto de carecer de atualização conforme ocorre a introdução de novos sistemas. Uma outra classificação foi definida de acordo com o número de passos clínicos de cada sistema adesivo, sendo eles: sistemas *Total-Etch* de 3 e 2 passos e sistemas *Self-Etch* de 2 e 1 passos. Finalmente, foi introduzida uma forma de classificação que se baseia no tratamento dado à *smear layer*. Quando esta é integralmente removida com condicionamento ácido e lavagem, estamos perante sistemas adesivos de condicionamento total ou sistemas *Etch-and-Rinse*. Por outro lado, se esta é incorporada no processo adesivo, tratar-se-ão de sistemas adesivos de autocondicionamento ou *Self-Etch* (Figura 2) (Van Meerbeek et al., 2003).

A grande maioria das cavidades realizadas em dentisteria inclui esmalte e dentina, com superior heterogeneidade morfológica e dinamismo fisiológico. As diferenças presentes entre ambos os substratos e os desafios adesivos que representam impulsionaram o desenvolvimento de inúmeros sistemas adesivos. Atualmente, estão disponíveis sistemas adesivos que conseguem alcançar simultaneamente o condicionamento ácido do esmalte e da dentina, possibilitando a realização de restaurações com estética superior, com maior longevidade e resistência e providas de um melhor selamento marginal (Perdigão, 2020).

Atualmente, os sistemas adesivos são compostos por vários de materiais a aplicar sequencialmente, que irão promover simultaneamente a adesão a ambos os substratos estudados, o esmalte e a dentina.

Estes sistemas são constituídos, de uma forma geral, por três componentes, sendo eles:

- 1) agente condicionador – Ácido ortofosfórico (35%-37%), que irá desmineralizar a superfície do substrato;
- 2) *primer* – solução hidrofílica responsável pelo aumento da recetividade da superfície ao agente adesivo, aumentando a molhabilidade superficial;
- 3) adesivo - solução hidrofóbica, igualmente designada resina fluida ou *bond*, responsável por unir o complexo substrato condicionado/*primer* à resina composta. Estes três componentes podem ser aplicados individualmente, sequencialmente ou combinados entre si, determinando o número de etapas necessárias à realização do protocolo adesivo, em um, dois ou três passos (Perdigão, 2020).

Após o desenvolvimento dos sistemas adesivos de condicionamento total, foram introduzidos os sistemas adesivos autocondicionantes, os quais permitiam uma ação simultânea de condicionamento do esmalte e dentina e de *primer*, dispensando a etapa de lavagem. A ausência da lavagem traduzir-se-á numa integração da *smear layer* e da hidroxiapatite dissolvidas no adesivo (Van Meerbeek et al., 1994; Reis et al., 2001; Garone, 2002).

3.1. Adesivos de Condicionamento Ácido Total (*Etch-and-Rinse*)

Os sistemas adesivos de condicionamento ácido total ou convencionais, eram anteriormente conhecidos como sistemas adesivos de 4ª e 5ª geração. Padronizam o condicionamento ácido total do esmalte e da dentina, separadamente dos outros passos. (Figura 3)

No esmalte, o condicionamento ácido promove a desmineralização dos prismas de hidroxiapatite, criando poros que aumentam a energia livre de superfície e garantem a “molhabilidade” ótima, promovendo assim a microrretenção mecânica do elemento adesivo (Perdigão et al., 2007).

Na dentina, o condicionamento ácido visa a remoção total da *smear layer* produzida durante o preparo cavitário, uma vez que esta não permite que uma boa adesão seja estabelecida entre o substrato e a resina composta (Namen et al., 1998).

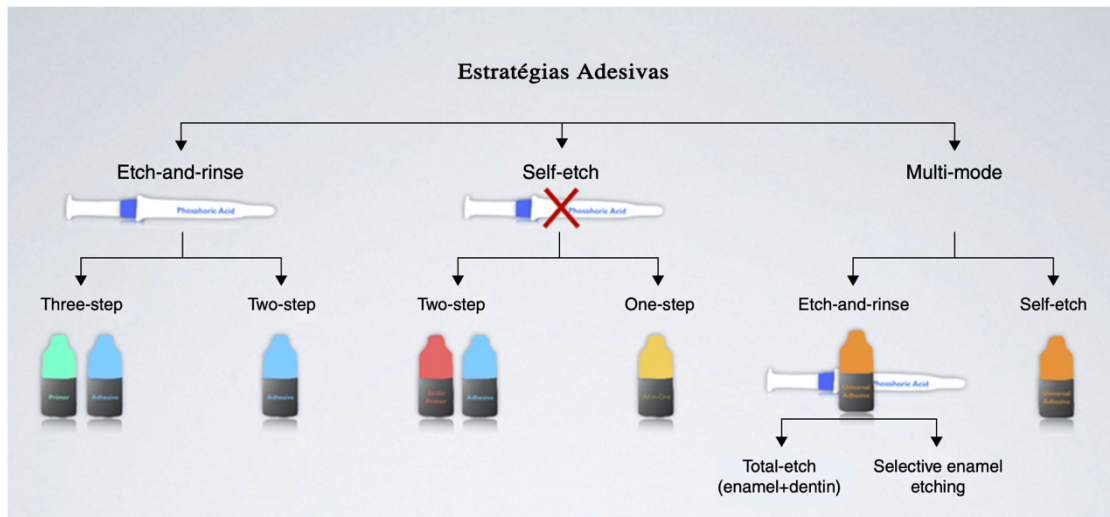


Figura 2– Classificação dos sistemas adesivos pela técnica Etch-and-Rinse consoante os vários passos clínicos (Retirada e adaptada “A. Sezinando et al, 2014)

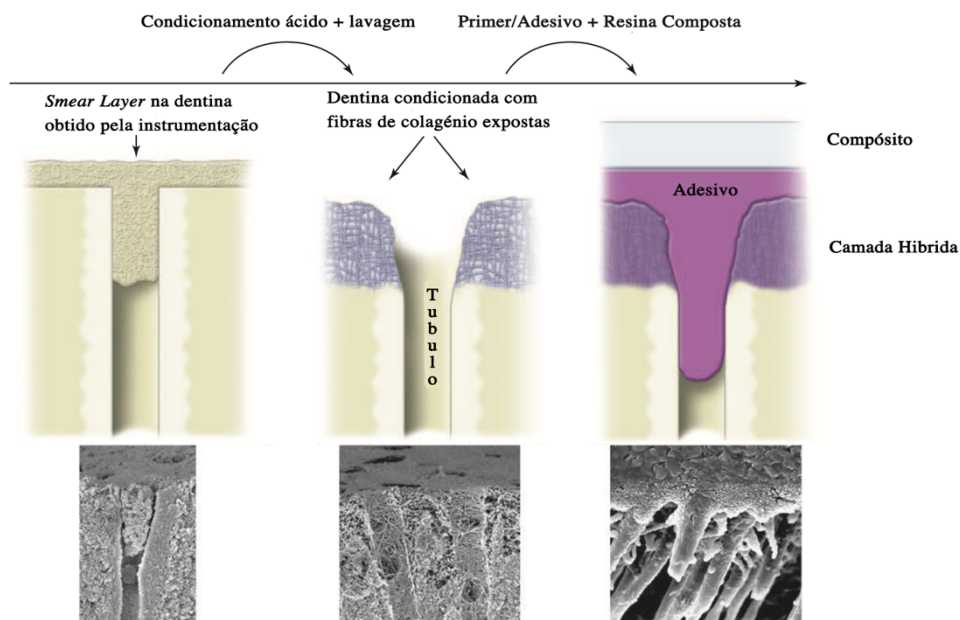


Figura 3- Técnica Etch-and-Rinse, procedimento de adesão (Retirada e adaptada “Sturdevant’s Art & Science Of Operative Dentistry”, 7th Edition).

3.2. Sistemas Adesivos Autocondicionantes (*Self-Etch*)

Após o aparecimento dos sistemas de condicionamento ácido total, surgiram os sistemas adesivos autocondicionantes ou *Self-Etch*, previamente conhecidos por sistemas de 6ª e 7ª geração.

São em tudo semelhantes aos seus predecessores à exceção da primeira etapa, de aplicação de ácido que, ao invés de ser um passo individual, foi adicionado ao *primer*.

Podem apresentar-se de duas formas distintas, com diferente número de passos de aplicação. Podem apresentar-se como sistemas autocondicionantes de 2 passos, com primers autocondicionantes, nos quais é feita a combinação do ácido e do *primer*, que passa a ser um *primer* acídico e precede a aplicação do adesivo selecionado. Por outro lado, podem apresentar-se como sistemas autocondicionantes de apenas um passo, nos quais é feita a combinação do *primer* acídico com a resina adesiva, resultando numa única solução a ser aplicada sobre o substrato. Em alguns destes sistemas o *primer*, ácido e adesivo estão disponíveis em diferentes compartimentos dentro da embalagem, de modo a prevenir a alteração dos elementos fotossensíveis pela substância ácida (Carvalho et al., 2004).

Os adesivos *Self-Etch* são especialmente importantes em substâncias não lavadas, capazes de funcionar simultaneamente como condicionadores de esmalte, dentina e primers, impedindo que se forme uma camada desmineralizada e não infiltrada por adesivo. Assim, permitem que a desmineralização da dentina e penetração do adesivo ocorram em simultâneo, dispensando outras etapas. Uma vez que é dispensada a etapa de lavagem do ácido, como previamente referido, a hidroxiapatite e a *smear layer* serão incorporadas no sistema adesivo (Garone, 2002).

Os adesivos *Self-Etch* possuem valores de força de ligação à dentina muito semelhantes aos conseguidos pelos sistemas *Etch-and-Rinse* (Perdigão et al., 1997; Rosa et al., 2001; Garone, 2002).

Já no esmalte o mesmo não é verificado, apresentando os sistemas adesivos *Self-Etch* valores de ligação inferiores aos conseguidos pelos sistemas *Etch-and-Rinse*, incapazes ainda de não promover o grau de retenção alcançado com o uso do ácido fosfórico (Perdigão et al., 1997; Garone, 2002).

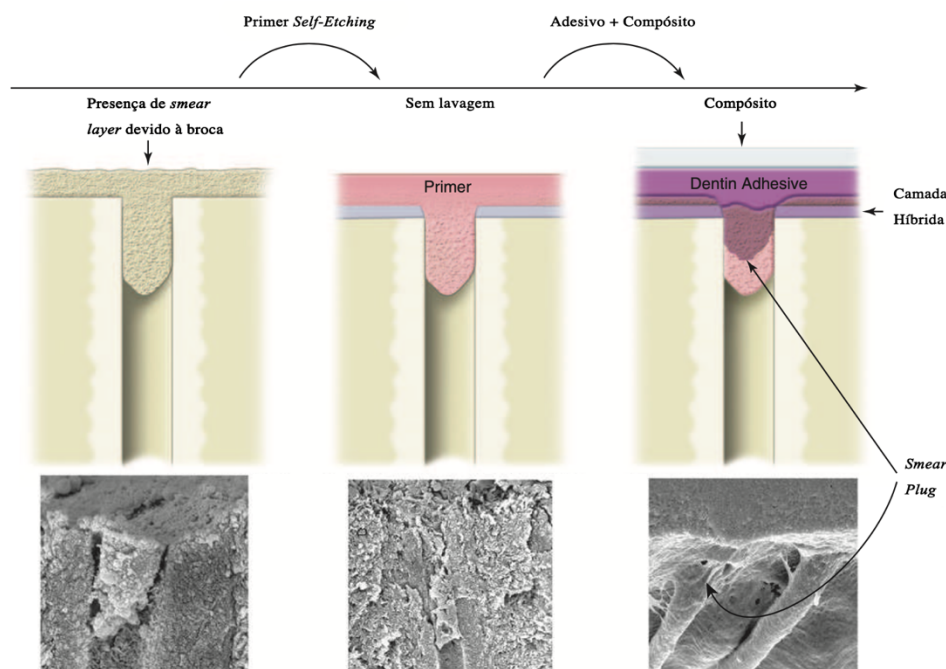


Figura 4- Técnica Self-Etch, procedimento de adesão (Retirada e adaptada “Sturdevant’s Art & Science Of Operative Dentistry”, 7th Edition).

A teoria dita que um selamento da dentina superior ocorreria com os sistemas adesivos autocondicionantes, uma vez que seria eliminada a diferença entre a profundidade de desmineralização e o grau de penetração dos monómeros resinosos do *primer* (Carvalho et al., 1999).

A ausência de lavagem associada à componente acídica destas substâncias poderia apresentar um problema, levando a uma desmineralização contínua do substrato. Porém, tal não se verifica, uma vez que os tecidos mineralizados do dente, tais como o esmalte e a dentina, têm uma capacidade de tamponamento ácido, isto é, após alguns segundos de contacto, neutralizam a sua ação desmineralizante, cessando-a por completo (Carvalho et al., 2004).

Não obstante do previamente referido, a adesão irá depender ainda de outros fatores, tais como a composição do sistema adesivo selecionado e o pH inerente ao mesmo. Os adesivos *Self-Etch* têm na sua composição monómeros acídicos que contêm como grupos funcionais, mono ou di-ésteres. Como tal, pelo menos um a dois átomos de hidrogénio do ácido fosfórico são substituídos pelo grupo metacrilato. O potencial dissociativo do di-éster do ácido fosfórico é inferior ao do ácido fosfórico, sendo o ácido mais fraco (Van Meerbeek et al., 2003).

No que diz respeito ao pH, os adesivos *Self-Etch* podem ser classificados com base na acidez do *primer* que integram (Busato et al, 2005), classificação proposta por autores como Pashley e Tay em 2001 e Van Meerbeek et al., em 2003.

Uma outra forma de classificação pode ser dada pela acidez ou capacidade de condicionamento, dividindo-os em *strong*, com pH <1, *intermediatly strong*, de pH≈1.5 ou *mild*, cujo pH será superior a 2. (Sofan et al., 2017)

É defendido por diversos autores que estes são os sistemas adesivos com menor resistência adesiva (Vieira e Fukuchi, 2002; Rocha et al., 2003) e ainda que apresentam resultados de microinfiltração semelhantes aos verificados nos sistemas adesivos de 4ª e 6ª geração (Donassollo et al., 2010) ou de 5ª e 6ª geração (Scavuzzi et al., 2001), enquanto que Dutra et al. (2003) demonstraram experimentalmente valores superiores de infiltração marginal nestes sistemas adesivos.

3.3. Sistemas Adesivos Universais

Os sistemas adesivos universais ou *multi-modo* são sistemas *Self-Etch* de um único passo, passíveis de serem aplicados quer no esmalte, quer na dentina, com ou sem recurso a condicionamento ácido (Giannini et al., 2015). O conceito por detrás da sua criação advém dos já presentes sistemas de um só passo, conhecidos como *Self-Etch* ou “*all- in-one*”, acrescendo a vantagem clínica de serem versáteis consoante o substrato no qual se pretende obter adesão (Wagner et al., 2014).

Estes sistemas adesivos foram introduzidos no mercado no ano de 2011, sendo constituídos por um só frasco, dispensando assim a mistura dos seus elementos e simplificando o protocolo adesivo inerente às variadas técnicas adesivas, de *Etch-and-Rinse*, *Self-Etch* e *Selective Enamel Etching* do esmalte. Assim, torna-se possível satisfazer de forma mais simples as necessidades clínicas e até as preferências do profissional (Sezinando, 2014).

Os sistemas universais, bem como acontece nos sistemas *Self-Etch*, contêm na sua constituição água, para alcançar a ionização dos monómeros acídicos hidrofílicos presentes (Luque-Martinez et al., 2014).

Contêm também monómeros acídicos funcionais, que irão possibilitar uma adesão química à estrutura dentária. Destes monómeros é de salientar o 10- MDP (Breschi et al., 2013; Alex et al., 2015; Muñoz et al., 2015). Para além do previamente referido, algumas formulações mais recentes contêm agentes de acoplamento de silano, que visam permitir e magnificar a adesão a alguns materiais cerâmicos (Breschi et al., 2013).

A classificação dos sistemas universais atualmente disponíveis no mercado é feita com base no valor do pH (potential hydrogenionic) da formulação, oscilando este entre 2,2 e 3,2. Já no que concerne à sua capacidade de condicionamento da dentina, podem ser classificados em *mild*, de pH superior a 2 e *ultramild*, cujo pH é superior a 2,5 (Wagner et al., 2014).

Este intervalo de pH oferece uma boa adesão à dentina, condicionando, porém, a adesão ao esmalte, que se revela mais difícil de alcançar, em particular quando não há a sua instrumentação. Com vista a solucionar esta limitação, foi desenvolvida a técnica adesiva de *Selective Enamel Etching* (Wagner et al., 2014).

Quando à adesão à dentina, a escassez de informação que se verifica abre lugar para questões e especulações sobre a eficácia comparativa face a outras técnicas e a superioridade ou não, da técnica adesiva em questão (Chen et al., 2015).

Os fabricantes defendem que a adesão à dentina pode ser conseguida com o substrato hidratado ou desidratado. No entanto, a falta de estudos publicados sobre o tema e com análise específica desta variável, quer clínicos, quer *in vitro*, impossibilitam a

elaboração de um protocolo conclusivo e de eficácia comprovada (Loguercio et al., 2015a).

Para a criação de um sistema adesivo universal altamente específico para cada substrato, é necessária a utilização de monómeros funcionais como os referidos anteriormente. Estes monómeros devem ser capazes de reagir com uma grande variedade de substratos, bem como ter o poder de polimerizar na presença de compostos resinosos e cimentos quimicamente compatíveis. Devem ainda ser capazes de aderir à dentina, húmida, apresentando uma certa hidrofília, sem dispensar a hidrofobicidade necessária ao desencadeamento da hidrólise gradual da água, após sofrerem polimerização (Wagner et al., 2014).

Muñoz et al., (2013) afirma que a adesão à dentina destes sistemas adesivos passa pelo seu valor de pH desmineralizar parte desta, deixando uma substancial quantidade de cristais de hidroxiapatite à volta das fibras de colagénio. Como estes sistemas adesivos possuem o monómero 10-MDP na sua composição, os sistemas adesivos irão se ligar quimicamente à dentina. Yoshida et al., em 2012 mostraram que esta interação química efetiva ocorre entre o 10-MDP e a hidroxiapatite formando uma nano-camada estável que poderia resultar de uma ligação mais forte entre os compostos, aumentando a resistência mecânica da interface. Além disso, a deposição de sal que forma a camada 10MDP-Ca juntamente com esta nano-camada presente pode explicar a alta estabilidade da ligação que já foi comprovada por pesquisas laboratoriais e clínicas.

Contudo qualquer sistema adesivo apresenta diversas limitações relativamente à adesão. A principal causa da falha da interface adesiva em dentina assenta na degradação hidrolítica das fibras de colagénio bem como da resina levando a que ocorra o fenómeno de nanoinfiltração (Sano et al., 1995).

3.3.1. Composição Química dos Sistemas Adesivos Universais

Os sistemas adesivos universais apresentam uma composição química semelhante aos sistemas adesivos *Self-Etch*, tendo como diferença principal o valor de pH que por norma é sempre mais alcalino (Cuevas-Suarez et al., 2019).

Os sistemas adesivos universais revelam-se assim como um líquido viscoso que consiste numa formulação de misturas de monómeros à base de resina, monómeros *cross-linking* (*p.ex* Bis-GMA, TEGDMA, UDMA), monómeros funcionais (*p.ex* 10-MDP, HEMA), solventes (Etanol, Acetona e Água), iniciadores (*p.ex* Canforoquinona), inibidores e algumas vezes com partículas de carga inorgânica (Figura 5) (Papadogiannis et al., 2019; Cuevas-Suarez et al., 2019).

Para formular estes adesivos é importante conseguirmos que a componente hidrofílica dos mesmos se equilibre com a sua componente hidrofóbica visto que, os monómeros de resina hidrofílicos funcionais facilitam a infiltração da resina dentro da superfície de dentina desmineralizada e húmida, enquanto que os monómeros de resina de reticulação hidrofóbica fornecem a resistência mecânica, estabilidade e compatibilidade entre o sistema adesivo e compostos resinosos (Bedran-Russo et al., 2017).

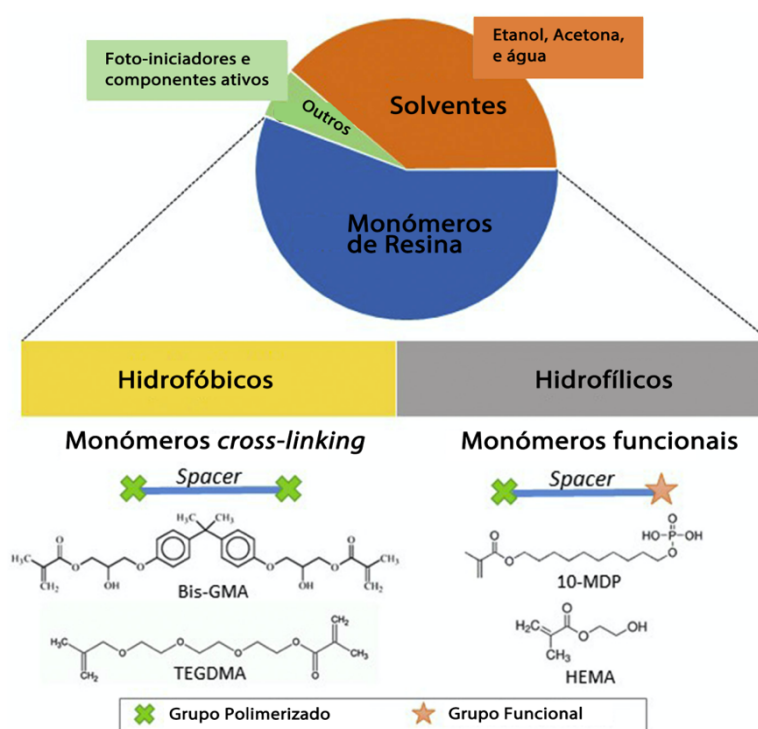


Figura 5- Composição dos sistemas adesivos universais. (Retirado e Adaptado de Bedran-Russo et al., 2017)

O desafio principal assenta assim em conseguir encontrar uma conjugação perfeita de monómeros compatíveis que tenham inicialmente propriedade hidrofílicas e que depois de serem polimerizados, formem uma camada adesiva hidrofóbica estável e com a maior longevidade possível (Bedran-Russo et al., 2017).

Novos monómeros têm vindo a ser estudados para a introdução nos sistemas adesivos universais como é exemplo o G-HEMA, um dendrímero. Estes monómeros dendríticos reticulados de segunda geração derivam do metacrilato de 2-isocianoetilo (HEMA) possuindo 8 extremidades onde poderá ocorrer a sua polimerização. Por este motivo é espectável que se alcance elevadas taxas de conversão que se irá traduzir numa melhoria das propriedades mecânicas do adesivo (Vasconcelos et al., 2019).

4. Nanoinfiltração

De modo a assegurar a eficácia dos sistemas adesivos, estes devem garantir a longevidade das restaurações, com o devido selamento das margens da restauração a fluidos orais e microrganismos (Kidd, 1976; Van Meerbeek et al., 1998).

Sano et al., (1995), evidenciou um tipo de infiltração diferente. Pela observação da penetração do nitrato de prata ao longo da interface adesiva sem fendas com diversos sistemas adesivos, sob microscópio eletrónico de varrimento (MEV) ou de microscópio eletrónico de transmissão (MET), relataram um padrão de infiltração que acontece nos espaços nanométricos ao redor das fibras de colagénio da camada híbrida, a qual se designa por nanoinfiltração. Esta infiltração demonstra a penetração através da camada híbrida e pode ser resultante de uma infiltração do composto resinoso na dentina desmineralizada.

Ao contrário da microinfiltração que podemos observar fendas com um tamanho na ordem dos 20 a 50 μm , na nanoinfiltração estes valores podem rondar os 0,02 μm (Tay et al., 2002).

É importante diferenciar a nanoinfiltração da microinfiltração, uma vez que, estes dois fenómenos são independentes. A primeira é menos extensa e não possui elevada

relevância clínica a curto prazo. No entanto, a longo prazo, a estabilidade das ligações adesivas entre a dentina e o material restauradora poderá ser comprometida irreversivelmente (Pióch et al., 2001).

A nanoinfiltração é definida pela permeabilidade da camada híbrida a iões de tamanho reduzido ou de até mesmo moléculas, na ausência da formação detetável de falhas da interface (Suppa et al., 2005). De acordo com Prati et al., (2005), pensa-se que esta resulta de uma combinação de mecanismos, tal com a presença de monómeros hidrofílicos, a infiltração insuficiente dos monómeros na matriz de colagénio desmineralizado bem como a remoção débil de água ou de solventes que permanecem retidos na camada híbrida. Esta também poderá ter início na contração do material restaurador no decorrer da fotopolimerização ou na eluição dos monómeros residuais do sistema adesivo (Prati et al., 2005).

Os monómeros residuais que não sofreram polimerização e os produtos resultantes da reação química de hidrólise, dissolvem-se da interface, aumentando o número e dimensões das nanoporosidades da dentina, camada híbrida e camada adesiva, criando novos canais para a penetração da água (Li et al., 2001; Hashimoto et al., 2003).

A degradação desta interface tem a capacidade de influenciar negativamente a longevidade da adesão (Hashimoto et al., 2000).

Este tipo de infiltração pode permitir assim a penetração de produtos bacterianos e dentinários, a passagem dos fluídos orais bem como, fluídos pulparez ácidos para dentro das porosidades existentes na camada híbrida e adjacentes à mesma. O grau de penetração dentro das porosidades depende do tipo de sistema adesivo aplicado e também, das variáveis associadas tais como o tempo de condicionamento ácido e a excessiva humidade da dentina comprometendo assim a estabilidade da ligação dentina-resina (Eick et al., 1997).

A nanoinfiltração acontece então quando, a água ao penetrar na interface adesiva através da polpa, vai plastificar as fibras colagénicas desprotegidas e o polímero de resina, estabelecendo ligações de hidrogénio e hidrolisando as ligações covalentes no interior do colagénio e dos polímeros resinosos. Também as metaloproteínases (MMP's,)

interferem na hidrólise do colagénio, devido ao ambiente ácido promovido pelo pH do adesivo (normalmente ácido) e ao ambiente aquoso pois a presença de água é constante, que faz com que as MMP's sejam ativadas e degradem o colagénio presente. Ao degradar o colagénio estas contribuem para a degradação da interface e consequentemente ocorre uma maior penetração de água. Também as catepsinas presentes na dentina e na saliva, degradam as proteínas da matriz extracelular (Tay et al., 2003; De Munck et al., 2005).

No trabalho de Tay et al., em 1995, a nanoinfiltração foi utilizada com vista a avaliar o selamento e a estabilidade adesiva, após imersão prolongada em solução aquosa, verificando a presença de água na interface. Os adesivos *Etch-and-Rinse* de dois passos contêm usualmente grãos de prata em nano poros que envolvem as fibras de colagénio, não embebidos pelos monómeros resinosos (Perdigão et al., 2011), devido à discrepância da desmineralização da dentina face à infiltração dos monómeros de resina, o que se apresenta como característico destes sistemas. Já os adesivos *Self-Etch* de um passo, contêm uma solução adesiva altamente hidrofílica e com abundante quantidade de solventes, responsável por os tornar membranas altamente permeáveis e com capacidade de absorver quantidades substanciais de água. Tudo isto se poderá traduzir num grau de polimerização inferior e consequente degradação superior das resinas adesivas, manifestada por uma infiltração superior de nitrato de prata nas camadas resinosa e híbrida destes sistemas adesivos (Sano et al., 1995; Li et al., 2001).

Os adesivos universais são compostos por fórmulas adesivas com concentrações elevadas de monómeros hidrofílicos, solventes e água, semelhantes às de sistemas adesivos simplificados de gerações prévias. As semelhanças de composição levantam questões sobre a sua suscetibilidade à nanoinfiltração, em especial quando é seguido o protocolo adesivo *Etch-and-Rinse* de dois passos. Porém, os fabricantes defendem que estes sistemas são capazes de aderir química e estavelmente à dentina, livres dessa mesma suscetibilidade (Tay et al., 2002).

As semelhanças químicas aos sistemas de gerações anteriores justificam a utilização da nanoinfiltração como método de avaliação do selamento da interface adesiva formada entre a dentina e os adesivos universais. Estes sistemas foram recentemente introduzidos no mercado e há ainda escassez de literatura publicada sobre o comportamento de nanoinfiltração nas suas interfaces adesivas. A deposição de nitrato

de prata ao longo da interface adesiva, em observação microscópica eletrônica, pode apresentar diversos padrões, sendo eles: grão de prata isolados e padrões interligados, onde se incluem os depósitos reticulares e os depósitos em forma de árvores de água (Tay et al., 2004).

O padrão reticular pode ocorrer quer na camada de adesivo, quer na camada híbrida. Quando presente na face inferior da camada híbrida, irá corresponder a regiões de nano poros dentinários não preenchidos por resina, ou a localizações de fases hidrofílicas entre a resina (Hashimoto et al., 2000; Tay e Pashley, 2003). Quando as gotículas de água se aglutinam observam-se, a nível microscópico, canais preenchidos com água, que são habitualmente conhecidos como “*water-trees*” (Tay et al., 2002).

Tay, em 2002 (Tay e Pashley, 2003), introduziu a designação de “*water-tree*” ou árvores de água, tendo descrito os fenómenos por detrás da permeabilidade dos sistemas adesivos. Este padrão corresponde a uma forma específica de deposição de prata na camada adesiva, resultante essencialmente da presença abundante de água e/ou solvente residual. Em 2007, Reis et al. sugeriram tratar-se de são regiões potenciais para a degradação da interface e adesão resina/dentina, por fenómenos de hidrólise.

Os adesivos hidrofílicos apresentam uma elevada afinidade para absorção da água existente na dentina. Quando o solvente dos sistemas adesivos evapora, ocorre um aumento da concentração de monómeros e uma hipertonidade do adesivo, que irá atrair mais água da dentina. Esta atração de água é especialmente pronunciada se tiver havido remoção da *smear layer* (Tay e Pashley, 2003).

De forma a quantificar a nanoinfiltração, muitas vezes, os estudos referentes ao tema são realizados com recurso a partículas de prata. As partículas dos iões de prata apresentam dimensões reduzidas (0,059 nm), em comparação com as bactérias (0,5 a 1 µm), alcançando elevados níveis de penetração. Assim, um sistema capaz de evitar a penetração dos iões de prata, irá igualmente prevenir a infiltração bacteriana. No entanto, ainda que os nano poros sejam suficientemente pequenos para evitarem a infiltração bacteriana, revelam-se grandes o suficiente para que ocorra a infiltração de água, produtos enzimáticos ou ácidos, igualmente responsáveis pela degradação gradual da interface adesiva (Sohn et al., 2008).

O baixo peso molecular e a solubilidade em água do nitrato de prata permitem identificar nanoporosidades na interface adesiva, bem como em locais com presença de domínios de água, quer estes resultem da incorreta evaporação do solvente, da incorreta substituição da água da dentina pelos monómeros de resina, da presença de domínios hidrofílicos na matriz de resina, da presença de separação de fases dos constituintes dos adesivos (Li et al., 2000; Perdigão et al., 2011) ou da presença de áreas de incompleta conversão dos monómeros (Sano, 2006).

Com base no previamente referido, é compreensível que a nanoinfiltração tenha vindo a constituir um relevante método de avaliação da capacidade de selamento das restaurações, da durabilidade da adesão e da qualidade da camada híbrida. Assim, pode ser utilizada como uma metodologia de investigação complementar para o estudo *in vitro* dos sistemas adesivos a aplicar na dentina e extrapolar sobre a sua eficácia clínica (Van Meerbeek et al., 1998; Li et al., 2003).

Inúmeros corantes de prata têm vindo a ser utilizados para a avaliação laboratorial da capacidade de selamento dos sistemas adesivos, sendo eles o nitrato de prata, nitrato de prata amoniacal e metamina de prata (Sano et al., 1994; Duarte et al., 2006).

A localização dos focos de nanoinfiltração é facilmente detetada quando a superfície é analisada com microscopia eletrônica com detetor de eletrões retrodifundidos (Hashimoto et al., 2000; Tay et al., 2003).

Na observação por MEV, o feixe de eletrões penetra alguns micrómetros no seu interior dependendo da natureza do espécime e da voltagem de aceleração usada. Consequentemente, vai haver libertação de eletrões que permitem a visualização da penetração do nitrato de prata pelas interfaces em estudo. Os elementos de elevado número atómico, como a prata, quando comparados com o do cálcio e do fósforo refratam um maior número de eletrões, aparecendo imagens muito brancas e brilhantes (Sano et al., 1995; Li et al., 2000), que em contraste com a imagem circundante reproduz a informação sobre a penetração do corante (Li et al., 2000). A avaliação do espécime em SEM com detetor de eletrões secundários fornece essencialmente informação acerca da topografia da interface (Tay et al., 1995).

Podem ocorrer interações químicas entre o corante, os materiais restauradores e a dentina, e estas podem ser responsáveis pela sua difusão (Li et al., 2003).

Tay et al. (1995) verificaram a estabilidade do nitrato de prata e que os seus sedimentos se mantêm no local onde precipitam, mesmo que ocorra a desmineralização dos espécimes. Esta característica é fundamental, para que os corantes se mantenham fixos e impeçam uma penetração posterior do agente (Sano et al., 1995; Li et al., 2000).

O padrão isolado de prata tende a ocorrer entre a camada de adesivo ou o espaço fibrillar da dentina desmineralizada e corresponde a pequenas áreas localizadas com água no seu interior (Duarte et al., 2006). Estes grãos formam-se devido à ligação iónica de moléculas de água às extremidades polares dos polímeros e representam microdomínios na resina não sofreram uma correta polimerização. Estes microdomínios originam regiões de superior flexibilidade na resina, capazes de conter moléculas de água e podem conduzir ao aumento da permeabilidade da resina à água. Ainda que variem em dimensão, os grãos apresentam uma tendência a permanecerem isolados, mesmo quando densamente aglomerados numa determinada localização (Tay et al., 2004).

II. OBJETIVOS

Avaliar a nanoinfiltração na dentina de dois sistemas adesivos universais experimentais (EM1 e EM2) e de dois sistemas adesivos universais comerciais (*ScotchbondTM Universal* e *Futurabond[®] M+*), nas vertentes *Etch-and-Rinse* e *Self-Etch*

Hipóteses Experimentais

H₀: Não existem diferenças significativas na nanoinfiltração na dentina, nos sistemas adesivos universais estudados, nas vertentes *Etch-and-Rinse* e *Self-Etch*;

H₁: Existem diferenças significativas na nanoinfiltração na dentina, nos sistemas adesivos universais estudados, nas vertentes *Etch-and-Rinse* e *Self-Etch*.

III. MATERIAIS E MÉTODOS

1. Preparação das amostras

Inicialmente, o protocolo deste trabalho experimental foi submetido à Comissão de Ética do Instituto Universitário Egas Moniz (IUEM), Monte da Caparica – Portugal, tendo o mesmo sido aprovado.

Para o estudo foram utilizados 24 dentes molares humanos hígidos, sem cáries, nem restaurações, extraídos por motivos periodontais ou ortodônticos e armazenados por não mais de seis meses em água destilada a 4°C de acordo com a norma ISO 11405:2015, tendo sido cedidos pelo Banco de Dentes do IUEM, Monte da Caparica – Portugal. (Figura 6)



Figura 6 - Molares Humanos hígidos cedidos pelo banco de dentes do IUEM

A amostra total foi dividida aleatoriamente em 8 grupos, quatro grupos utilizando a técnica *Etch-and-Rinse* (n= 3) e quatro grupos utilizando a técnica *Self-Etch* (n= 3), sendo testado nesta forma, 2 sistemas adesivos universais experimentais com e sem Bis-GMA, e 2 sistemas adesivos universais comerciais com Bis-GMA. (Tabela 1).

Tabela 1- Grupos de Trabalho

Sistema adesivo universal experimental com Bis-GMA (EM1) Sistema adesivo universal experimental sem Bis-GMA (EM2) <i>ScotchbondTM Universal</i> (SBU) (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) <i>Futurabond[®] M+</i> (FUT) (Voco, Cuxhaven, Germany)	<i>Etch-and-Rinse</i> (Técnica Adesiva)	EM1-ER EM2-ER SBU-ER FUT-ER
Sistema adesivo universal experimental com Bis-GMA (EM1) Sistema adesivo universal experimental sem Bis-GMA (EM2) <i>ScotchbondTM Universal</i> (SBU) (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) <i>Futurabond[®] M+</i> (FUT) (Voco, Cuxhaven, Germany)	<i>Self-Etch</i> (Técnica Adesiva)	EM1-SE EM2-SE SBU-SE FUT-SE

Os adesivos escolhidos para este estudo foram os Sistemas Adesivos Universais Experimentais com Bis-GMA (EM1) e o Sistema Adesivo Universal Experimental sem Bis-GMA (EM2) formulados por Vasconcelos et al., 2019, o *ScotchbondTM Universal* (SBU) (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) e o *Futurabond[®] M+*(FUT) (Voco, Cuxhaven, Germany). Na tabela 2 é referenciada a composição, o lote, a validade e o pH dos sistemas e materiais utilizados.

Tabela 2 - Composição, Lote, Validade e pH de cada material utilizado

Componentes (% w/w)													
Adesivos	Bis-GMA	UDMA	HEMA	G-IEMA	TEGDMA	BDA	CQ	HPDPI	10-MDP	Etanol	Água	pH	Lote
Adesivos Comerciais													
SBU	15–25	0	15–25	0	0	<2	<2	0	—*	10–15	10–15	3,08	90624A
FUT	10–25	2,5–5	10–25	0	0	0	<2,5	0	2,5–5	10–25	0	2,46	1946143
Adesivos Experimentais													
EM1	10–15	5–10	10–25	0	5–10	<2	<2	1,5–2	2–5	10–25	10–15	2,02	----
EM2	0	5–10	10–25	10–15	5–10	<2	<2	1,5–2	2–5	10–25	10–15	2,24	----

SBU: Scotchbond Universal, 3M ESPE, St. Paul, USA; FUT: Futurabond M+, VOCO GmbH, Cuxhaven, Germany;

* – % 10-MDP not known; (% w/w- percentage is expressed as weight/weight).

(Tabela retirada e adaptada de Vasconcelos et al., 2019)

Inicialmente os dentes foram colocados num cubo de acrílico com cera (Figura 7a), sendo posteriormente seccionados num micrótomoto de tecidos duros (*Accutom-50*, *Struers*, Dinamarca) (Figura 7b), para remover as raízes e as cúspides. Este corte foi realizado perpendicularmente ao longo eixo do dente com um disco diamantado a 1500rpm irrigado com água.



Figura 7 – (a) Dente aplicado no porta amostras. (b) Micrótomoto de tecidos duros (Accutom-50, Struers, Dinamarca)

Posteriormente, os dentes foram separados dos cubos de acrílico e as câmaras pulpares foram limpas com um escavador de dentina e preenchidas com cola de cianoacrilato (Figura 8a) seguido de um polimento sob água corrente durante 6/7 voltas

com uma lixa de SiC de 600 *grit* (Figura 8b), numa polidora (LaboForce-1 Struers, Denmark) (Figura 8c) com o propósito de remover todo o esmalte remanescente de forma a obter uma camada de dentina superficial homogênea e ao mesmo tempo simular a formação da *smear layer* (ISO 11405:2015).

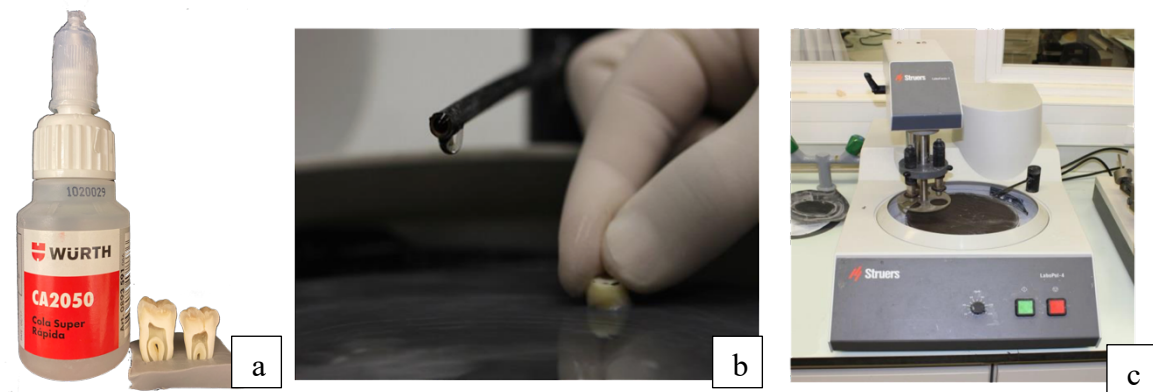


Figura 8– (a) Cola de cianoacrilato para preenchimento da câmara pulpar. (b) Polimento da amostra. (c) Polidora (LaboForce-1, Struers, Denmark)

2. Colocação dos sistemas adesivos



Figura 9 - Sistemas adesivos utilizados no estudo

Os sistemas adesivos foram aplicados conforme a norma e as instruções do fabricante (Tabela 3) nas duas vertentes adesivas selecionadas (*Etch-and-Rinse* e *Self-Etch*) nos respectivos grupos (Tabela I)

Tabela 3 - Instruções de aplicação dos adesivos segundo o fabricante

Adesivo/Estratégia de adesão		Modo de aplicação segundo fabricante
EM1 (Sistema Adesivo Universal Experimental com Bis-GMA)	ER	Aplicação do Ácido: Aplicar o ácido por 15 segundos; Lavar abundantemente com água 15 segundos; Secar com jato de ar sem desidratar. Aplicação do Adesivo: Aplicar o adesivo por 20 segundos com agitação vigorosa; Aplicar jato de ar suave por 5 segundos; Fotopolimerizar 60 segundos.
	SE	Aplicação do Adesivo: Aplicar o adesivo por 20 segundos com agitação vigorosa; Aplicar jato de ar suave 5 segundos; Fotopolimerizar 60 segundos.
EM2 (Sistema Adesivo Universal Experimental sem Bis-GMA)	ER	Aplicação do Ácido: Aplicar o ácido por 15 segundos; Lavar abundantemente com água 15 segundos; Secar com jato de ar sem desidratar. Aplicação do Adesivo: Aplicar o adesivo por 20 segundos com agitação vigorosa; Aplicar jato de ar suave por 5 segundos; Fotopolimerizar 60 segundos.
	SE	Aplicação do Adesivo: Aplicar o adesivo por 20 segundos com agitação vigorosa; Aplicar jato de ar suave 5 segundos; Fotopolimerizar 60 segundos.

SBU (Scotchbond™ Universal (3M ESPE, St. Paul, MN, USA))	ER	Aplicação do Ácido: Aplicar o ácido por 15 segundos; Lavar abundantemente com água 10 segundos; Secar com jato de ar ou pontas de algodão. Aplicação do Adesivo: Aplicar o adesivo por 20 segundos com agitação vigorosa; Aplicar jato de ar suave por 5 segundos; Fotopolimerizar 10 segundos.
	SE	Aplicação do Adesivo: Aplicar o adesivo por 20 segundos com agitação vigorosa; Aplicar jato de ar suave 5 segundos; Fotopolimerizar 10 segundos.
FUT (Futurabond® M+ (Voco, Cuxhaven, Germany))	ER	Aplicação do Ácido: Aplicar o ácido por 15 segundos; Lavar abundantemente com água 20 segundos; Secar com jato de ar para remover excessos e ficar com aspeto fosco acetinado. Aplicação do Adesivo: Aplicar o adesivo esfregando 20 segundos; Aplicar jato de ar pelo menos 5 segundos; Fotopolimerizar 10 segundos.
	SE	Aplicação do Adesivo: Aplicar o adesivo esfregando 20 segundos; Aplicar jato de ar pelo menos 5 segundos; Fotopolimerizar 10 segundos.

Posteriormente à aplicação do adesivo, foram elaborados blocos de resina de acordo com as instruções do fabricante (Tabela 4) com resina composta *Filtek Z250* de cor A3 (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) (Figura 10) em incrementos de 2mm e de seguida fotopolimerizados com um aparelho fotopolimerizador *Optilux 501* com uma intensidade de fotopolimerização igual a 600mW/cm² (Kerr, Middleton, USA) (Figura 11) durante 40 segundos, por cada incremento, até perfazer 6-8mm de altura. A intensidade da lâmpada foi verificada a cada 10 utilizações com um radiómetro *Demetron 100* (Kerr, Middleton, USA).



Figura 10 - Filtek™ Z250 (3M ESPE, St.Paul, MN, USA)

Tabela 4- Instruções de aplicação da resina composta segundo o fabricante

Instruções de aplicação da resina composta segundo o fabricante:	
1 – Aplicar camadas de 2mm de espessura de cada vez;	
2 – Entre cada camada fotopolimerizar durante 40 segundos com fotopolimerizador (Figura 10)	



Figura 11 – Fotopolimerizador Optilux 501 (Kerr, Middleton, USA)

Após a aplicação da resina composta, os espécimes de cada um dos grupos foram imersos em água destilada e armazenados a 37°C durante 24 horas numa estufa de incubação (*Memmert INE 400, Memmert, Germany*). (Figura 12)



Figura 12 - Estufa de Incubação (Memmert INE 400, Memmert, Germany)

3. Preparação das amostras para observação em FEG-SEM

Após decorrer 24h, as amostras foram retiradas da estufa e posteriormente cortadas num micrótomo de tecidos duros (*Accutom-50, Struers, Dinamarca*) (Figura 7b) na direção X, de forma a obter fatias com 0,7mm de secção.

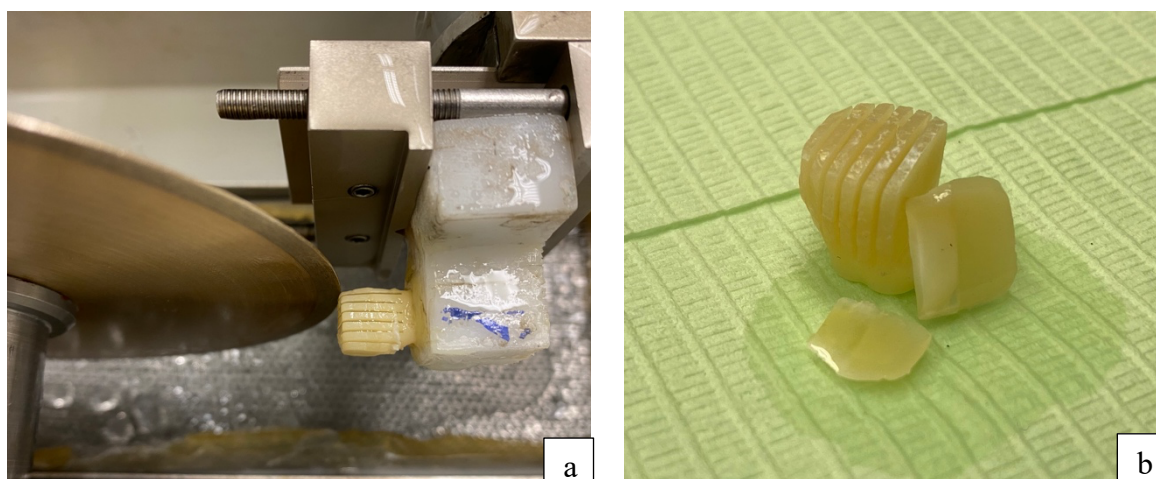


Figura 13 – (a) Corte das amostras num micrótomo de tecidos duros (*Accutom-50, Struers, Dinamarca*). (b) Amostra em fatias com 0,7mm

Em cada grupo experimental, foram selecionadas 10 fatias, e as respetivas amostras foram armazenadas em 5ml de água desionizada durante 3 meses em estufa a 37°C para ser possível observar a degradação hidrolítica.

Após o decorrer destes 3 meses em estufa a 37°C, os espécimes que em fatias de 0,7mm, foram revestidos com duas camadas de verniz de unhas, à exceção de 1mm à volta da interface adesiva, permitindo que essa zona de interface fique exposta ao agente impregnante.



Figura 14 – Preparação das fatias de 0,7mm com revestimento a verniz para observação FEG-SEM

Posteriormente, foi preparada uma solução aquosa de nitrato de prata amoniacal a 50% por peso (Tay et al. 2002) à qual se acrescentou uma solução de 28% de hidróxido de amónia (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA) de modo a ajustar o pH da solução a um valor de pH de 9,5. Os espécimes de dentina foram seguidamente imersos numa solução aquosa de nitrato de prata amoniacal a 50% a 37°C durante 24 horas em recipientes desprovidos de luz. Depois deste período, os espécimes foram colocados sob água abundante durante 5 minutos e imersos de seguida numa solução fotográfica reveladora (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA) durante 8 horas sob luz fluorescente, para que seja possível haver uma redução dos iões de prata a grãos de prata metálicos (Tay et al., 2002). De seguida, os espécimes foram novamente colocados sob água abundante durante 5 minutos. O verniz de superfície dos espécimes foi removido por raspagem com recurso a uma faca de cera.

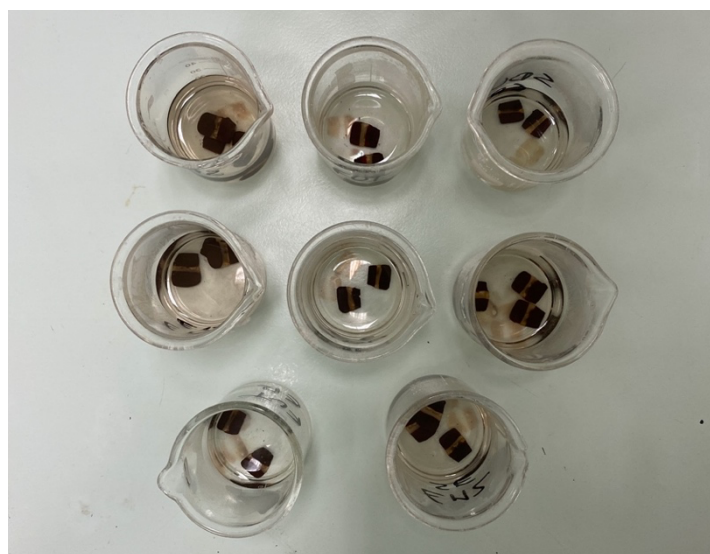


Figura 15 – Amostras impregnadas em nitrato de prata amoniacal

Todas as amostras foram preparadas para serem observadas em microscópio eletrónico de varrimento de alta definição (MEV-EDS) sendo para isso primeiramente imersas numa solução fixadora de glutaraldeído a 2,5% com 2% de paraformaldeído numa solução tampão de cacodilato de sódio a 0,1M com um pH de 7,3 durante 12 horas a 4°C. Posteriormente à fixação, as amostras foram lavadas com 20ml de 0,1M de cacodilato de sódio tamponado a um pH 7,4 durante 1 hora (a solução foi renovada a cada 20 minutos) e enxaguadas com água desionizada durante 1 minuto. Os espécimes foram desidratados, à priori, em imersões de etanol por graus ascendentes de percentagem (25% por 20 minutos, 50% por 20 minutos, 75% por 20 minutos, 96% por 30 minutos e 100% por 60 minutos). Após este processo, os espécimes foram colocados numa diluição de 1:1 de hexametildisilazano (HMDS) (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA) e etanol durante 10 minutos. Logo de seguida as amostras foram secas por imersão em HMDS durante 10 minutos e colocados em papel de filtro dentro de uma caixa de petri para que estas fossem secando completamente à temperatura ambiente (Perdigão, J. et al. 1997).

Posteriormente, as amostras foram estabilizadas com cera colante em cilindros anteriormente vaselinados e molhados em resina epoxi autopolimerizável (SampleKwick™ Acrylic System, Buehler Ltd.). Depois da polimerização a superfície de cada espécime foi polida com discos de papel abrasivos de carbetto de silício com abrasão decrescente na presença de água (220 *grit* por 30 segundos; 320 *grit* por 60 segundos; 500 *grit* por 60 segundos; 1200 *grit* por 60 segundos e 2400 *grit* por 60 segundos).

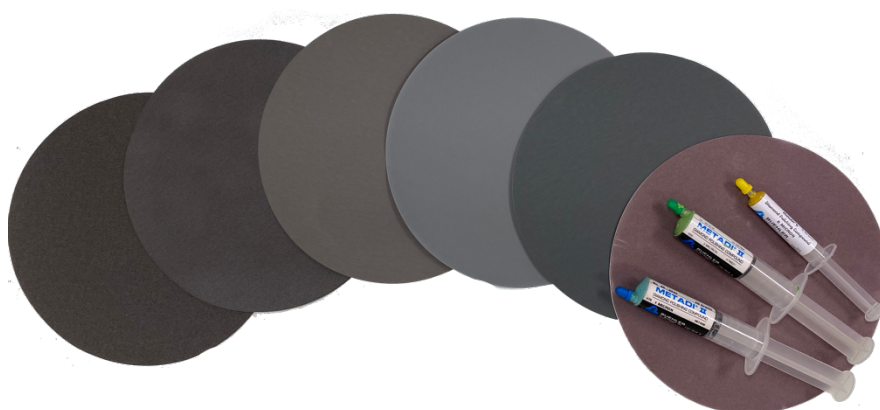


Figura 16 – Sequência de discos de carbetto de silício e pastas diamantadas

Por último, o polimento foi terminado com um disco de tecido e com uma suspensão diamantada de 6, 3 e 1 micrómetros ambos por 3 minutos (*Buehler, Ldt.*). Os espécimes foram posteriormente colocados em ultra-sons num banho de etanol a 100% durante 10 minutos. Estes foram desmineralizados e secos com ácido fosfórico sem sílica a 0,5% durante 1 minuto (*Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA*) e armazenados em caixas de petri revestidas com papel absorvente até secarem completamente à temperatura ambiente.



Figura 17 – Amostra após polimento

As amostras de cada grupo foram depois montadas num suporte de alumínio com fita de carbono (*Ted Pella Inc.*). A fita de carbono exposta foi de seguida coberta por uma camada de prata coloidal em suspensão de secagem rápida (*Ted Pella Inc.*) para tornar a superfície desta mais condutora e impossibilitar a acumulação de eletrões dentro da câmara de SEM. Posteriormente foram revestidos por ouro-paládio com *E-5100 Sputter-coater (Ex-Polaren)* a 20mA por 3 minutos.

Toda a extensão de imersão do nitrato de prata na interface dentina/adesivo foi observada no Microscópio eletrónico de varrimento com um detetor de eletrões retrodifundidos (FEG-SEM JEOL 7001 F, Tóquio, Japão) (Figura 18) do Instituto Superior Técnico da Universidade de Lisboa, com uma aceleração de voltagem de 20 Kv e distância de trabalho de 10 milímetros em ampliações de 200x, 400x, 800x, 1500x e 2000x.



Figura 18 – Microscópio eletrônico de varrimento de alta resolução (FEG-SEM)

Toda a extensão da incorporação do nitrato de prata ao logo da interface adesiva dentina/adesivo foi observada, com uma ampliação de 200X, auxiliado pelo software *Quartz PCI 4.00* (Quartz Imaging Corporation, Vancouver, BC, Canadá). Foi feito um registo de imagem pontualmente com microfotografias de alta resolução com uma ampliação de 2000X para que fosse possível observar a localização geral da prata incorporada na interface adesiva, bem como a ultramorfologia dos seus depósitos.

A nanoinfiltração foi traduzida e considerada pela presença do nitrato de prata em sinais brancos intensos metalizados de aspeto globular ou reticular nas interfaces referidas anteriormente, confirmado também pelo sistema de microanálise por espectroscopia por dispersão de energia (EDS) associado ao FEG-SEM (Oxford Inca Energy 250® - Oxford Instruments, Oxfordshire, United Kingdom).

O comprimento total da interface de cada amostra foi medido utilizando o software *Image J 1.44r* (Wayne Rasbond, National Institutes of Health, EUA).

A amplitude da nanoinfiltração na interface adesiva de cada amostra foi calculada como a percentagem de infiltração do agente marcador no comprimento total da interface adesiva recorrendo à formula: $N = [C/I] \times 100$, em que N é a percentagem de nanoinfiltração ao longo da interface adesiva, C é o comprimento da interface infiltrada e por último, I que corresponde ao comprimento total da interface.

4. Análise Estatística

Os dados obtidos foram inseridos numa base de dados e analisados estatisticamente com a aplicação informática SPSS para Windows, (IBM SPSS Statistics. Version 26, Armonk, NY: IBM Corp) através de um modelo linear misto.

O nível de significância considerado nesta investigação consistiu em ($p \leq 0,05$).

Quanto mais inferior a 0,05 for o valor de p, mais correlacionadas estarão as duas variáveis em questão (Fiel, 2017).

IV. RESULTADOS

1. Análise da observação microscópica

Foram obtidas fotografias numa ampliação de 200X através do FEG-SEM do comprimento total da interface adesiva (figura 19a) com o objetivo de permitir quantificar a infiltração da mesma por prata ao longo de toda a interface. Os depósitos de prata foram microfotografados através de áreas representativas do espécime a uma ampliação de 2000X (figura 19b). Confirmou-se a presença de prata através da análise de EDS.

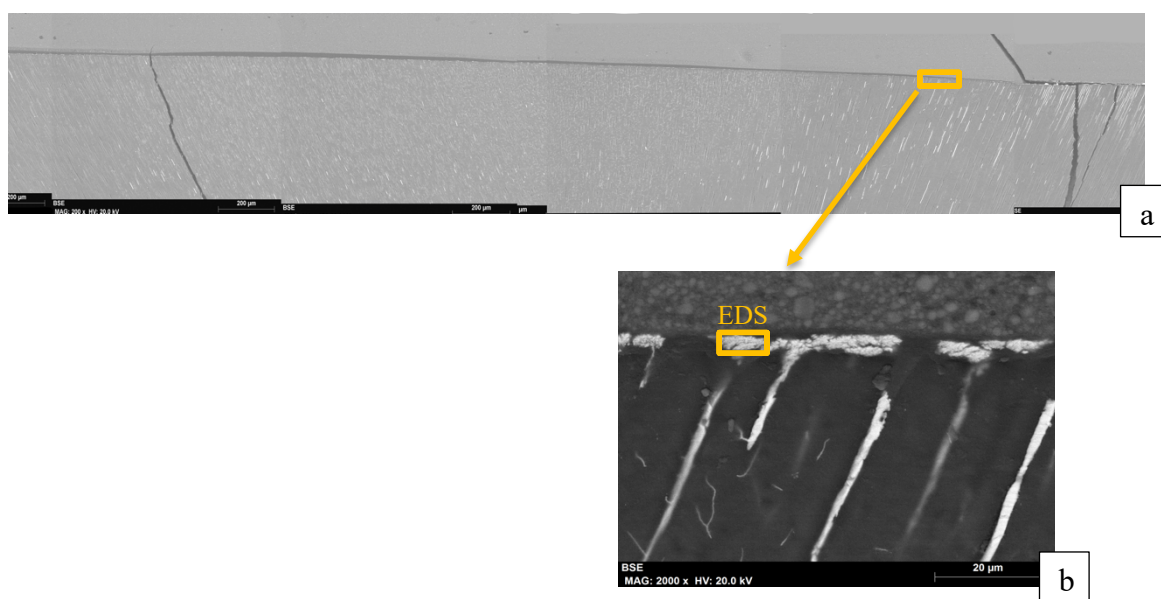


Figura 19 – (a) Imagem de FEG-SEM com detetor de elétrons retrodifundidos da interface adesiva do espécime do Sistema Adesivo Experimental com Bis-GMA pela técnica adesiva Self-Etch, em ampliações de 200X. (b) Área representativa de nanoinfiltração com uma ampliação de 2000X

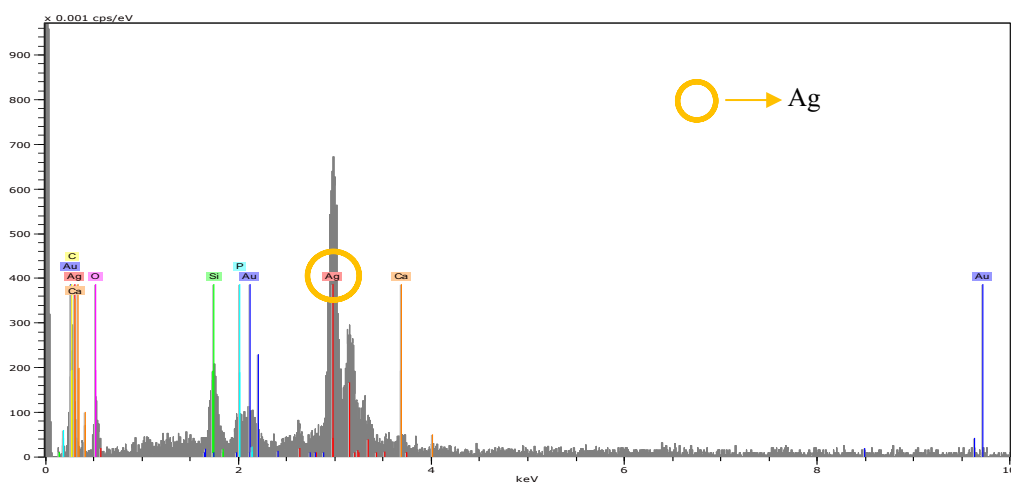


Figura 20 – Gráfico Representativo através da análise EDS onde se verifica a presença do elemento prata na região da interface adesiva (figura 18b)

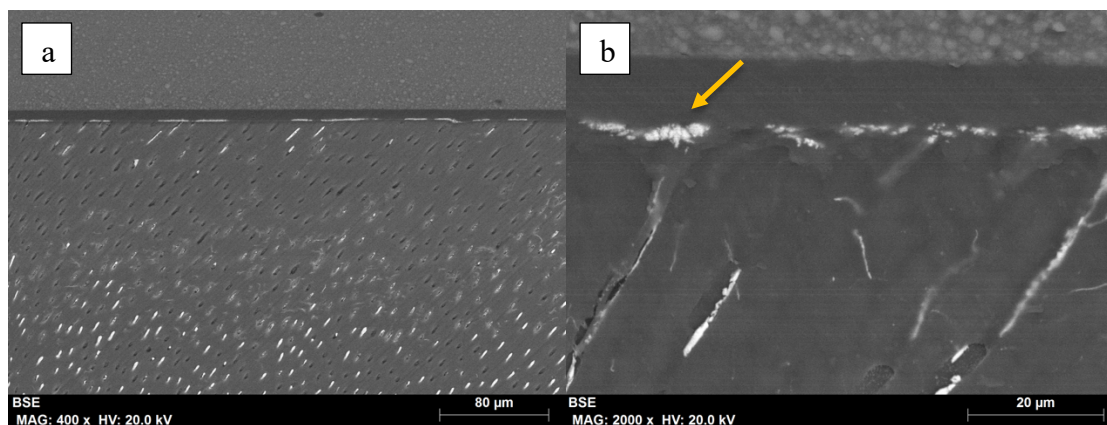


Figura 21 – Interface adesiva observada a 400X (a) e a 2000X (b) com representação da nanoinfiltração. Observação de nitrato de prata presente na camada híbrida (seta)

Na Figura 21 é possível verificar a infiltração ao longo da interface adesiva através do nitrato de prata e também na camada híbrida (Figura 20 b).

As seguintes imagens de FEG-SEM (Figura 22 e 23) são imagens ilustrativas de todos os grupos experimentais com ampliações de 400X e 2000X, onde se pode observar a infiltração da interface adesiva por nitrato de prata pelas várias técnicas de adesão utilizando as duas estratégias, *Etch-and-Rinse* e *Self-Etch*, em todos os sistemas adesivos testados.

De uma forma generalizada, observa-se nos grupos testados (Figura 23), que os sistemas adesivos, universal experimental com Bis-GMA (EM1), *Scotchbond Universal* (SBU) e *Futurabond Universal* (FUT), quando aplicados segundo a técnica de adesão *Etch-and-Rinse* (Figura 23 a, c, d) revelam uma acumulação de nitrato de prata em maior quantidade e maior intensidade, observando-se esta localizada mais frequentemente na camada híbrida e abaixo dela. Já os mesmos adesivos experimentais, uma vez aplicados pela técnica *Self-Etch* (Figura 23 e, g, h) apresentam menos quantidade e menor intensidade de depósitos de nitrato de prata na camada híbrida e abaixo da mesma. Observa-se ainda (Figura 23 e, f), que os sistemas adesivos EM1 e EM2 quando aplicados pela técnica de adesão *Etch-and-Rinse* apresentam uma menor deposição de nitrato de prata e com uma localização mais na interface adesiva do que os sistemas adesivos SBU e FUT quando aplicados na mesma vertente (Figura 23 g, h). Por último observa-se que o sistema adesivo EM2 quando aplicado com a técnica de adesão *Self-Etch* (Figura 23 f) apresenta uma maior deposição de nitrato de prata na camada híbrida do que quando aplicado com a técnica *Etch-and-Rinse* (Figura 23 b).

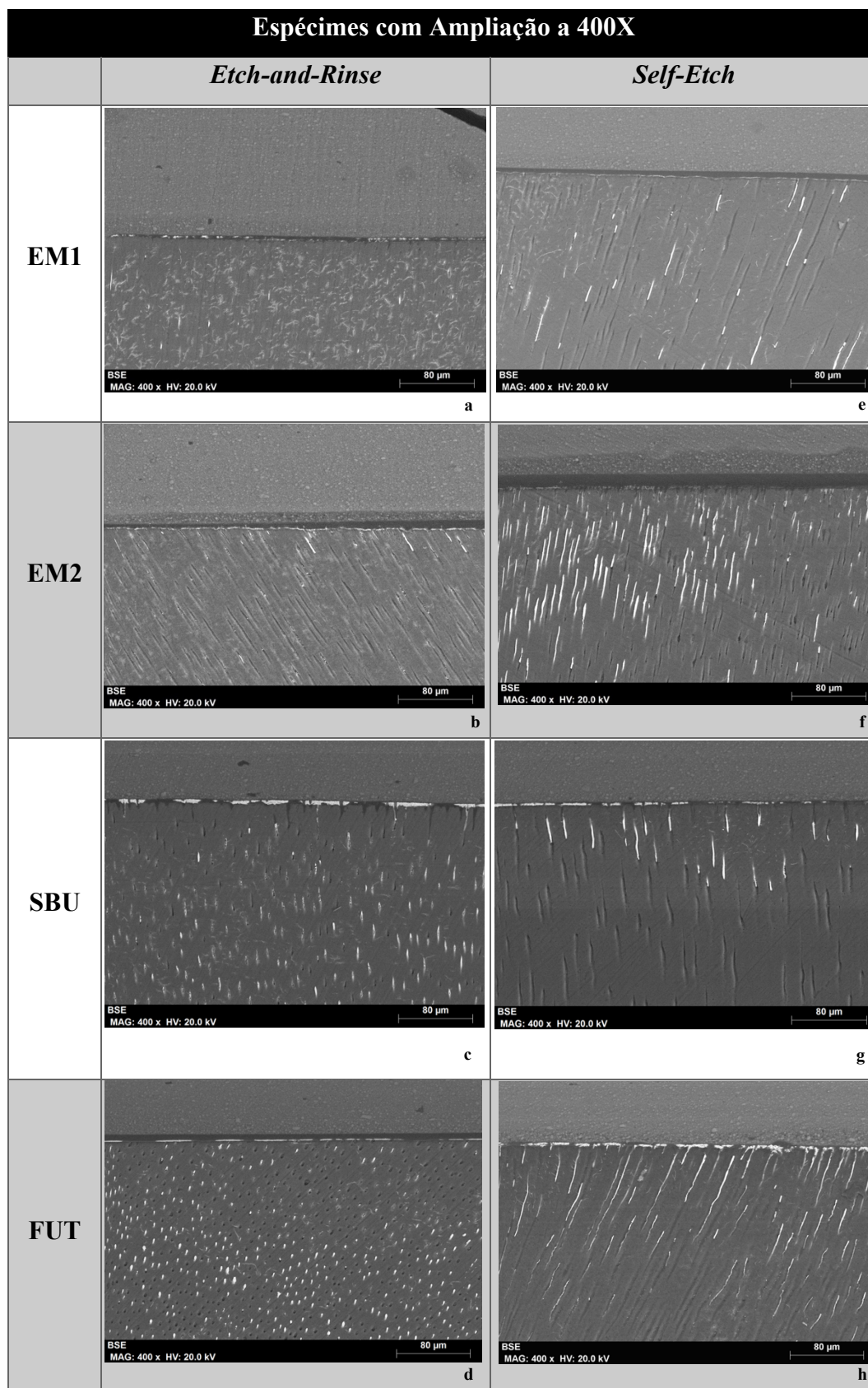


Figura 22 - Imagens de FEG-SEM com detetor de elétrons retrodifundidos de todos os sistemas adesivos universais (experimentais e comerciais) quando aplicados pelas estratégias *Etch-and-Rinse* e *Self-Etch* onde se pode observar as zonas de depósito do nitrato de prata na interface adesiva dos mesmos. As regiões com aspeto granular brancas correspondem as regiões de deposição de prata. Ampliação de 400X

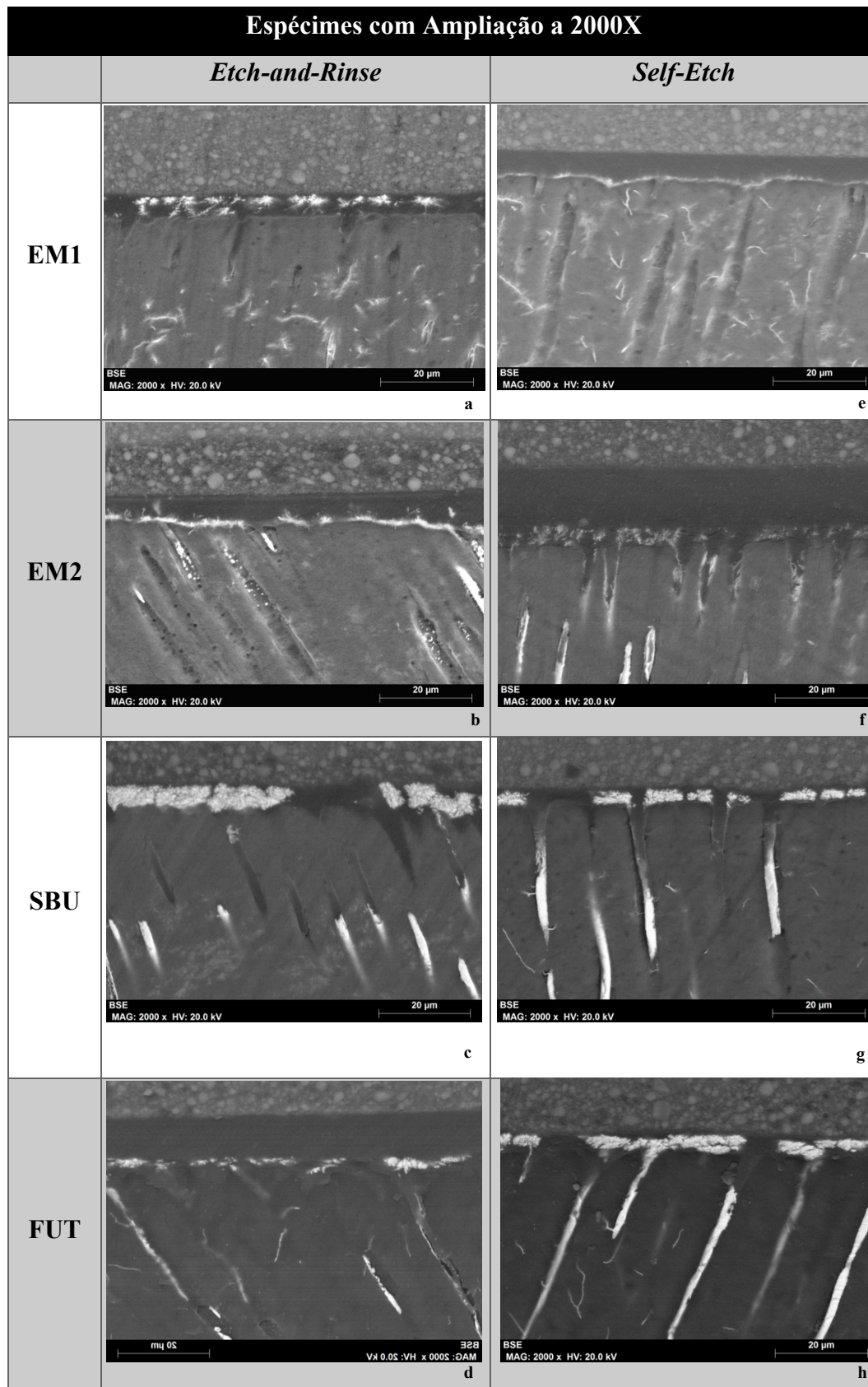


Figura 23 - Imagens de FEG-SEM com detetor de elétrons retrodifundidos de todos os sistemas adesivos universais (experimentais e comerciais) quando aplicados pelas estratégias *Etch-and-Rinse* e *Self-Etch* onde se pode observar as zonas de depósito do nitrato de prata na interface adesiva dos mesmos. As regiões com aspecto granular brancas correspondem as regiões de deposição de prata. Ampliação de 2000X

2. Análise dos Dados

Com os dados obtidos realizou-se uma análise de modelo misto onde se comparou a infiltração (μm) em amostras de 4 sistemas adesivos universais (FUT, SBU, EM1, EM2) sujeitos a 2 protocolos (ER, SE), com base nos valores de infiltração em diversos loci da mesma unidade experimental que se representam na tabela e gráfico seguintes (Tabela 5)(Figura 24).

Tabela 5 – Representação da análise do modelo misto

Adesivo * Protocolo ^a						
Adesivo	Protocolo	Média	Erro Padrão	df	95% Intervalo de Confiança	
					Limite Inferior	Limite Superior
FUT	ER	15,035	1,225	398	12,627	17,442
	SE	9,453	,904	398	7,675	11,231
SBU	ER	15,660	1,186	398	13,329	17,991
	SE	9,229	,888	398	7,483	10,976
EM1	ER	5,413	,904	398	3,635	7,191
	SE	5,516	,780	398	3,983	7,049
EM2	ER	7,546	,807	398	5,959	9,133
	SE	11,131	1,150	398,000	8,870	13,392

a. Variável Dependente: Infiltração.

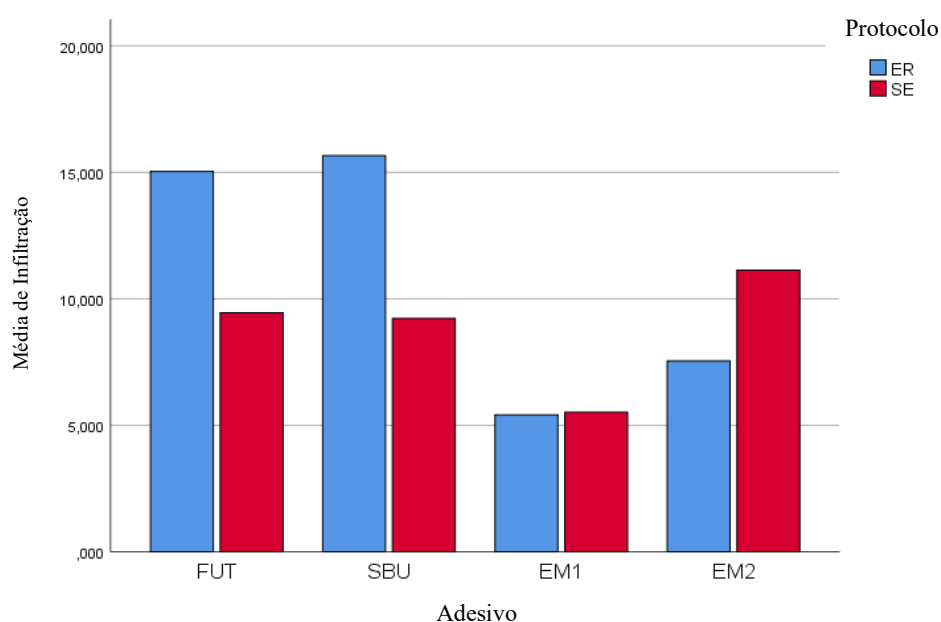


Figura 24– Representação gráfica da nanoinfiltração, por percentagem, nos grupos experimentais consoante o adesivo/estratégia de adesão utilizados

De forma a controlar os efeitos das potenciais correlações entre as medidas assim obtidas, assim como da heterogeneidade de variâncias, ajustou-se um modelo linear misto (MM), com 2 fatores principais (adesivo e protocolo).

Foram investigadas diferentes estruturas de dependência entre observações repetidas na mesma unidade experimental, representadas por várias matrizes para variâncias homogêneas, nomeadamente as matrizes de Auto-regressão de 1ª ordem, Simetria Composta, Identidade e Toeplitz, assim como matrizes para variâncias heterogêneas, nomeadamente as matrizes de Auto-regressão de 1ª ordem heterogêneas, Simetria Composta heterogênea, Diagonal e Huynd-Feldt. Para os 2 tipos de matriz foram considerados casos de correlações homogêneas/heterogêneas/nulas.

A qualidade do ajustamento aos dados obtidos para cada uma das estruturas de covariância foi comparada usando o critério de informação de Akaike (AIC) e o Critério Bayesiano de Schwarz (BIC), de acordo com os quais os valores mínimos são observados com a estrutura definida pela matriz Identidade. A tabela seguinte apresenta os resultados obtidos com o modelo misto aplicado com a matriz Identidade, aquela que melhor se ajusta à estrutura de covariância (Tabela 6)

Tabela 6 – Representação do modelo obtido

Teste dos Efeitos entre Fatores

Variável Dependente: Infiltração

Fonte	Soma dos quadrados Tipo III	df	Quadrados Médios	F	Sig.
Modelo corrigido	4425,803 ^a	7	632,258	14,055	,000
Interceção	35463,036	1	35463,036	788,364	,000
Protocolo	393,975	1	393,975	8,758	,003
Adesivo	3339,942	3	1113,314	24,750	,000
Protocolo * Adesivo	1489,599	3	496,533	11,038	,000
Erro	17903,263	398	44,983		
Total	54306,330	406			
Total Corrigido	22329,066	405			

a. R Quadrado = ,198 (R Quadrado Ajustado = ,184)

Da tabela anterior, conclui-se:

1. Verifica-se interação significativa entre o fator adesivo e o protocolo ($p < 0,001$), pelo que a infiltração observada para um determinado tipo de adesivo depende do protocolo aplicado.
2. Verifica-se a diferença significativa entre adesivos para a extensão da infiltração ($p < 0.001$).
3. Verifica-se diferença significativa entre protocolos, para a extensão da infiltração ($p = 0.003$).

Note-se, no entanto que, uma vez que existe interação entre os fatores principais adesivo e protocolo, as comparações entre adesivos devem ser efetuadas mediante aplicação de contrastes planeados, separadamente para cada um dos protocolos. Na tabela seguinte apresentam-se os resultados destes contrastes. Os resultados destes contrastes planeados estão representados na tabela seguinte (Tabela 7).

Tabela 7– Resultado do contraste de todas as variáveis

Adesivos	Protocolo	p *
FUT vs SBU	ER	n.s.
FUT vs SBU	SE	n.s.
FUT vs EM1	ER	< 0,001
FUT vs EM1	SE	0,001
FUT vs EM2	ER	< 0,001
FUT vs EM2	SE	n.s.
SBU vs EM1	ER	< 0,001
SBU vs EM1	SE	0,002
SBU vs EM2	ER	< 0,001
SBU vs EM2	SE	n.s.
EM1 vs EM2	ER	n.s.
EM1 vs EM2	SE	< 0,001

*diferença significativa se $p < 0,05$

De acordo com a visão de que “**menor infiltração, superior qualidade do material**”, estes resultados sugerem o seguinte:

1. O adesivo **EM1** apresenta superior qualidade, quando comparado com os adesivos FUT e SBU, sob qualquer dos protocolos;
2. O adesivo **EM2** apresenta superior qualidade, quando comparado com os adesivos FUT e SBU, mas apenas sob o protocolo ER;
3. O adesivo **EM1** apresenta superior qualidade quando comparado com o adesivo **EM2**, sob protocolo SE apenas.

V. DISCUSSÃO

A passada realidade da perda precoce ou falta de retenção de restaurações deixou de ser tão notória devido aos avanços significativos na área da dentisteria adesiva ao longo dos últimos anos (Hickel e Manhart, 2001). Hoje em dia, a causa primordial do insucesso de restaurações dentárias é o selamento incongruente e débil da interface dentina/restauração, levando, por consequência, à necessidade da substituição da restauração (Perdigão et al., 2020). As inconsistências a nível do selamento permitem a penetração de fluidos orais, microrganismos patogénicos e dos produtos provenientes do seu metabolismo, levando por fim à pigmentação marginal da restauração, lesões de cárie secundária, patologia pulpar e ao comprometimento da interface adesiva (Yazici et al., 2002; Fukuda et al., 2003; Reis et al., 2007).

O envelhecimento da interface adesiva ocorre como consequência da hidrólise, por ação da água, das fibras de colagénio. De forma a avaliar a nanoinfiltração na presente investigação, as lacunas preenchidas por água na interface adesiva foram identificadas de forma fácil quando esta foi observada através de microscópio eletrónico de varrimento, após infiltração por nitrato de prata (Sano, et al., 1995).

Ao invés da solução de nitrato de prata que é regularmente utilizada (50% w/v com pH 3,4), foi utilizado na investigação uma solução básica de nitrato de prata amoniacal (50% w/v com pH a 9,5). À solução juntou-se amónia com o objetivo de alcalinizar de forma a evitar que o componente mineral fosse inadvertidamente diluído ao longo da interface dentina/material restaurador (Li et al., 2003).

É habitualmente considerado que o pH baixo do nitrato de prata tem uma ação desmineralizante na dentina criando lacunas na interface adesiva. Em oposição, Youngson et al., em 1998 afirmou que o pH da solução de nitrato de prata pode não ter consequências significativas na deposição e penetração de prata na mesma.

A preparação das amostras para observação microscópica poderá levar a danos nas mesmas, nomeadamente na interface a ser visualizada. Perdigão et al., em 2012 referiu que estes danos podem ser efetuados logo em primeira instância no corte das amostras. Com este estudo Perdigão et al., (2012) recomenda a utilização de um disco diamantado altamente refrigerado de modo a reduzir substancialmente o risco de danos nas fatias. Sano et al., em 1994 sublinhou também que o polimento das amostras assim

como a desidratação ou o vácuo presente na preparação das amostras para FEG-SEM pode causar fendas na interface adesiva.

Desta forma, podemos explicar em parte as zonas de separação da interface adesiva presentes nesta investigação, no entanto o aparecimento destas fendas poderá estar relacionado com a origem das mesmas, sendo por este meio estas consideradas como fendas verdadeiras ou fendas interfaciais. Estas últimas resultam da fraca ligação do adesivo à dentina quando estas não se associam a depósitos de nitrato de prata (Tay et al., 1995).

Os resultados obtidos na presente investigação encontram-se em concordância com os estudos de Li et al., em 2002 onde foi evidenciado que o procedimento de secagem das amostras para o FEG-SEM não comprometem diretamente a nanoinfiltração. A contração das fibras de colagénio desmineralizadas, e que não estão envolvidas por resina, também pode ocorrer através da desidratação durante a preparação das amostras a serem observadas (Carvalho et al., 1996).

Segundo Perdigão et al., em 1995, embora as técnicas de secagem promovam uma mera contração na dentina desmineralizada, a secagem por ponto crítico assim como outras técnicas fixadoras, como as utilizadas nesta investigação, resultam em menos artefactos na matriz de colagénio exposto do que com a secagem através de ar.

No estudo de Drummond et al., no ano de 1996 este notou que o modo de medição da nanoinfiltração é feita com recurso a amostras polidas. Por outro lado, Li et al., em 2002 contrapuseram esta afirmação sublinhando que este método (secção e polimento das amostras) pode culminar num arrastamento de prata na sua superfície, transmitindo uma noção errada de uma maior deposição de nitrato de prata do que o normalmente esperado.

A impregnação de prata na camada híbrida dá-se através da deposição e adsorção de prata nos poros, e também da reação da prata com os feixes de colagénio expostos não recobertos pelo *primer* ou pelo adesivo (Li et al., 2002)

Assim, a utilização de ultrassons para a limpeza das amostras antes de serem revestidas para a observação em FEG-SEM, devia eliminar todas as partículas de prata não aderidas, todavia na presente investigação foram detetadas partículas de prata em algumas amostras (Bakhsh et al., 2017).

No que concerne ao microscópio eletrónico de varrimento (SEM) existem algumas limitações no que toca à visualização objetiva da porção de nitrato de prata na interface dente/restauração e a sua localização real. Dado que os canais de água se

degradam aquando a desidratação das amostras, as árvores de água (facilmente visualizadas no microscópio eletrónico de transmissão), evidenciam-se também em microscópio eletrónico de varrimento como canais não conectados submicroscópicos (Tay e Pashley., 2003).

Este trabalho de investigação teve como principal objetivo avaliar a nanoinfiltração a nível da dentina de dois sistemas adesivos universais experimentais, um com Bis-GMA (EM1) e outro sem Bis-GMA (EM2), comparativamente com dois sistemas adesivos universais comerciais (FUT e SBU). Todos os adesivos estudados foram utilizados na vertente *Etch-and-Rinse* e *Self-Etch* segundo as normas dos fabricantes.

Perante os resultados observados podemos sumarizar numa visão “*menor infiltração, superior qualidade do material*” que o sistema adesivo EM1 apresenta menor nanoinfiltração na camada híbrida quando comparado com FUT e SBU em qualquer um dos protocolos (*Etch-and-Rinse* e *Self-Etch*). Adicionalmente o adesivo EM2 apresenta menor nanoinfiltração na camada híbrida quando também comparado com o FUT e o SBU somente na vertente *Etch-and-Rinse*. Em última análise o adesivo EM1 apresenta menor nanoinfiltração da camada híbrida comparativamente ao sistema adesivo EM2 sobre o protocolo *Self-Etch*.

Como se sabe, a nanoinfiltração pode ser influenciada por diversos fatores específicos dos sistemas adesivos, estes incluem a composição química do sistema adesivo, nomeadamente o tipo de solvente (água ou acetona) ou o tipo de monómeros presentes no adesivo (HEMA, Bis-GMA, TEGDMA, etc) bem como os seus pesos moleculares (Cardoso et al., 2011; Makishi et al., 2016; Betancourt et al., 2019). Outros fatores a considerar prendem-se com o pH do adesivo (Muñoz et al., 2015), e o seu método de aplicação, por exemplo, o tempo de evaporação dos solventes e/ou polimerização utilizados (Cadenaro et al., 2009; Luque-Martinez et al., 2014). Relativamente ao pH este está relacionado com uma penetração mais profunda na dentina em sistema adesivos com pH mais baixos (Tay e Pashley, 2001).

Adicionalmente alterações em protocolos clínicos standardizados poderão aumentar a estabilidade adesiva como a fotopolimerização prolongada, o uso de inibidores de metaloproteínases, intensificação da evaporação do solvente ou o uso de uma extra camada de adesivo (Perdigão et al., 2012).

De uma forma geral, os sistemas adesivos experimentais em estudo, apresentaram menor nanoinfiltração que os comerciais no final de um período de 3 meses. Desta forma vários fatores podem estar no centro das diferenças encontradas. A composição dos sistemas adesivos comerciais utilizados não é conhecida de uma forma exata, mas sim num intervalo de valores tal como é exemplo a quantidade de etanol e a quantidade de 10-MDP. Posto isto e não havendo certezas, a concentração de etanol poderá ser mais baixa nos adesivos comerciais que nos experimentais e por sua vez dificultar a evaporação de solventes, aumentando assim a retenção de água na interface adesiva.

Relativamente ao monómero 10-MDP, este apresenta uma interação química de sucesso com os cristais de hidroxiapatite formando uma nanocamada estável na interface adesiva. Este composto pode ainda formar ligações iónicas com o cálcio presente na hidroxiapatite e formar um composto estável de sal de 10-MDP-Cálcio que permite a este complexo se tornar mais resistente à degradação com o tempo (Yoshida et al., 2012).

No nosso estudo podemos relatar que o SBU para além de conter 10-MDP, contém ainda um copolímero de ácido polialquenóico que, quando conjugado com o composto 10-MDP demonstra resultados divergentes pelo facto de este competir com a ligação de cálcio na hidroxiapatite (Muñoz et al., 2013). Desta forma podemos especular que a sua ligação é menos efetiva à hidroxiapatite, o que pode justificar a elevada taxa de nanoinfiltração em ambas as vertentes testadas, comparativamente com os adesivos experimentais que apenas contém 10-MDP na sua composição.

Outro fator observado reside na percentagem do composto HEMA que pensamos ser diferente nos sistemas adesivos comerciais visto estes possuírem um intervalo de concentração superior aos experimentais, podendo supor que estes apresentam então uma maior quantidade de HEMA presente na formulação. Este composto é um comonómero que é frequentemente encontrado na composição dos adesivos. O HEMA é solúvel em água, sendo este hidrofílico, permitindo uma melhoria na humidade presente na dentina otimizando a sua força adesiva (Van Landuyt et al., 2007). Em contrapartida este composto atrai partículas de água e subsequentemente provoca hidrólise da interface adesiva resultando num défice na durabilidade do adesivo (Breschi et al., 2008). Segundo Yoshida et al., em 2012, o HEMA afeta a interação entre o 10-MDP e os cristais de hidroxiapatite evitando a formação da nanocamada de 10-MDP-Cálcio o que pode comprometer a adesão, por criar inconsistências na nanocamada que são posteriormente preenchidas por depósitos de água. Desta forma dá-se a formação de lacunas na interface

adesiva que irão comprometer a estabilidade da camada. Em suma, este comprometimento poderá ter como base as diferenças nas quantidades de HEMA e 10-MDP existentes entre os sistemas adesivos comerciais e os sistemas adesivos experimentais podendo estes justificar as diferenças nos resultados da nanoinfiltração.

A polimerização é também um fator importante inerente aos sistemas adesivos. Estes devem apresentar uma elevada taxa de conversão de forma a procurar manter os monómeros da sua constituição ligados entre si dentro da estrutura dentária. Não obstante, devem também apresentar baixa contração de polimerização para que sejam evitadas microfraturas entre a interface dente/adesivo. É sabido que a reação de contração de polimerização poderá levar a formação de uma fenda marginal resultando numa cárie secundária (Vasconcelos e Cruz et al., 2019). Assim, a alta taxa de conversão e a baixa contração de polimerização são propriedades essenciais para que a estabilidade das ligações seja melhorada favorecendo a retenção dos sistemas adesivos na camada híbrida e reduzindo assim a hidrólise dos mesmos. Três agentes (CQ, BDA e HPDPI) têm vindo a ser estudados como compostos que melhoram o grau de copolimerização e estabilidade adesiva o que melhora a taxa de conversão, nomeadamente em ambientes aquosos e de pH ácido (Feitosa et al., 2014) (Wang et al., 2006).

Os dois adesivos experimentais estudados (EM1 e EM2) continham na sua constituição estes agentes coadjuvantes da copolimerização tendo estes apresentado menos nanoinfiltração quando fotopolimerizados por 60 segundos e resultados mais satisfatórios quando comparados com os comerciais que não possuem estes compostos em simultâneo.

Cadenaro et al., em 2009 compararam a influência que o tempo de polimerização exerce na permeabilidade da dentina usando tempos de 20, 40 e 60 segundos chegando à conclusão de que após os 20 segundos apesar dos resultados serem significantes e a permeabilidade diminuir significativamente é aos 40 e aos 60 segundos que os valores se apresentam com uma maior taxa de redução de permeabilidade. Para todas as resinas estudadas no estudo supracitado, com o aumento do tempo de polimerização os valores de redução de permeabilidade ficam mais próximos dos ideais. A falha na fotopolimerização pode ser devido a uma irradiação inadequada, ou pela diluição que os solventes, quando mal evaporados, podem provar no sistema adesivo. Demonstrou-se que 20 segundos de fotopolimerização apesar de oferecerem uma redução da permeabilidade satisfatória, é inversamente proporcional à taxa de conversão do adesivo, isto é, ao aumentar o tempo de fotopolimerização alcançamos um equilíbrio entre a redução da

permeabilidade e a taxa de conversão do adesivo, sendo o tempo de 60 segundos considerado o ideal (Breschi et al., 2007; Cadenaro et al., 2009).

Como acima mencionado, nesta investigação, os sistemas adesivos experimentais foram fotopolimerizados durante 60 segundos, ao contrário dos sistemas adesivos comerciais que seguiram os seus protocolos que indicam um tempo de fotopolimerização de 10 segundos. Avaliando a nanoinfiltração presente nos nossos resultados podemos especular que o tempo de fotopolimerização é também importante para minimizar a infiltração uma vez que permite uma taxa de conversão superior, assim como uma redução da permeabilidade dentinária. Em última análise é especulado que o facto acima mencionado oferece uma maior resistência do adesivo à hidrólise e consequentemente contribuindo para uma maior estabilidade da camada híbrida.

Outro fator que contribui para aumentar a taxa de conversão dos sistemas adesivos e diminuir a absorção de água é a presença do TEGDMA. Este monómero altamente flexível, apresenta baixo peso molecular e baixa viscosidade e, segundo alguns autores, a sua presença na composição dos adesivos poderá contribuir para uma elevada mobilidade do adesivo dentro da estrutura dentinária e melhor polimerização favorecendo a taxa de conversão dos monómeros (Gajewski et al., 2012).

A alta taxa de conversão proporcionada pelo TEGDMA não se traduz num aumento de absorção de água nem necessariamente numa alta densidade de ligações cruzadas, que se formam aquando a formação do polímero. Sideridou et al., em 2003 afirmaram no seu estudo que o TEGDMA era o segundo composto com menor absorção de água de entre 4 compostos (Bis-GMA, UDMA, Bis-EMA, TEGDMA) tendo os autores concluído que este se apresentava pouco hidrofílico. Após estes resultados podemos especular que a presença deste monómero poderá ser determinante para a menor nanoinfiltração encontrada nos sistemas adesivos experimentais comparativamente com os comerciais, dado que os adesivos comerciais estudados não continham TEGDMA na sua constituição e demonstraram mais nanoinfiltração em FEG-SEM. Este facto pode dever-se à característica deste composto falada anteriormente que teoricamente contribui para uma camada híbrida mais estável, evitando depósitos de água que potencialmente iriam conduzir à degradação da interface dentina/adesivo.

Na literatura as referências disponíveis para investigações semelhantes à do presente estudo são escassas. No entanto em 2014, Marchesi et al., observaram que relativamente ao SBU a nanoinfiltração era menor quando aplicado na estratégia *Self-Etch* tal como aconteceu no presente estudo. Luque-Martinez et al., (2014) compararam a nanoinfiltração para 3 sistemas adesivos comerciais entre os quais o SBU que apresentou igualmente uma taxa de nanoinfiltração maior quando aplicado na vertente *Etch-and-Rinse*.

Os adesivos universais quando aplicados sobre a forma *Self-Etch* não dissolvem totalmente a hidroxiapatite. Desta forma a ligação do monómero funcional com a hidroxiapatite forma sais de cálcio que se depositam em nanocamada sobretudo nos sistemas adesivos que contém 10-MDP podem culminar numa relação mais íntima entre o adesivo e o tecido dentinário e por consequência ter um melhor índice de selamento e uma menor percentagem de nanoinfiltração (Yoshida et al., 2012; Muñoz et al., 2013).

Os resultados obtidos nesta investigação estão em concordância com Yoshida et al., (2012) e Muñoz et al., (2013) dado que ambos os adesivos comerciais, embora não seja conhecida a quantidade do monómero funcional presente, contém 10-MDP na sua composição e demonstraram uma menor nanoinfiltração quando utilizados na vertente *Self-Etch*.

Relativamente aos adesivos experimentais (EM1 e EM2), o sistema adesivo experimental EM1 apresenta taxa de nanoinfiltração significativamente menor quando comparado como EM2 na sua vertente adesiva *Self-Etch* ($p < 0,001$), contudo na vertente *Etch-and-Rinse* não existiram diferenças significativas entre os dois adesivos experimentais. Atendendo ao facto de ambos os adesivos experimentais conterem a mesma composição química diferindo apenas nos monómeros principais (Bis-GMA e G-IEMA) e no valor de pH, pode especular-se que as diferenças nos resultados de nanoinfiltração encontrados assentam nestes dois aspetos.

Relativamente ao G-IEMA, apesar de apresentar uma organização fusiforme e alongada, a sua estrutura ramificada poderá ter dificultado a penetração do adesivo EM2 na estrutura dentinária aquando a aplicação do protocolo *Self-Etch*, justificando a maior nanoinfiltração observada comparativamente com o adesivo EM1, que contém Bis-GMA e um pH mais ácido. Esta diferença poderá dever-se ao facto de na vertente *Self-Etch* a

smear layer não ser removida promovendo uma desmineralização apenas superficial e dificultando a penetração do adesivo na matriz de colagénio.

As diferenças existentes no pH dos sistemas adesivos experimentais (EM1, pH=2,02; EM2, pH=2,24) também podem justificar estes resultados. O EM2 ao apresentar um pH menos ácido também poderá ter provocado um menor grau de desmineralização e conseqüentemente uma menor penetração na dentina, revelando uma cada híbrida menos espessa e mais suscetível à nanoinfiltração quando comparado com o EM1. Esta especulação é reforçada pelo facto de que quando os adesivos foram aplicados na vertente *Etch-and-Rinse* estas diferenças nos adesivos experimentais já não foram evidentes. Assim, quando aplicados com este protocolo, além de ser removida a *smear layer* facilitando a entrada do adesivo, também o maior grau de desmineralização provocado poderá ter favorecido a penetração do G-IEMA presente no adesivo EM2 entre as fibras de colagénio levando à formação de uma camada híbrida mais espessa. Além disso, o elevado grau de reticulação e suporte mecânico das fibras de colagénio dado pela presença do dendrímero G-IEMA poderá ter contribuído para aumentar a resistência da interface adesiva à entrada de água.

Contudo, é importante sublinhar que este estudo teve um período de envelhecimento das amostras de apenas 3 meses não sendo possível prever se ao fim de 6 meses ou 1 ano as diferenças verificadas entre os sistemas adesivos experimentais estudados irão prevalecer. Sabe-se que após o período de envelhecimento, os adesivos que contêm 10-MDP apresentam uma maior estabilidade da interface e uma menor nanoinfiltração, principalmente quando aplicados com o protocolo *Self-Etch* a longo prazo (Yoshida et al., 2012). Dado que os sistemas adesivos experimentais estudados apresentam quantidades iguais deste monómero funcional, após um período de envelhecimento superior as diferenças na nanoinfiltração encontradas entre estes adesivos quando aplicados com o protocolo *Self-Etch* poderão já não existir.

Embora estes resultados revelem um comportamento promissor para os adesivos experimentais, segundo os autores, estes adesivos ainda estão em desenvolvimento no sentido em melhorar as suas propriedades físico-químicas e mecânicas.

VI. CONCLUSÃO

A presente investigação permitiu concluir o seguinte:

- Os sistemas adesivos comerciais estudados apresentam taxas de nanoinfiltração similares ao fim de 3 meses de envelhecimento, sendo o protocolo *Self-Etch* o que apresenta menor nanoinfiltração.
- Os adesivos experimentais estudados, de uma forma geral, apresentam menor nanoinfiltração que os adesivos comerciais.
- O Sistema Adesivo Experimental com Bis-GMA (EM1) apresenta valores de nanoinfiltração significativamente menores comparando com os adesivos comerciais estudados, quando aplicado com ambas as estratégias adesivas (*Etch-and-Rinse* e *Self-Etch*).
- O adesivo experimental com Bis-GMA (EM1) apresenta uma menor nanoinfiltração que o adesivo sem Bis-GMA (EM2) apenas quando aplicado com o protocolo *Self-Etch*, não existindo diferenças quando aplicado com o protocolo *Etch-and-Rinse*. Contudo, estes resultados foram extraídos num período de 3 meses de envelhecimento, pelo que a presença de 10-MDP poderá igualar estas diferenças a longo prazo (6 meses a 1 ano).
- Os resultados obtidos nesta investigação revelam resultados promissores para os sistemas adesivos experimentais e para o futuro da dentisteria adesiva.

Tendo em conta os resultados obtidos na presente investigação, a hipótese nula é rejeitada.

VII. BIBLIOGRAFIA

Abdalla AI, Garcia-Godoy F. (1997). Bond strengths of resin-modified glass ionomers and polyacid-modified resin composites to dentin. *Am J Dent*. 10(6):291-294. Aguiar-Mendoza AJ. (2008). Wettability and bonding of self-etching dental adhesives.

Influence of the smear layer. *Dental Materials*. 24:994-1000. Almeida e Silva JS, Baratieri LN, Araujo E, Widmer N. (2011). Dental erosion: understanding this pervasive condition. *J Esthet Restor Dent*. 23(4):205-216. Anusavice F. (1998). Estrutura do material e princípios de adesão. In: Anusavice, F. *Materiais dentários*. 10a ed. 8-17.

Anusavice, K. J. (1998). Materiais dentários de Phillips. *Guanabara Koogan, Rio de Janeiro*, 412.

Asmussen NE, Munksgaard EC. (1988). Bonding of restorative materials to dentin: status of dentin adhesives and impact on cavity design and filling techniques. *Int Dent J*. 38(2):97-104.

Avery J, Pauline F, Steele S, Nancy FA. (2002), *Oral Development and Histology*. 3rd Ed.: Mosby Elsevier.

Bakhsh, T. A., Al-Zayer, M., Al-Sahwan, N., Al-bahrani, Z., Bakry, A. S., Jamleh, A. O., ... & Abbassy, M. (2017). Comparative SEM observation of silver-nitrate at resin-dentin interface: Nanoleakage study. *Oral Health Care*, 2(2), 1-5.

Bartlett JD. (2013). Dental enamel development: proteinases and their enamel matrix substrates. *Isrn Dent*. 18:46-09. doi: 10.1155/2013/684607

Barkmeier WW, Cooley RL. (1992). Laboratory evaluation of adhesives systems. *Oper Dent*. 5:60-6.

Barkmeier WW, Erickson RL. (1994). Shear bond strength of composite to enamel and dentin resing Scotchbond multi-purpose. *Am J Dent*. 7(3):175-179.

Bedran-Russo, A., Leme-Kraus, A. A., Vidal, C. M., & Teixeira, E. C. (2017). An Overview of Dental Adhesive Systems and the Dynamic Tooth–Adhesive Interface. *Dental Clinics*, 61(4), 713-731.

Beltrami, R., Chiesa, M., Scribante, A., Allegretti, J., & Poggio, C. (2016). Comparison of shear bond strength of universal adhesives on etched and nonetched enamel. *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*, 14(1), 78-83.

Berkovitz B, Holland G, Moxham B. (2009). *Oral Anatomy, Histology and Embryology* 4th Ed.. Oxford, United Kingdom: Mosby Elsevier.

Betancourt, D. E., Baldion, P. A., & Castellanos, J. E. (2019). Resin-dentin bonding interface: Mechanisms of degradation and strategies for stabilization of the hybrid layer. *International journal of biomaterials*, 2019.

Bowen, R. L. (1962). Dental filling material comprising vinyl silane-treated fused silica and a binder consisting of a reaction product of bisphenol and glycidylmethacrylate.

Bowen RL. (1965). Adhesive bonding of various materials to hard tooth tissues II. Bonding to dentin promoted by a surface-active comonomer. *J Dent Res*. 44:895–902.

Buonocore MG (1955). A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res*. 34(6):849-853.

Buonocore, M.G. (1973). Adhesives in the prevention of caries. *J Am Dent*. 87:10–5.
Cardoso PC. (1999). Microleakage of class V resin-based composite restorations using five simplified adhesive systems. *Am J Dent*. 12(6):291- 294.

Breschi, L., Cadenaro, M., Antoniolli, F., Sauro, S., Biasotto, M., Prati, C., ... & Di Lenarda, R. (2007). Polymerization kinetics of dental adhesives cured with LED: correlation between extent of conversion and permeability. *Dental Materials*, 23(9), 1066-1072.

Breschi, L., Mazzoni, A., Ruggeri, A., Cadenaro, M., Di Lenarda, R., & Dorigo, E. D. S. (2008). Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *dental materials*, 24(1), 90-101.

- Cadenaro, M., Antonioli, F., Sauro, S., Tay, F. R., Di Lenarda, R., Prati, C., ... & Breschi, L. (2005). Degree of conversion and permeability of dental adhesives. *European journal of oral sciences*, 113(6), 525-530.
- Cadenaro, M., Breschi, L., Rueggeberg, F. A., Suchko, M., Grodin, E., Agee, K., ... & Pashley, D. H. (2009). Effects of residual ethanol on the rate and degree of conversion of five experimental resins. *Dental Materials*, 25(5), 621-628.
- Cardoso, M. V., De Almeida Neves, A., Mine, A., Coutinho, E., Van Landuyt, K., De Munck, J., & Van Meerbeek, B. (2011). Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry. *Australian Dental Journal*, 56(SUPPL. 1), 31-44. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2011.01294.x>
- Carvalho RM, Yoshiyama M, Brewer PD, Pashley DH. (1996). Dimensional changes of demineralized human dentine during preparation for scanning electron microscopy. *Arch Oral Biol*. 41(4):379-386.
- Carvalho RM, Ciucchi B, Sano H, Yoshiyama M, Pashley DH. (1999). Resin diffusion through demineralized dentin matrix. *Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo*, 13(4), 417-424.
- Carvalho, RM, Carrilho MO, Pereira LG, Garcia LP, Marquezini L, Silva MA. et al. (2004). Sistemas adesivos: fundamentos para a compreensão de sua aplicação e desempenho em clinica. *Biodonto*. 2(1):8-86.
- Cheng JT. (2005). Effect of dentin conditioners on the bonding efficacy of one-bottle adhesives. *J Oral Rehab*. 32:28-33.
- Cuevas-Suarez, C. E., de Oliveira da Rosa, W. L., Lund, R. G., da Silva, A. F., & Piva, E. (2019). Bonding Performance of Universal Adhesives: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Adhesive Dentistry*, 21(1).
- De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M et al. (2005). A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res*. 84(2):118-132.

- Donassollo, T. A., Lima, F. G., Rodrigues-Junior, S. A., Coelho-de-Souza, F. H., & Demarco, F. F. (2010). Bonding to the dental substrates and the main topics: a literature review. *Stomatos*, 16(31).
- Duarte S, Perdigão J, Lopes MM (2006). Effect of dentin conditioning time on nanoleakage. *Oper Dent*. 31(4):500-511.
- Drummond JL, Sakaguchi RL, Racean DC, Wozny J, Steinberg AD (1996). Testing mode and surface treatment effects on dentin bonding. *J Biomed Mater Res*. 32(4):533- 541.
- Eick, J. D., A. J. Gwinnett, D. H. Pashley and S. J. Robinson (1997). "Current concepts on adhesion to dentin." *Crit Rev Oral Biol Med* 8(3): 306-335.
- El Araby AM, Talic YF. (2007). The effect of thermocycling on the adhesion of self-etching adhesives on dental enamel and dentin. *The Journal of Contemporary Practice*. 8 (2):1-11.
- Erickson RL. (1992). Surface interactions of dentin adhesive materials. *Oper. Dent*. 5:81-94. Ernst C. (2004). Positioning self-etching adhesives: versus or in addition to phosphoric acid etching?. *J of Esthet Rest Dent*. 16 (1):57-69.
- Feitosa, V. P. (2013). Evaluation of acidic functional monomers with spacer chains with different hydrophilicities and lengths= Avaliação de monômeros funcionais ácidos com cadeias espaçadoras de diferentes hidrofílicas e comprimentos.
- Fukuda R, Yoshida Y, Nakayama Y, Okazaki M, Inoue S, Sano H *et al.* (2003). Bonding efficacy of polyalkenoic acids to hydroxyapatite, enamel and dentin. *Biomaterials*. 24(11):1861-1867.
- Fusayama T. (1979). Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. *J Dent Res*. 58(4):1364-1370.
- Fritz, U. B., & Finger, W. J. (1999). Bonding efficiency of single-bottle enamel/dentin adhesives. *American journal of dentistry*, 12(6), 277-282.

- Gajewski, V. E., Pfeifer, C. S., Fróes-Salgado, N. R., Boaro, L. C., & Braga, R. R. (2012). Monomers used in resin composites: degree of conversion, mechanical properties and water sorption/solubility. *Brazilian dental journal*, 23(5), 508-514.
- Garone Filho, W. (2002). Adesão em esmalte e dentina. In: Cardoso RJA, Gonçalves EAN. *Dentística / Laser. Artes Médicas*. 27-55.
- Giannini, M., Makishi, P., Ayres, A. P. A., Vermelho, P. M., Fronza, B. M., Nikaido, T., & Tagami, J. (2015). Self-etch adhesive systems: a literature review. *Brazilian dental journal*, 26(1), 3-10.
- Gwinnett, A. J. (1984). Smear layer: morphological considerations. *Oper Dent*, 3, 2-12.
- Gwinnett AJ, Kanca J. (1992). Micromorphology of the bonded dentin interface and its relation-ship to bond strength. *Am J Dent*. 5(2):73-77.
- Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H (2000). In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res*. 79(6):1385-1391.
- Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H (2003). Degradation patterns of different adhesives and bonding procedures. *J Biomed Mater Res*. 66(1):324-330.
- Hickel R, Manhart J (2001). Longevity of restorations in posterior teeth and reasons for failure. *J Adhes Dent*. 3(1):45-64.
- Kanca J. (1992). Resin bonding to wet substrate I. bonding to dentin. *Quintessence Int*. 23(1):39-41.
- Kanca J. (1996). Wet bonding: effect of drying time and distance. *Am. J. of Dent*. 9(6):273-276.
- Kidd EA. (1976). Microleakage: a review. *J Dent*. 4(5):199-206.
- Kugel G, Ferrari M. (2000). The science of bonding: from first to sixth generation. *JADA*. 131:20S-5S. Li H, Burrow MF, Tyas MJ (2000). Nanoleakage patterns of four dentin bonding systems.

Dent Mater. 16(1):48-56. Li HP, Burrow MF, Tyas MJ (2001). The effect of long-term storage on nanoleakage. *Oper Dent.* 26(6):609-616. Li H, Burrow MF, Tyas MJ (2003). The effect of concentration and pH of silver nitrate solution on nanoleakage. *J Adhes Dent.* 5(1):19-25.

Loguercio, A. D., Muñoz, M. A., Luque-Martinez, I., Hass, V., Reis, A., & Perdigão, J. (2015). Does active application of universal adhesives to enamel in self-etch mode improve their performance?. *Journal of dentistry*, 43(9), 1060-1070.

Luque-Martinez IV, Perdigão J, Munoz MA, Sezinando A, Reis A, Loguercio AD (2014). Effects of solvent evaporation time on immediate adhesive properties of universal adhesives to dentin. *Dent Mater.* 30(10):1126-1135.

Makishi, P., André, C. B., Ayres, A. P. A., Martins, A. L., & Giannini, M. (2016). Effect of storage time on bond strength and nanoleakage expression of universal adhesives bonded to dentin and etched enamel. *Operative Dentistry*, 41(3), 305-317.

Manso AP, Marquezini L, Jr., Silva SM, Pashley DH, Tay FR, Carvalho RM (2008). Stability of wet versus dry bonding with different solvent-based adhesives. *Dent Mater.* 24(4):476-482.

Marchesi G, Frassetto A, Mazzoni A, Apolonio F, Diolosa M, Cadenaro M *et al.* (2014). Adhesive performance of a multi-mode adhesive system: 1-year in vitro study. *J Dent.* 42(5):603-612.

Masatoshi N. (1999). Bonding to caries-affected dentin using self-etching primers. *Am J Dent.* 12(6):309-314.

Muñoz, M. A., Luque, I., Hass, V., Reis, A., Loguercio, A. D., & Bombarda, N. H. C. (2013). Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. *Journal of dentistry*, 41(5), 404-411.

Muñoz MA, Sezinando A, Luque-Martinez I, Szesz AL, Reis A, Loguercio AD *et al.* (2014). Influence of a hydrophobic resin coating on the bonding efficacy of three universal adhesives. *J Dent.* 42(5):595-602.

- Muñoz, M. A., Luque-Martinez, I., Malaquias, P., Hass, V., Reis, A., Campanha, N. H., & Loguercio, A. D. (2015). In vitro longevity of bonding properties of universal adhesives to dentin. *Operative Dentistry*, 40(3), 282-292.
- Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E (1982). The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res*. 16(3):265-273.
- Nakabayashi N, Pashley DH (1998). In: Hybridization of Dental Hard Tissues. Chicago: *Quintessence Int*. pp. 37-56.
- Nakabayashi N, Pashley DH. (2000). Híbridização dos Tecidos Dentais Duros. 1a ed., *Quintessence Int*. 1-107.
- Nanci A. (2013). “*Ten Cate’s Oral Histology: development, structure and function*” 8th Edition. US: Mosby Elsevier.
- Nunes T, Polido M, Amorim A, Nunes S, Toledano M. (2007). Multinuclear magnetic resonance studies on the chemical interaction of a self-etching adhesive with radicular and coronal human dentin. *J Mater Sci: Mater Med*. 2093–2099.
- Pashley DH. (1990). Clinical considerations of microleakage. *J Endod*. 16(2):70-77.
- Papadogiannis, D., Dimitriadi, M., Zafiropoulou, M., Gaintantzopoulou, M. D., & Eliades, G. (2019). Universal adhesives: setting characteristics and reactivity with dentin. *Materials*, 12(10), 1720.
- Patel, M. P., Braden, M., & Davy, K. W. M. (1987). Polymerization shrinkage of methacrylate esters. *Biomaterials*, 8(1), 53-56.
- Perdigão, J. (2020). Current perspectives on dental adhesion:(1) Dentin adhesion—not there yet. *Japanese Dental Science Review*.
- Perdigão J, Swift EJ, Denehy GE, Wefel JS, & Donly KJ. (1994). In vitro Bond Strengths and SEM Evaluation of Dentin Bonding Systems to Different Dentin Substrates. *J Dent Res*. 73 44–55. doi:10.1177/00220345940730010601

- Perdigão J, Lambrechts P, Van Meerbeek B, Vanherle G, Lopes AL (1995). Field emission SEM comparison of four postfixation drying techniques for human dentin. *J Biomed Mater Res.* 29(9):1111-1120.
- Perdigão J, Ramos JC, Lambrechts P. (1997). In vitro interfacial relationship between human dentin and one-bottle dental adhesives. *Dent Mater.* 13:218- 227.
- Perdigão J, Swift HJ, Heyman HO, Malek MA. (1998). Effect of a re-wetting agent on the performance of acetone-bared dentin adhesives. *Am J Dent.* 11(5):207-213.
- Perdigão J, Swift EJ, Gomes G, Lopes GC. (1999) Bond strengths of new simplified dentin-enamel adhesives. *Am J Dent.* 12(6):286-290.
- Perdigão J, Lopes M. (1999a). Dentin bonding-state of the art. *Compendium.* 20(12):1151-1161.
- Perdigão J, Lopes M. (1999b). Dentin bonding-questions for the new millennium. *J. Adhes Dent.* 1(3):191-209.
- Perdigão J, Frankenberger R, Rosa BT, Breschi L. (2000). New trends in dentin/enamel adhesion. *Am J Dent.* 13:25-30.
- Perdigão J, Carmo AR, Anauate-Netto C, Amore R, Lewgoy HR, Cordeiro HJ *et al.* (2005). Clinical performance of a self-etching adhesive at 18 months. *Am J Dent.* 18(2):135-140.
- Perdigão J, Dutra-Corrêa M, Castilhos N, Carmo ARP, Anauate-Netto C. *et al.* (2007). One-Year clinical performance of self-etch adhesives in posterior restorations. *Am J Dent.* 20(2):125-133.
- Perdigão J, Sezinando A, Gomes G (2011). Microtensile bond strengths and interfacial examination of a polyalkenoate-based 1-step adhesive. *Am J Dent.* 24(4):215-220.
- Perdigão, J., Sezinando, A., & Monteiro, P. C. (2012). Laboratory bonding ability of a multi-purpose dentin adhesive. *American journal of dentistry*, 25(3), 153.

- Perdigão J, Sezinando, A., & Monteiro, P. C. (2013). Effect of substrate age and adhesive composition on dentin bonding. *Oper Dent.* 38(3): 267–74. doi:10.2341/12-307-L
- Peumans, M, Munck, J, Van Landuyt, K, Lambrechts, P, Van Meerbeek B. (2005). Three-year clinical effectiveness of two-step sel-etch adhesive in cervical lesions, *Eur J Oral Sci.* 113, pp. 512-518.
- Planas J. (1996). Sistemas adesivos. In: Barrio, J. M (Ed.). *Materiales en odontologia – fundamentos biológicos clínicos, biofísicos-químicos.* 315-331.
- Prati, C., S. Chersoni, G. L. Acquaviva, L. Breschi, P. Suppa, F. R. Tay and D. H. Pashley (2005). "Permeability of marginal hybrid layers in composite restorations." *Clin Oral Investig* 9(1): 1-7.
- Proença JP, Polido M, Osorio E, Erhardt M, Aguilera F, García-Gordoy F, Toledano M. (2007). Dentin regional bond strength of self-etch and total-etch adhesive systems. *Dent Mater.* 3:1542–1548.
- Reis A, Carrilho MRO, Louguercio AD, Grande RHM. (2001). Sistemas adesivos atuais. *J Bras Clin Odontol Intgr.* 5(30): 455-65.
- Reis A, Grande RH, Oliveira GM, Lopes GC, Loguercio AD. (2007). A 2-year evaluation of moisture on microtensile bond strength and nanoleakage. *Dent Mater.* 23(7):862-870.
- Salz U, Muncke A, Zimmermann J, Tay FR. Pashley DH. (2006). pKa Value and buffering Capacity of Acidic monomers Commonly Used in Self-etching Primers. *J Adhes Dent.* 8(3):143-149.
- Sano H, Shono T, Takatsu T, Hosoda H. (1994). Microporous dentin zone beneath resin-impregnated layer. *Oper Dent.* 19(2):59-64.
- Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Russell CM, Pashley DH. (1995). Tensile properties of resin-infiltrated demineralized human dentin. *J Dent Res.* 74(4):1093-1102.
- Sano H (2006). Microtensile testing, nanoleakage, and biodegradation of resin-dentin bonds. *J Dent Res.* 85(1):11-14.

Scavuzzi, A. I. F., Bezerra, R. B., & Duarte, P. C. T. (2001). Estudo comparativo in vitro da microinfiltração marginal de dois sistemas adesivos em dentes decíduos e permanentes. *JBC j. bras. clin. estet. odontol*, 151-5.

Sideridou, I., Tserki, V., & Papanastasiou, G. (2003). Study of water sorption, solubility and modulus of elasticity of light-cured dimethacrylate-based dental resins. *Biomaterials*, 24(4), 655-665.

Sideridou, I. D., Karabela, M. M., & Vouvoudi, E. C. (2008). Dynamic thermomechanical properties and sorption characteristics of two commercial light cured dental resin composites. *dental materials*, 24(6), 737-743.

Simmer JP, Hu JC. (2001). Dental enamel formation and its impact on clinical dentistry. *J Dent Educ*. 9:896-905.

Slavojub Z. (2000). Quality assessment of marginal sealing using 7 dentin adhesive systems. *Quintessence Int*. 31(6):423-429.

Sofan, E., Sofan, A., Palaia, G., Tenore, G., Romeo, U., & Migliau, G. (2017). Classification review of dental adhesive systems: from the IV generation to the universal type. *Annali di stomatologia*, 8(1), 1.

Sohn SJ, Chang JH, Kang SH, Yoo HM, Cho BH, Son HH (2008). The nanoleakage patterns of experimental hydrophobic adhesives after load cycling. *J of Korean Academy of Conservative Dentistry*. 33(1):9.

Suppa, P., Breschi, L., Ruggeri, A., Mazzotti, G., Prati, C., Chersoni, S., ... & Tay, F. R. (2005). Nanoleakage within the hybrid layer: a correlative FEISEM/TEM investigation. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 73(1), 7-14.

Swanson TK, Feigal RJ, Tanbirojn D, Hodges JS. (2008). Effect of Adhesive Systems and Bevel on Enamel Margin Integrity in Primary and Permanent Teeth. *Pediatric dentistry*. 30(82):134-140.

- Swift EJ, Perdigão J, Heymann HO. (1995). Bonding to enamel and dentin: a brief history and state of art. *Quintessence Int.* 26(2): 95-110.
- Stefan JP, Scharer P. (1997). The dual bonding technique: a modified method to improve adhesive luting procedures. *Int J of Periodon & Rist. Dentistry.* 17(16):537-545.
- Tay FR, Pang KM, Gwinnett AJ, Wei SH (1995). A method for microleakage evaluation along the dentin/restorative interface. *Am J Dent.* 8(2):105-108.
- Tay, F. R., & Pashley, D. H. (2001). Aggressiveness of contemporary self-etching systems: I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. *Dental Materials*, 17(4), 296-308.
- Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M (2002). Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. *J Dent Res.* 81(7):472-476.
- Tay FR, Hashimoto M, Pashley DH, Peters MC, Lai SCN, Yiu CKY *et al.* (2003). Aging affects two modes of nanoleakage expression in bonded dentin. *J Dent Res.* 82(7):537-541.
- Tay FR, Pashley DH (2003). Water treeing--a potential mechanism for degradation of dentin adhesives. *Am J Dent.* 16(1):6-12.
- Tay FR, Pashley DH, Garcia-Godoy F, Yiu CK (2004). Single-step, self-etch adhesives behave as permeable membranes after polymerization. Part II. Silver tracer penetration evidence. *Am J Dent.* 17(5):315-322.
- Theodore M. Roberson, Harald O. Heymann, Edward J. Swift, Jr. (2006). “*Sturdevant’s Art & Science Of Operative Dentistry*”. 5 th Edition. St. Louis: Mosby.
- Titely K, Chernecky R, Chan A, Smith D (1995). The composition and ultrastructure of resin tags in etched dentin. *Am J Dent.* 8(5):224-230.
- Tjäderhane, L., Nascimento, F. D., Breschi, L., Mazzoni, A., Tersariol, I. L., Geraldini, S., ... & Pashley, D. H. (2013). Strategies to prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer—a review. *Dental Materials*, 29(10), 999-1011.

- Toledano M, Osorio E, Osorio R, García-Godoy F. (2000).. Microleakage and SEM interfacial micromorphology of amalgam restorations resing three adhesive systems *J Dent*. 28:423-428.
- Toledano, M., Cabello, I., Yamauti, M., Giannini, M., Aguilera, F. S., Osorio, E., & Osorio, R. (2012). Resistance to degradation of resin-dentin bonds produced by one-step self-etch adhesives. *Microscopy and Microanalysis*, 18(6), 1480.
- Van Landuyt, K. L., Snauwaert, J., De Munck, J., Peumans, M., Yoshida, Y., Poitevin, A., ... & Van Meerbeek, B. (2007). Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*, 28(26), 3757-3785.
- Van Landuyt KL, Yoshida Y, Hirata I, Snauwaert J, De Munck J, Okazaki M, Suzuki, K, et al. (2008). Influence of the Chemical Structure of Functional Monomers on Their Adhesive Performance. *J Dent Res*. 87(8):757–761. doi:10.1177/154405910808700804
- Van Meerbeek B, Dhem A, Goret-Nicaise M, Braem M, Lambrechts P, VanHerle G (1993). Comparative SEM and TEM examination of the ultrastructure of the resin- dentin interdiffusion zone. *J Dent Res*. 72(2):495-501.
- Van Meerbeek B, Peumans M, Verschueren M, Gladys S, Braem M, Lambrechts P et al. (1994). Clinical status of ten dentin adhesive systems. *J Dent Res*. 73(11):1690- 1702.
- Van Meerbeek B, Perdigão J, Lambrechts P, Vanherle G. (1998). The clinical performance of adhesives. *J Dent*. 26(1):1-20.
- Van Meerbeek, B., De Munck, J., Mattar, D., Van Landuyt, K., & Lambrechts, P. (2003). Microtensile bond strengths of an etch&rinse and self-etch adhesive to enamel and dentin as a function of surface treatment. *Operative Dentistry*, 28(5), 647-660.
- Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL (2011). State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater*. 27(1):17-28.
- Vasconcellos W, Alexandre S, Luis V, Oliveira Jr. (2007). Tensile bond strenght: evaluation of four current adhesive systems in abraded enamel and deep dentin. *J Indian Prostodontic Society*. 7(2):77-80.

- Vasconcelos e Cruz J, Brito J, Polido M, Gonçalves LL. (2019). A new experimental adhesive system containing G-HEMA—physicochemical properties. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 33(4), 418-432.
- Vasconcelos, J., Polido, M., & Brito, J. (2020). *Dentin Bonding and SEM Analysis of a New Experimental Universal Adhesive System Containing a Dendrimer*.
- Wang Y, Spencer P (2002). Quantifying adhesive penetration in adhesive/dentin interface using confocal Raman microspectroscopy. *J Biomed Mater Res*. 59(1):46-55.
- Wang, Y., & Spencer, P. (2003). Hybridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. *Journal of dental research*, 82(2), 141-145.
- Wang, Y., Spencer, P., Yao, X., & Ye, Q. (2006). Effect of coinitiator and water on the photoreactivity and photopolymerization of HEMA/camphoquinone-based reactant mixtures. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 78(4), 721-728.
- Wagner, A., Wendler, M., Petschelt, A., Belli, R., & Lohbauer, U. (2014). Bonding performance of universal adhesives in different etching modes. *Journal of dentistry*, 42(7), 800-807.
- Yazici AR, Baseren M, Dayangac B (2002). The effect of current-generation bonding systems on microleakage of resin composite restorations. *Quintessence Int*. 33(10):763-769.
- Yazici AR, Yildirim Z, Ertan A, Ozgunaltay G, Dayangac B, Antonson, S & Antonson, DE. (2012). Bond strength of one-step self-etch adhesives and their predecessors to ground versus unground enamel. *Eur J Dent*. 6:7-11.
- Yoshida E, Uno S, Nodasaka Y, Kaga M & Hirano S. (2006). Relationship between water status in dentin and interfacial morphology in all-in-one adhesives. *Dent mater*. 23:34.

Yoshida Y, Yoshihara K, Hayakawa S, Nagaoka N, Okihara T, Matsumoto T *et al.* (2012). HEMA inhibits interfacial nano-layering of the functional monomer MDP. *J Dent Res.* 91(11):1060-1065.

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

Youngson CC, Jones JC, Manogue M, Smith IS (1998). In vitro dentinal penetration by tracers used in microleakage studies. *Int Endod J.* 31(2):90-99.

VIII. ANEXOS

Anexo 1 – Aprovação da Comissão de Ética do Instituto Universitário Egas Moniz

Comissão de Ética EGAS MONIZ



Proc. Interno nº 827

Ex.mo Senhor

Samuel Filipe Eduardo Félix

Monte de Caparica, 16 de janeiro de 2020

Ex.mo Senhor,

Em resposta ao Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado **“Avaliação da nanoinfiltração em dentina de um Sistema Adesivo Universal Experimental sem Bis-GMA”**, foi aprovado por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz

Profª. Doutora Maria Fernanda de Mesquita