



EGAS MONIZ SCHOOL
of HEALTH & SCIENCE

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO
EGAS MONIZ

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

INFLUÊNCIA DO PROTOCOLO DE APLICAÇÃO DE UM SISTEMA ADESIVO UNIVERSAL NA ADESÃO À DENTINA APÓS O ENVELHECIMENTO ARTIFICIAL:IN VITRO

Trabalho submetido por
Martinho Aragão Pinto Zava
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

novembro de 2023



EGAS MONIZ SCHOOL
of HEALTH & SCIENCE

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO
EGAS MONIZ

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**INFLUÊNCIA DO PROTOCOLO DE APLICAÇÃO DE UM SISTEMA
ADESIVO UNIVERSAL NA ADESÃO À DENTINA APÓS O
ENVELHECIMENTO ARTIFICIAL:IN VITRO**

Trabalho submetido por
Martinho Aragão Pinto Zava
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Professora Doutora Filipa Chasqueira
e coorientado por
Professora Doutora Joana Costa

novembro de 2023

“Viva como se fosse morrer amanhã.
Aprenda como se fosse viver para sempre.”

Ghandi

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof. Doutora Ana Filipa Chasqueira, pela preciosa orientação, sabedoria, paciência e apoio inestimáveis ao longo do decorrer da minha tese sem a qual não teria sido possível levar a cabo esta investigação.

À minha coorientadora Prof. Doutora Joana Costa, pelo apoio e sabedoria transmitidos antes e no decorrer da minha tese.

À Egas Moniz, que foi a minha 2^a casa durante estes 5 anos, nos quais muito me transmitiu e fez feliz.

À minha família, que não só é o meu orgulho, como o meu pilar nos momentos mais difíceis, com especial destaque para amor incondicional da minha mãe e valores transmitidos pelo meu pai. Em último e não menos importante aos meus queridos irmãos: Renato e Henrique por alegrarem e me apoiarem no meu dia-a-dia.

Aos meus amigos com os quais tive a sorte de construir uma forte relação, à Marta e à Madalena por todos os conselhos, amizade e apoio incondicional e ao meu parceiro de box e irmão Diogo por toda a camaradagem e amizade.

A todos os soldados, Guilherme, Tiago, João, Vlad, Gameiro e Francisco dos quais tenho todo o orgulho, por toda a camaradagem e amizade ao longo destes felizes anos.

RESUMO

Objetivos: Avaliar a resistência adesiva à dentina, por microtração (μ TBS), utilizando o adesivo universal Futurabond® M+ (VOCO) com técnica *self-etch* (SE) e *selective dentin etching* (SDE).

Analisar a ultramorfologia da camada híbrida, através de microscopia eletrônica de varrimento (MEV).

Materiais e Métodos: Selecionaram-se 30 molares humanos hígidos e distribuíram-se aleatoriamente por 3 grupos experimentais (n = 10) Grupo controlo – Futurabond® M+, com estratégia SE; Grupo SD1 - Futurabond® M+ com estratégia adesiva SDE; e Grupo SD2 - Futurabond® M+ com estratégia SDE, com 3 camadas adesivas sucessivas, secagem intercalada e polimerização no final. Os dentes foram seccionados de forma a obter-se uma fatia de dentina por dente e foi simulada a *smear layer*. O procedimento adesivo foi executado de acordo com o grupo experimental e finalizado com a aplicação de resina restauradora. Os dentes restaurados foram submetidos a termociclagem e seccionados em paralelepípedos de 1 mm². Cada palito foi testado sob forças de microtração, numa máquina de testes universal (5 kN; 0,5 mm/min). Os valores de μ TBS foram analisados estatisticamente com testes ANOVA *one-way* e post-hoc de *Tukey*. Foram selecionados aleatoriamente 2 palitos por grupo para observação da interface adesiva no MEV.

Resultados: Só foram verificadas diferenças estatisticamente significativas (p=0,001) nas forças de resistência adesiva entre os grupos SD1 e o grupo Controlo e entre os grupos SD2 e o Controlo (p=0,031).

Em termos ultramorfológicos, todos os grupos experimentais apresentaram camadas híbridas íntegras e observou-se maior número de prolongamentos de resina nos grupos SD1 e SD2.

Conclusão: A utilização do sistema adesivo Universal aliado à técnica SDE demonstrou ser vantajosa para os valores de resistência adesiva após o envelhecimento artificial. A aplicação de 3 camadas adesivas sucessivas com secagem intercalada e polimerização no fim não demonstrou vantagens comparativamente à aplicação de uma camada apenas.

Palavras-chave: Adesivo Universal, *Selective Dentin Etching*, Resistência adesiva, Camada Híbrida

Abstract

Objectives: Evaluate the adhesive strength to dentin by microtensile bond strength (μ TBS) using Futurabond® M+ universal adhesive (VOCO) with *self-etch* (SE) and *selective dentin etching* (SDE) techniques.

Analyze the ultramorphology of the hybrid layer using scanning electron microscopy (SEM).

Materials and Methods: 30 healthy human molars were selected and randomly assigned to 3 experimental groups (n = 10) Control group - Futurabond® M+, with SE strategy; Group SD1 - Futurabond® M+ with SDE adhesive strategy; and Group SD2 - Futurabond® M+ with SDE strategy, with 3 successive adhesive layers, interleaved drying and polymerization at the end. The teeth were sectioned to obtain a slice of dentin per tooth and the smear layer was simulated. The adhesive procedure was carried out according to the experimental group and ended with the application of restorative resin. The restored teeth were thermocycled and sectioned into 1 mm² parallelepipeds. Each toothpick was tested under microtensile forces in a universal testing machine (5 kN; 0.5 mm/min). The μ TBS values were statistically analyzed using one-way ANOVA and Tukey's post-hoc tests. 2 toothpicks per group were randomly selected for observation of the adhesive interface in the SEM.

Results: There were only statistically significant differences ($p=0.001$) in adhesive strength between the SD1 and Control groups and between the SD2 and Control groups ($p=0.031$).

In ultramorphological terms, all the experimental groups had intact hybrid layers and a greater number of resin extensions were observed in the SD1 and SD2 groups.

Conclusion: The use of the Universal adhesive system combined with the EDS technique proved to be advantageous in terms of adhesive strength values after artificial ageing. The application of 3 successive adhesive layers with interspersed drying and polymerization at the end showed no advantages compared to the application of just one layer.

Keywords: Universal Adhesive, *Selective Dentin Etching*, Adhesive Resistance, Hybrid Layer

Índice

<i>I. Introdução</i>	13
1. Adesão	13
1.1. Definição	13
2. Estrutura dentária	14
2.1 Constituição do esmalte.....	14
2.2 Constituição da dentina	14
2.2.2 Camada híbrida.....	16
3. Sistemas adesivos	17
3.1 Classificação dos Sistemas adesivos	17
3.2 Sistema adesivo <i>Etch-and-rinse</i>	18
3.3 Sistema adesivo <i>Self-etch</i>	19
3.4 Sistemas adesivos Universais	20
4. Durabilidade da adesão à dentina	21
4.1 Objetivos e problemas na adesão à dentina	23
4.2 Modo selective dentin etching (SDE)	24
4.3 Envelhecimento artificial por termociclagem.....	26
<i>II. Objetivos</i>	29
1. Objetivo principal	29
2. Objetivos específicos	29
<i>III. Materiais e métodos</i>	31
1. Seleção e armazenamento da amostra	31
2. Materiais e equipamentos utilizados no estudo	31
3. Preparação dos espécimes	34
4. Microscopia Eletrónica de Varrimento	37
<i>IV. Resultados</i>	39

1. Estatística descritiva.....	39
2. Estatística inferencial	39
3. Caracterização morfológica da interface adesiva em MEV	41
<i>V. Discussão.....</i>	<i>45</i>
1. Discussão	45
2. Limitações do estudo	49
3. Perspetivas futuras	49
<i>VI. Conclusão</i>	<i>51</i>
<i>VII. Referências Bibliográficas</i>	<i>Erro! Marcador não definido.</i>

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 -Técnicas adesivas atuais (Adaptado de Sezinando,2014).....	21
Figura 2 – Dentes utilizados no estudo	34
Figura 3 - Micrótopo de tecidos duros (Accutom-50, Struers, Dinamarca).....	34
Figura 4 - Termocicladora.....	35
Figura 5 - Dente com dentina exposta.....	35
Figura 6 - Máquina de testes universal (Shimadzu Autograph AG-IS)	36
Figura 7 - Palito no Jig de Geraldeli.....	36
Figura 8 - Microscópio eletrônico de varrimento (MEV).....	37
Figura 9 - Gráfico das forças adesivas (MPa) por protocolo, letras iguais, sob as barras, indicam grupos estatisticamente semelhantes, $p>0,05$	41

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1-Composição química e fabricante e instruções de utilização do Futurabond® M+ (VOCO, Germany) para restaurações diretas de acordo com o fabricante.....	32
Tabela 2-Composição química e fabricante e instruções de utilização do Cybertech Etch Gel 37%	32
Tabela 3-Composição química, fabricante e instruções de aplicação da resina composta Filtek™ Z250	33
Tabela 4-Estatística descritiva	39
Tabela 5-Teste de Normalidade.....	39
Tabela 6-Teste ANOVA.....	40
Tabela 7-Comparações múltiplas	41

LISTA DE ABREVIATURAS

4-AETA - Anidrido 4-Acriloiloxietil Trimelitato

4-META - Anidrido 4-Metacrililoxietil-Trimelitato

4-MET - Ácido 4-Metacrililoxietil-Trimelítico
10-MDP - Di-Hidrogenofosfato de 10
Metalocrililoxidecilo

DBA- Dentin Bonding Agents

E&R - *Etch-and-rinse*

HEMA - 2 Hidroxietil metacrilato

HMDS - Hexametildisilano

IDS - Immediate Dentin Sealing

ISO/TS - International Organization for Standardization/Technical Specification

JAC - Junção amelo-cementária

MAC10 - Ácido 11-metacrililoxi-1, 1-undecanodicarboxílico

MEP - Di-hidrogenofosfato de 2-metacrililoxietilo

MMP's - Metaloproteinases da matriz

MDPB - Brometo de metacrililoxidecilpiridínio

MPa - Megapascal

SE - *Self-etch*

SEE - *Selective-enamel-etching*

SDE - *Selective-dentin-etching*

UDMA - Uretano Dimetacrilato

I. Introdução

1. Adesão

1.1. Definição

A adesão consiste no estabelecimento de uma força de união que permite a ligação de dois materiais ou substratos de diferente composição. A adesão é essencial para se poder alcançar o objetivo fulcral de qualquer restauração adesiva, ou seja, conseguir uma adaptação íntima e duradoura do material restaurador ao esmalte e à dentina. O principal desafio para os novos adesivos dentários é ser simultaneamente eficaz em dois substratos dentários de natureza tão distinta(1)

As restaurações adesivas são cruciais na medicina dentária conservadora, uma vez que, permitem a preservação de um maior volume de estrutura dentária natural e melhoria da estética dos dentes restaurados. A natureza física e química da estrutura dentária, dos materiais de restauração, as técnicas de aplicação utilizadas e as condições do ambiente oral influenciam o sucesso da adesão. De modo a ser possível alcançar uma união efetiva, é imperativo que os materiais de restauração sejam capazes de interagir com a estrutura dentária a nível molecular, tornado assim possível a formação de uma ligação química e mecânica entre os dois substratos(2).

A formação da interface adesiva é complexa e envolve interações físicas e químicas entre o substrato dentário, quer seja este esmalte ou dentina, e o material adesivo. Os mecanismos envolvidos na adesão dentária são vários entre os quais se salientam: a molhabilidade do substrato, a penetração do adesivo na estrutura dentinária, a formação de ligações químicas entre o adesivo e o substrato, a adaptação marginal da restauração e a resistência mecânica do adesivo(3).

Enquanto a adesão ao esmalte é atualmente um procedimento simples e previsível, a penetração do adesivo na estrutura dentinária continua a ser um dos principais desafios na dentisteria adesiva. A dentina é um tecido heterógeno (componente mineral e orgânico) extremamente poroso e hidrofílico, o que por vezes dificulta a penetração do adesivo. Para o sucesso de estabelecimento de uma boa adesão, os adesivos devem ser capazes de penetrar na rede de colagénio e formar uma camada híbrida resistente mecanicamente e de elevada durabilidade (3).

2. Estrutura dentária

2.1 Constituição do esmalte

O esmalte dentário é o revestimento exterior das coroas dos dentes, é o material mais duro do corpo dos mamíferos e resistente à fratura. O seu teor extremamente elevado de 95% em peso de fosfato de cálcio, nos dentes de adultos saudáveis, é possível através da mineralização de uma matriz proteica variável em abundância e composição(4). O esmalte é composto por 92 a 96% de matéria inorgânica e os restantes 4% dividem-se pela matéria orgânica (enamelinas e carboidratos,1%) e água (3%). A porção inorgânica é composta essencialmente por fosfato de cálcio na forma de cristais de hidroxiapatite dispostos em prismas que se estendem perpendicularmente a partir da junção dentina-esmalte em direção à superfície do dente (5–7).

2.1.1 Adesão ao esmalte

A taxa de sucesso da adesão ao esmalte há muito que é elevada e previsível, devido à natureza inorgânica e homogénea do mesmo. A adesão a este substrato é conseguida através do condicionamento com ácido fosfórico, que foi um dos maiores avanços na medicina dentária adesiva, avanço esse introduzido por Buonocore há mais de 50 anos(8). No esmalte, o condicionamento ácido dissolve seletivamente os cristais de hidroxiapatite, criando microporosidades que são facilmente penetradas pelo adesivo, mesmo que de natureza hidrofóbica(9).

Após a polimerização, a retenção micromecânica da resina no esmalte exposto ao ácido proporciona uma ligação estável e mecanicamente forte a este substrato. Não só sela eficazmente as margens da restauração expostas à cavidade oral, a longo prazo, como também protege a ligação mais vulnerável à dentina da degradação por infiltração e subsequente hidrólise(10).

2.2 Constituição da dentina

A dentina é constituída por 70% de matéria inorgânica (cristais de hidroxiapatite), 20% de matéria orgânica (fibras de colagénio tipo I, glicoproteínas e proteoglicanos) e 10% de água. Embora as fibras de colagénio tipo I sejam as mais abundantes também já foram encontradas menores quantidades de fibras de colagénio tipo III e tipo IV(11). Embora as

fibras de colagénio tipo II sejam as mais abundantes também já foram encontradas menores quantidades de fibras de colagénio tipo III e tipo IV (11).

A organização estrutural da dentina consiste em túbulos dentinários, dentina interbular e dentina peritubular. A dentina é permeada pelos túbulos dentinários, que possuem prolongamentos odontoblásticos e fluido dentinário no seu interior. A dentina interbular contém matriz orgânica colagénica mineralizada bem organizada. Os túbulos dentinários têm uma forma de cone invertido que por norma tende a estreitar a partir da polpa em direção à junção dentina-esmalte (JDE) (12).

A dentina tem com a polpa uma relação histológica e fisiológica bastante íntima, sendo a formação da dentina, uma das funções mais importantes da polpa. Existem 3 tipos distintos de dentina, caracterizados pela sua origem, finalidade, tempo de aparecimento, estrutura, composição química, tonalidade e resistência mecânica(13).

Os diferentes tipos de dentina são: a dentina primária, a dentina secundária e a dentina terciária.

A dentina primária é formada pelo espessamento da membrana básica que se encontra entre o epitélio interno do esmalte e entre a pulpa mesodérmica primária. No caso dos jovens, a dentina possui numerosos túbulos dentinário (15.000 a 70.000 por milímetro quadrado), largos e praticamente retilíneos, representando um quarto da dentina(14).

A dentina secundária surge como resposta às agressões que a polpa sofre principalmente após o contacto oclusal, agressões essas relativas à ligeira agressividade da função biológica normal que incluem a mastigação, diferenças de temperatura, agressores químicos e outros pequenos traumas. Esta dentina é normalmente separada e delimitada da dentina primária através de uma linha ou zona de demarcação que pode ser mais ou menos notável. Esta dentina é menos permeável do que a primária, tendo um menor número de túbulos dentinários devido ao menor número de dentinoblastos por mm^2 e consequentemente um menor número de Fibras *Tomes*. A coloração desta dentina é mais escura do que a primária e os seus túbulos são mais curvos, angulados, menos regulares e de menor diâmetro(14).

A dentina terciária forma-se aquando da existência de estímulos pulpaes mais intensos e agressivos (classificados como de segundo grau) e que quase alcançam o limiar da

tolerância pulpar com fenômenos tais como: abrasão, cáries, exposição dentinária, erosão, fraturas, medicação inapropriada, preparos de dentes para restaurações diretas ou indiretas e material dentário pouco biocompatível que fomentam a formação deste um novo tipo de dentina. Esta é muitas vezes referida como: dentina irregular de terceira ordem, dentina reparadora, dentina compensatória, dentina irritada, dentina irregular secundária, entre outros(13,14).

2.2.1 Adesão à dentina

A adesão à dentina revela algumas dificuldades, devido à natureza heterogênea, deste substrato. Como anteriormente referido as variações na estrutura e permeabilidade da dentina afetam diretamente a adesão (14). Uma maior humidade resulta numa menor adesão em profundidade(12). Os túbulos dentinários na zona de transição dentina-polpa são de grande calibre e estreitam-se gradualmente à medida que se aproximam da JDE, com quantidades crescentes de dentina peritubular altamente mineralizada. Com a diminuição do diâmetro dos túbulos diminui a humidade intrínseca e o fluxo do fluido dentinário para a superfície aderida. Consequentemente, as forças de adesão imediata na dentina profunda são em média 30-50% mais baixas do que na dentina superficial (15).

A relação entre a morfologia e a permeabilidade e a forma como estas afetam a adesão tem sido alvo de diversos estudos. Uma menor resistência de união imediata e maior risco de degradação hidrolítica dos componentes da camada híbrida resultam num maior compromisso da integridade e durabilidade da interface adesiva. A degradação da camada híbrida ocorre por degradação enzimática das fibras de colagénio e lixiviação da camada híbrida (12).

2.2.2 Camada híbrida

A camada híbrida é uma interface criada entre a resina restauradora e o substrato dentário, por intermédio de um sistema adesivo. A natureza morfológica, fisiológica da dentina, o tempo útil disponível para o procedimento, a água necessária para manter a rede de colagénio expandida para posterior penetração da resina e o grau limitado da taxa de polimerização são os maiores obstáculos para a obtenção de tão desejada ligação íntima e duradoura entre a resina e a dentina(16).

Para a formação da camada híbrida, aquando do processo de adesão, são necessários alguns pré-requisitos:

- o adesivo deverá incluir monómeros com grupos hidrofílicos e hidrofóbicos que tenham a capacidade de penetrar na dentina (15) ;
- os péptidos dentinários, nos quais se inclui o colagénio, não deverão ser desnaturados quando a dentina é descalcificada (15);
- o pH do sistema adesivo não deverá ser demasiado agressivo, de modo a diminuir o risco de uma exposição do colagénio abaixo da camada híbrida, não impregnada por resina, que deixaria uma zona de dentina mais suscetível a degradação, por hidrólise, a longo prazo(17) ;
- o ativador deverá permitir a polimerização na presença de oxigénio e de água(18).

3. Sistemas adesivos

3.1 Classificação dos Sistemas adesivos

Os adesivos dentários são soluções de monómeros de resina que unem um material restaurador a um substrato. A interação de natureza micromecânica dos adesivos dentários com o substrato é o resultado da infiltração dos monómeros de resina nas microporosidades que foram causadas pela desmineralização daquele(17).

Atualmente podem ser utilizadas duas técnicas adesivas da resina ao material dentário remanescente: técnica *Etch-and-rinse* (E&R) e a técnica *Self-Etch* (SE), com algumas variações aos protocolos do fabricante. Independentemente da estratégia utilizada, a adesão à dentina depende da formação da camada híbrida, uma estrutura composta por fibras de colagénio desmineralizadas reforçadas pela matriz de resina (19).

Existem vários sistemas adesivos e a sua classificação é baseada na interação com o substrato e no número de passos. Temos assim os sistemas E&R de 3 e 2 passos e SE de 2 e 1 passos e os sistemas universais. Nos sistemas E&R o primeiro passo consiste em aplicar ácido ortofosfórico sobre o substrato. Desta forma, a área da superfície do esmalte é aumentada devido à criação de micro-rugosidades, enquanto na dentina, as fibrilas de colagénio são expostas devido à desmineralização da parte inorgânica(18). De seguida

segue-se a aplicação do primer e do adesivo, em frascos separados ou num único, consoante seja um sistema de 3 ou 2 passos, respetivamente. Quanto aos sistemas SE, a desmineralização e impregnação do adesivo ocorre em simultâneo, uma vez que, existem monómeros acídicos na formulação do primer. O adesivo, mais uma vez, pode estar num frasco à parte ou junto, consoante seja um sistema de 2 ou 1 passo, respetivamente(20).

Os adesivos SE são uma opção bastante prática graças à ação dos monómeros acídicos que permitem o condicionamento e infiltração nos tecidos dentários (20). No sistema SE de 1 passo o médico dentista não necessita de preparar o substrato antes de utilizar o sistema adesivo(21). As vantagens da utilização desta técnica são a redução do tempo despendido na realização do ato clínico e a redução da probabilidade de erros aquando da realização do procedimento. Alguns dos erros cuja incidência é reduzida são a falta de sensibilidade técnica por parte do operador e a possível contaminação durante o procedimento, caso não se trabalhe com isolamento absoluto(22).

3.2 Sistema adesivo *Etch-and-rinse*

Os sistemas adesivos E&R são os mais antigos de todas as gerações de sistemas adesivos. Como referido acima, existem vários modos de utilização, de 2 ou 3 passos, que envolvem o condicionamento ácido, a aplicação do *primer* e aplicação de um adesivo. O ácido ortofosfórico 32-37% (PH 0,1-0,4), só condiciona o substrato e devido ao seu pH baixo, elimina bactérias residuais. Os *primers*, por sua vez, são soluções ricas em 2 hidroxietil metacrilato (HEMA) que garantem a expansão completa da malha de fibrilas de colagénio e humedecem o colagénio com monómeros hidrofílicos. O contacto com a água aquando da lavagem pode expandir a rede de colagénio e servir como um veículo para inibidores de proteases ou agentes de reticulação de proteínas que podem por sua vez aumentar a durabilidade das ligações resina-dentina (14).

Buonocore (8) foi pioneiro a demonstrar e comprovar que o condicionamento ácido do esmalte aumenta a força de adesão entre o esmalte e a resina. O investigador concluiu que a ação acídica aumenta a superfície microscópica disponível para uma melhor retenção da resina.

No decorrer deste processo de evolução John Gwinnet analisou de perto através de um microscópico eletrónico que a resina poderia penetrar nos prismas de esmalte condicionado e envolver os cristais de apatite conferindo-lhes resistência ao ácido(9). A

aplicação de resina no esmalte condicionado com ácido levou à formação de uma nova estrutura, uma hidridização dos dois materiais.

Por outro lado, Nakabayashi et al. foram os primeiros a revelar formação de uma verdadeira camada híbrida na dentina condicionada com ácido(23). A formação desta camada híbrida foi constatada através da observação por microscopia eletrônica de transmissão e demonstrada por microscopia eletrônica de varrimento (24).

3.3 Sistema adesivo *Self-etch*

O adesivo SE de 2 passos requer a utilização de um *primer* ácido que torna possível o condicionamento ácido e o preparo do substrato dentário em simultâneo(25,26). Após a evaporação do solvente, a camada hidrófoba de adesivo sela a dentina(27). A simplificação do procedimento de adesão, não sendo necessária a fase de lavagem com água nem a de condicionamento ácido prévio, tornam todo o processo mais rápido e fácil (28).

Por outro lado, o adesivo SE de 1 passo é um adesivo que combina a funcionalidade do ácido, do *primer* e do adesivo num único frasco (28). Este sistema adesivo torna a técnica de adesão menos suscetível a erros de sensibilidade por parte do operador, reduzindo também a sensibilidade pós-operatória (28–31).

Os *primers* dos adesivos SE são constituídos por uma solução aquosa de monómeros funcionais, com um pH relativamente mais elevado do que o ácido fosfórico. Os sistemas adesivos autocondicionantes contém, geralmente, HEMA para aumentar a solubilidade dos monómeros acídicos em água e para aumentar a molhabilidade da superfície da dentina pelo adesivo(29)

Em suma, de modo a simplificar o procedimento de adesão num só único passo, a solução adesiva foi tornada mais hidrofílica através de um aumento da concentração do monómero ácido. Contudo, o aumento da concentração deste monómero ácido dos sistemas autocondicionantes comprometeu a ligação resina-dentina, pois formou-se uma camada híbrida semi-permeável. A maior permeabilidade à água desta camada híbrida compromete o selamento dentinário, o que culmina na degradação prematura das ligações resina-dentina e conseqüentemente da restauração(27,30–33)

3.4 Sistemas adesivos Universais

A utilização de um novo tipo de sistema adesivo, os adesivos Universais, tornou-se uma tendência crescente uma vez que podem ser utilizados tanto no modo E&R como no modo SE, SEE e SDE (34).

Aquando da expiração da patente da molécula 10-MDP, a indústria começou a explorar a sua utilização e de um outro éster de ácido fosfórico para a formulação de novos adesivos. O primeiro adesivo Universal foi introduzido comercialmente no Japão no ano de 2012 (35).

De seguida, os adesivos universais foram amplamente introduzidos no mercado, podendo ser utilizados com cimentos de resina, sobre vários substratos sem qualquer tratamento de superfície, com tempos de tratamento reduzido e vários graus de humidade na superfície de esmalte e dentina(36–39)

A interação química da partícula 10-MDP com a dentina é crucial para a obtenção de uma de uma camada híbrida mais estável quimicamente e duradoura (35,36).

A partícula 10-MDP é um monómero bi-funcional uma vez que possui na sua estrutura molecular dois grupos funcionais distintos: um grupo metacrilato (polimerizável) e um grupo fosfato cuja acidez concede-lhes a capacidade de interagir com os tecidos duros do dente. O grupo metacrilato aquando da exposição a uma fonte de luz adequada e a um ativador, reage com os outros grupos metacrilato num processo de polimerização que permite que a resina composta seja endurecida e fixada na estrutura dentária(37) Por outro lado, o grupo fosfato caracterizado por ser polar e reativo, possui a capacidade de estabelecer uma ligação estável à hidroxiapatite da dentina e do esmalte, mais especificamente aos iões de cálcio(38).

O grupo fosfato da partícula 10-MDP consegue ligar-se à hidroxiapatite da dentina, estabelecendo uma ligação electrostática. Tal ligação é possível devido à natureza polar e de carga negativa do grupo fosfato, que reage com a superfície da hidroxiapatite(um dos principais minerais da dentina) que por sua vez é carregada positivamente. Estas cargas opostas facilitam a atração electrostática entre o grupo fosfato e a hidroxiapatite. A ligação electrostática entre o 10-MDP e a hidroxiapatite ocorre devido à capacidade dos ácidos se ligarem quimicamente ao cálcio da hidroxiapatite, onde se verifica a

libertação de íons fosfato e hidróxido favorecendo a formação da ligação electrostática. A manutenção desta ligação química depende da estabilidade do sal de cálcio formado. O grupo fosfato quando em contacto com a dentina desmineralizada reage com os radicais hidroxilo presentes na superfície da dentina favorecendo a formação de ligações químicas covalentes, conhecidas por ligações covalentes, ligações fosfodiéster. Estas ligações são fortes e duradouras promovendo uma adesão eficaz à dentina(39,40).

Os sistemas adesivos que possuem o 10-MDP na sua composição têm a capacidade de formar sais MDP-Ca, que apresentam grande estabilidade, resistência à hidrólise e elevada longevidade, conferindo maior estabilidade e durabilidade à interface de ligação (41–44).

Em suma, o 10-MDP, que pode ser adicionado ao *primer* e à resina adesiva, tem a capacidade formar fortes ligações com hidroxiapatite presente no esmalte e dentina, permitindo assim associar a adesão química à adesão micromecânica, melhorando não só as forças de resistência adesiva, como a qualidade e longevidade da adesão.

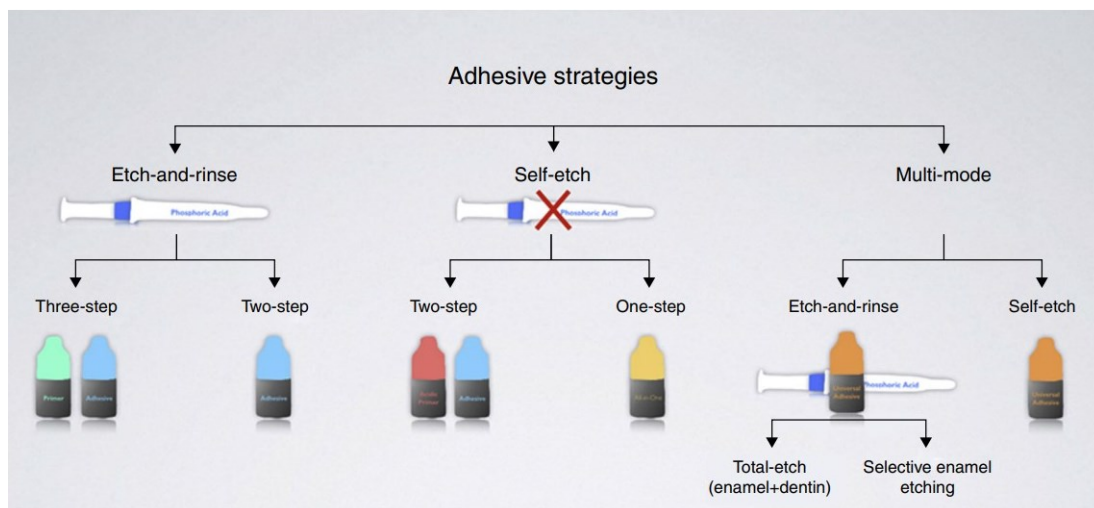


Figura 1 -Técnicas adesivas atuais (Adaptado de Sezinando,2014)(60)

4. Durabilidade da adesão à dentina

A durabilidade da adesão entre a resina e a estrutura dentária é o fator mais importante para a longevidade das restaurações adesivas. Contudo, para a obtenção de uma adesão

duradoura independentemente das propriedades específicas de cada material adesivo, são importantes a utilização de métodos de aplicação precisos (45).

A degradação do colagénio na camada híbrida, ou seja, a perda de colagénio na camada híbrida foi identificada há 15 anos , em vários estudos que se debruçavam sobre as ligações resina-dentina envelhecidas não só *in vitro* como *in vivo*(46). A dentina humana contém diversas enzimas que em conjunto, podem degradar o colagénio da dentina, as proteínas da matriz dentinária, incluindo o colagénio tipo I , o mais predominante. Estas enzimas pertencem às metaloproteínases (*MMPs*) da matriz ou cisteína catépsinas. Na tentativa de reduzir a degradação hidrolítica dos adesivos, têm sido criados adesivos (menos hidrofílicos) sem o monómero hidrofílico *HEMA* na sua constituição. Contudo, o efeito de solvatação deste monómero é perdido. Quando os outros solventes, como a acetona ou etanol evaporam, a água tende a separar os componentes do adesivo, tornando estes adesivos mais propensos à sua degradação. Vários estudos que examinaram a durabilidade dos adesivos sem o monómero *HEMA* revela uma perda da força de adesão(47) .

A *smear layer* é um fator que influencia a durabilidade da adesão, definindo-se por ser uma camada fina de resíduos que se forma aquando a preparação de uma peça dentária com a utilização de uma broca ou outro tipo de instrumento. Esta camada denominada por *smear layer* é essencialmente constituída por cristais de hidroxiapatite e colagénio que é desnaturado pelo calor e pela fricção aquando o processo de preparação do dente (48). É sugerido que a *smear layer* deva ser removida antes da aplicação do agente adesivo, a remoção parcial e a remoção completa desta são constatadas quando o ácido fosfórico é utilizado em adesivos SE e em adesivos E&R respetivamente(49,50).

Anteriormente à utilização do ácido fosfórico, os adesivos dentários das primeiras gerações ligavam-se diretamente à superfície coberta de resíduos, ou seja, à *smear layer* (48–51). A resistência de ligação *in vitro* destas restaurações foi registada em valores inferiores a 5 MPa, o que corresponde a uma baixa força de ligação que leva facilmente a uma descolagem clínica (48-51).

No caso da dentina, a utilização de um “autocondicionamento ácido forte “dissolve praticamente toda a *smear layer*, contudo não remove os fosfatos de cálcio dissolvidos. O fosfato de cálcio incorporado parece revelar uma baixa estabilidade hidrolítica. Esta

falta de estabilidade conduz a um enfraquecimento da integridade interfacial da dentina e do material restaurador, especialmente a longo prazo(52). Por outro lado os sistemas adesivos autocondicionantes são úteis na medida em que são de fácil utilização, ligando-se quimicamente à estrutura dentária podendo manter a hidroxiapatite da dentina, o que é importante para a durabilidade da ligação (53).

A fluidez do adesivo é também um fator importante, de modo que, quanto maior é a viscosidade de um adesivo mais difícil é molhar as superfícies do substrato de modo a produzir uma camada fina e apropriada de resina. O efeito da gravidade também influencia a espessura dos materiais adesivos nas paredes da cavidade, dependendo inevitavelmente da posição do dente. Em determinada cavidade, o adesivo pode acumular-se mais nos ângulos internos da cavidade do que nas suas próprias paredes, formando assim uma camada adesiva com espessura variável(54).

4.1 Objetivos e problemas na adesão à dentina

Apesar da fiabilidade e previsibilidade da adesão ao esmalte, a adesão à dentina tem sido considerada mais difícil e menos previsível. A principal adversidade é a natureza heterogénea da dentina, com a hidroxiapatita depositada numa rede de fibras de colagénio(55).

Como já referido anteriormente a adesão da dentina pode ser efetuada com os sistemas adesivos E&R ou SE. O objetivo consiste na criação de um meio ou via para a infiltração da resina adesiva na matriz colagénica. Nos sistemas E&R este meio é criado com o ácido ortofosfórico (15%), que dissolve os minerais a uma profundidade de 5-10 µm deixando a rede de colagénio da dentina altamente porosa(55). Posteriormente os monómeros de resina infiltram-se pela rede de colagénio. Nos casos em que são utilizados o sistema (SE) os monómeros de resina de natureza ácida característicos deste sistema desmineralizam e permeabilizam o substrato dentário. Os adesivos contêm solventes como por exemplo: água, etanol ou acetona, que tem como funcionalidade dissolver os monómeros e manter o nível de expansão da rede de colagénio de modo a permitir que os monómeros preencham os espaços dentro e ao redor das fibrilas de colagénio. Por fim com a utilização da luz de fotopolimerização permite a polimerização química destes monómeros que resulta num biocompósito designado por camada híbrida(14) .

A camada híbrida com o decorrer do tempo é alvo da degradação enzimática das fibras de colagénio ocorrendo também a lixiviação da resina da camada híbrida(15)

4.1.1 Degradação hidrolítica

A degradação hidrolítica dos componentes da camada híbrida, a matriz de colagénio e a resina adesiva compromete e integridade a longo prazo da interface adesiva e a durabilidade da resistência da união. A biodegradação das interfaces de resina-dentina aumentam a microinfiltração bacteriana levando a cáries secundárias difíceis de detetar (56).

A degradação da camada híbrida ocorre pela degradação enzimática das fibras de colagénio e pela lixiviação da resina da camada híbrida. A adesão à dentina húmida requer adesivos e primers que contenham monómeros hidrofílicos e iónicos de maneira a assegurar a hibridação adequada da rede colagénio exposta. O monómero *HEMA* tem muitas vantagens que o tornam o monómero adesivo hidrofílico mais utilizado e comum. Trata-se de um monómero pequeno, muito solúvel em água, etanol e acetona, que atua como um solvente para monómeros hidrofóbicos, sendo relativamente biocompatível na forma polimerizada. O monómero hidrofílico *HEMA* é o monómero mais utilizado, no entanto, a sua hidrofiliidade não tem só vantagens, uma vez que este monómero absorve água tanto no estado polimerizado, como no estado não polimerizado. Consequentemente pode culminar numa inibição da reação de polimerização, redução das propriedades mecânicas e levar à degradação hidrolítica do adesivo polimerizado (29).

Os mecanismos reais de degradação da ligação adesivo e substrato dentário estão longe de serem completamente compreendidos, é como tal, fulcral caracterizar minuciosamente as recomendações fornecidas pelo fabricante e segui-las corretamente. O desrespeito pode levar a uma deterioração do adesivo(57). O alcance de uma hibridização adequada dentro das fibrilas de colagénio e a estabilidade da interface resina-dentina são de extrema importância(58). A zona na qual ocorre esta hibridização, designada por camada híbrida, é essencial na ocorrência da retenção micromecânica da restauração(59).

4.2 Modo *selective dentin etching* (SDE)

Como resposta aos problemas inerentes à adesão em dentina foram desenvolvidas técnicas que permitiram a formação de uma interface adesiva com alguma previsibilidade,

a técnica SDE foi uma dessas técnicas. A utilização da técnica *SDE* consiste na aplicação inicial de ácido ortofosfórico na dentina durante 3 s e a posterior aplicação do adesivo universal de acordo com a indicação do fabricante o que visa melhorar a qualidade e profundidade de interação do adesivo universal utilizado com a dentina. A atuação do ácido durante 3 segundos com a dentina melhora a interação do adesivo sem a sobre-exposição do colagénio desmineralizado ou redução da disponibilidade do conteúdo de cálcio na interface adesiva. A utilização desta técnica adesiva parece apresentar bons resultados a longo prazo, produzindo uma camada híbrida estável. Os adesivos universais quando utilizados com a técnica *SE* produzem uma adesão à dentina não só de maior qualidade como mais duradoura do que a técnica *E&R*. A técnica *SDE* parece melhorar ainda mais a qualidade da adesão à dentina, contudo o tempo de contacto com o ácido ortofosfórico de 3 segundos deve ser respeitado(60).

A aplicação da técnica *SDE* durante 3 segundos tem demonstrado aumentar a resistência adesiva não só a curto como a longo prazo. Os estudos têm sugerido de que a proteção do colagénio da hidrólise e degradação precoce do adesivo é possível ser alcançada através da manutenção da presença dos cristais de hidroxiapatite ao redor das fibrilas de colagénio (28). Para tal efeito, estes adesivos universais possuem na sua constituição o monómero funcional (10-MDP) que pode formar complexos estáveis de fosfato de cálcio e organizar-se em camadas na superfície da apatite sob a forma de uma estrutura regular. A presença e manutenção de cálcio na interface da ligação estabelecida pode favorecer este processo de ligação química anteriormente referido(61).

A simplificação das técnicas adesivas não tem sido benéfica para a estabilidade a longo prazo da interface resina-dentina. A pressão hidrostática pulpar, o fluxo de fluido dentinário e o aumento da humidade dentinária na dentina vital podem afetar a interação íntima dos adesivos com o tecido dentinário. A degradação da ligação ocorre através da sorção de água, hidrólise de ligações ésteres de resinas metacrílicas e activação de metaloproteinases de matriz endógena de dentina(62).

Há décadas que são feitos esforços para conseguir ligações resina-dentina duradouras, o que exigiu uma melhor compreensão dos mecanismos subjacentes à degradação da camada híbrida (HL), o fabrico de sistemas adesivos, bem como o desenvolvimento de estratégias para a preservação da camada híbrida. A degradação da camada híbrida ocorre através de dois mecanismos: a degradação enzimática das fibras de colagénio e a

infiltração da resina da camada híbrida. Estes mecanismos são possibilitados pela água residual não ligada entre as fibras de colagénio desnaturada, retida no fundo da camada híbrida. Consequentemente, as enzimas dentinárias endógenas, tais como as metaloproteinases da matriz (MMPs) e as cisteínas catepsinas, são activadas e podem levar à degradação da matriz de colagénio desnaturada. (desnaturada). Foram desenvolvidas estratégias para a preservação da camada híbrida ao longo do tempo, que implicam a remoção da água não ligada dos espaços entre as fibras de colagénio, bem como diferentes modos de silenciar a actividade enzimática endógena(63).

4.3 Envelhecimento artificial por termociclagem

Além destes fatores a ciclagem térmica é um dos métodos de envelhecimentos mais comuns utilizados aquando a investigação da estabilidade da união estabelecida. Este método consiste numa constante exposição à água e a tensões térmicas de amplitude díspar que aceleram a degradação da união resina-dentina. Nestes estudos, existe o objetivo de avaliar a durabilidade das interfaces de ligação, os espécimes são sujeitos a ciclos térmicos(45).

A termociclagem é um método de envelhecimento artificial recorrentemente utilizado (64) recomenda 10 000 ciclos em água entre os 5 e os 55°C. Todavia, a literatura mais recente tem vindo a revelar que são necessários um maior número de ciclos, de modo, a simular o envelhecimento, podendo assim testar a eficácia da ligação a longo prazo. Esta amplitude térmica a que a interface adesiva é exposta conduz a uma série de reações químicas e mecânicas, entre as quais: uma aceleração da hidrólise e eluição dos componentes da interface adesiva propiciada pela água quente(65) e uma situação de *stress* repetitivo causada pela contração e expansão aquando a exposição a diferenças de temperatura abruptas(45).

O objetivo da exposição da interface adesiva aos ciclos de envelhecimento térmico é avaliar de que maneira os mecanismos químicos (de hidrólise e eluição dos componentes da interface), e físicos (*stress* de contração e expansão) afetam a resistência da interface adesiva. Este estímulo pode levar a que o contacto com a água quente acelere a hidrólise do colagénio não protegido e extraia oligómeros de resina pouco polimerizados(66,67). Devido ao fato de que o material de restauração possui um maior coeficiente de

contração/expansão térmica em relação ao tecido dentário verifica-se um maior aparecimento de fissuras na interface dente-biomaterial. Essas fissuras tendem a propagar-se ao longo das interfaces aderidas, o que pode levar a uma entrada e saída de fluídos patogénicos, num processo designado por percolação(68,69) .

Independentemente das técnicas adesivas utilizadas que podem gerar uma menor ou maior resistência de ligação de microtensão à dentina, é unânime de que a exposição a ciclos de envelhecimento térmico artificial culmina numa microfiltração que pode levar a um posterior enfraquecimento da ligação do adesivo à dentina. Foi constatado em diversos estudos de que o envelhecimento térmico artificial de espécimes conduz a um aumento do padrão reticular de nano fissuras, muito possivelmente em zonas de degradação hidrolítica. A dentina desmineralizada não protegida pode absorver água (70).

Dado as adversidades inerentes ao estabelecimento de uma boa adesão no substrato dentário têm sido efetuados diversos estudos e investigações laboratoriais.

II. Objetivos

1. Objetivo principal

Este estudo tem como objetivo:

- avaliar, laboratorialmente, a resistência adesiva, por μ TBS, à dentina com a utilização do sistema adesivo universal Futurabond M+, aplicado com a técnica adesiva SDE, após envelhecimento com termociclagem
- avaliar a ultramorfologia da interface adesiva, através de MEV.

2. Objetivos específicos

Hipótese Experimental

Hipótese nula H0: A resistência adesiva à dentina, após envelhecimento por termociclagem, utilizando o sistema adesivo Futurabond M+, não é influenciada pela estratégia adesiva.

Hipótese alternativa H1: A resistência adesiva à dentina, após envelhecimento por termociclagem, utilizando o sistema Futurabond M+, é influenciada pela estratégia adesiva.

III. Materiais e métodos

1. Seleção e armazenamento da amostra

Este estudo foi realizado no Laboratório de Biomateriais da Egas Moniz *School of Health & Science* e no Centro de Microscopia Eletrónica e Histopatologia Egas Moniz.

Foram utilizados 30 molares humanos definitivos hígidos extraídos nos últimos 6 meses, selecionados do Banco de Dentes Humanos (BDH), da Clínica Dentária Universitária Egas Moniz, com aprovação da Comissão de Ética da Egas Moniz *School of Health & Science* (anexo 1)

Os dentes foram armazenados em cloramina tri-hidratada 1% a 4 °C durante 1 semana e posteriormente em água destilada até à sua utilização. Com o intuito de manter a preservação dos dentes até a preparação e restauração, a solução da água destilada foi substituída semanalmente.

Os dentes foram limpos e os tecidos orgânicos residuais foram removidos com o auxílio de curetas Gracey 5/6.

2. Materiais e equipamentos utilizados no estudo

Os materiais utilizados foram: *Futurabond*® M+ (VOCO, Alemanha), resina *Filtek*™ Z250 A2(MN,USA), o CyberTech Etch Gel 37% (DE Healthcare Products Gillingham UK)

Os equipamentos utilizados foram: micrótomo de tecidos duros (Accutom-50, Struers, Dinamarca), máquina de testes universal (Shimadzu Autograph AG-IS, Tokyo, Japão) e o microscópio eletrónico de varrimento (MEV) (Feg-SEM da JEOL, modelo (JEOL, JSM-7001F, USA).

Tabela 1-Composição química e fabricante e instruções de utilização do Futurabond® M+ (VOCO,Alemanha) para restaurações diretas de acordo com o fabricante


<p>Adesivo Futurabond® M+ (VOCO, Alemanha).</p>	<p>Composição química: HEMA, Bis-GMA, UDMA, monómero ácido, adesivo, iniciador, catalisador e ácidos silícos pirogénicos</p>
	<p>Instruções de utilização:</p> <p>Técnica Self-Etch</p> <ol style="list-style-type: none">1-colocar 1 gota de adesivo na zona de mistura2-espalhar o adesivo por todas as superfícies durante 20 segundos3-jato de ar durante 5 segundos4-fotopolimerizar durante 10 segundos <p>Técnica Self-Etch com SDE</p> <ol style="list-style-type: none">1-aplicar o ácido durante 3 segundos2-lavar com água e secar sem desidratar a dentina3-colocar 1 gota de adesivo na zona de mistura4-espalhar o adesivo por toda a superfície(no grupo SD2 , o passo 4 e 5 são realizados 3 vezes).5-jato de ar pelo menos 5 segundos6-Fotopolimerização durante 10 segundos
<p>Lote:2317643 Validade:28/03/26</p>	

Tabela 2-Composição química e fabricante e instruções de utilização do Cybertech Etch 37%

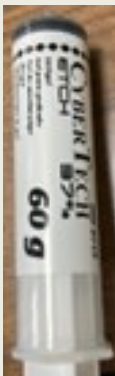
<p>CyberTech Etch Gel 37% (DE Healthcare Products Gillingham UK)</p>	<p>Composição química: Ácido Fosfórico 37% (H3PO4)</p>
	<p>Instruções de utilização:</p> <p>Técnica Self-Etch</p> <ul style="list-style-type: none">- Não é realizado o condicionamento ácido, são utilizados apenas os monómeros ácidos presentes no adesivo universal. <p>Técnica Self-Etch com SDE</p> <ul style="list-style-type: none">- Aplicar o ácido durante 3 segundos- Lavar com água e secar sem desidratar a dentina
<p>Lote:A2270 Validade:02/2024</p>	

Tabela 3-Composição química, fabricante e instruções de aplicação da resina composta Filtek™ Z250

<p>Resina Composta Filtek™ Z250 A2 3M ESPE,St.PAUL, MN,USA</p>	<p>Composição química: Zircônio/sílica, BisEMA, UDMA, Bis-GMA,TEGDMA</p>
	<p>Instruções de utilização:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Colocação por incrementos do material restaurador de até 2,5 mm - Permitir o ligeiro transbordo aquando o preenchimento da cavidade de modo a permitir a extensão do compósito para além das margens da cavidade. Contornar e formar com instrumentos de compósito adequado. - fotopolimerizar durante 20 segundos
<p>Lote:10026087 Validade:03/2026</p>	

Os 30 dentes foram distribuídos aleatoriamente por 3 grupos experimentais (n = 10) de acordo com o protocolo de aplicação do sistema adesivo:

Grupo 1 (controlo) –Futurabond® M+ aplicado segundo a estratégia SE

Grupo 2 (SD1) –Futurabond® M+, aplicado segundo as indicações do fabricante no modo SDE

Grupo 3 (SD2) -Futurabond® M+, segundo as indicações do fabricante no modo SDE, com aplicação de 3 camadas sucessivas de adesivo, com secagem intercalada e polimerização no fim.

3.Preparação dos espécimes

Os dentes foram fixados num suporte de acrílico com cera colante aquecida, de modo a poder prosseguir com os cortes das peças dentárias no micrótopo de tecidos duros (Fig. 3).

As peças dentárias foram seccionadas com dois cortes perpendiculares ao longo eixo do dente, removendo o esmalte oclusal e a raiz, de modo a se obter uma fatia de dentina com cerca de 2 mm de espessura (Fig.2 e 5). Na face correspondente à dentina mais superficial foi simulada a *smear layer* com um papel abrasivo de 600-grit de carboneto de silício de granulometria (Buehler, referência 30-5218-320 - Struers, Copenhaga, Dinamarca). De seguida, o sistema adesivo foi aplicado e fotopolimerizado, de acordo com o protocolo definido para cada grupo experimental. Os espécimes foram armazenados na estufa a 37 °C dentro de saliva artificial ou água desionizada.



Figura 2 – Dentes utilizados no estudo

Os espécimes foram submetidos a um envelhecimento térmico e físico, por termociclagem, recorrendo a 10 000 ciclos de temperatura entre os 5 e os 55 °C(Fig.4).



Figura 3- Micrótopo de tecidos duros (Accutom-50)



Figura 4 - Termocicladora

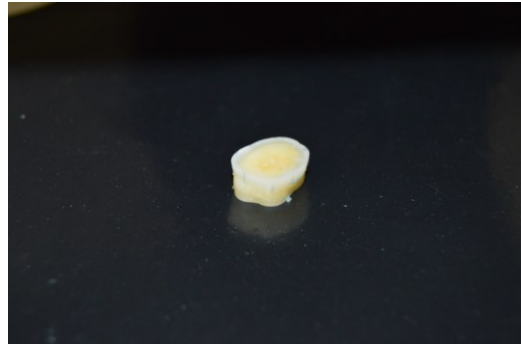


Figura 5 - Dente com a dentina exposta

Os dentes foram seccionados em palitos de 1mm^2 perpendicularmente ao longo do eixo do dente os quais foram testados até à falha, sob forças de microtração, numa máquina de testes universal, com uma célula de carga de 5 kN e uma velocidade de 0,5 mm/min respeitando as normas para o teste μTBS (71). Neste teste os vários espécimes obtidos de uma mesma fatia serão utilizados para a obtenção do valor da resistência adesiva nesse dente.

Nos testes de resistência adesiva, foram seleccionados 30 dentes de humanos, especificamente molares hígidos. Na impossibilidade de realizar os testes logo após a extracção, estes podem ser realizados até um periodo máximo de 6 meses após a extracção, desde que armazenados devidamente. Após a extracção, o dente é limpo com água de forma a remover qualquer resíduo remanescente, sendo depois conservado em água destilada, ou numa solução de cloramina-trihidratada a 0,5% por um periodo máximo de uma semana. Após uma semana, os dentes foram colocados em água destilada (a 4°C ou -5°C) e esta é renovada semanalmente de forma a minimizar a deterioração e o crescimento bacteriano.



Figura 6 - Máquina de testes universal (Shimadzu Autograph AG-IS)



Figura 7 -Espécime montado no Jig de Geraldeli

Foram selecionados aleatoriamente 2 palitos por grupo para ser realizada a observação da interface adesiva ao microscópio eletrónico de varrimento MEV (Fig 8). Para fazer a análise da morfologia os espécimes seguiram o protocolo de preparação descrito de seguida(72). A primeira etapa consistiu na fixação dos espécimes com uma solução de glutaraldeído a 2,5% e 0,1 M de tampão cacodilato de sódio (pH=7,4) a 4 °C durante 24 h sendo posteriormente submetidos a um banho de 0,2 M de tampão de cacodilato de sódio (pH=7,4) durante 1 h, com 3 banhos de 20 min.

As amostras foram lavadas com água destilada durante 1 min. De seguida, procedeu-se à desidratação com imersão em níveis ascendentes de etanol (25% durante 20 min, 50% durante 20 min, 75% durante 20 min, 96% durante 30 min e 100% durante 1 h).

Posteriormente os espécimes foram desmineralizados por imersão em HCl 0,1N, durante 1 min desproteinizados com 10% de Na OCl durante 10 min.

Os espécimes foram colocados em solução de HMDS (hexametildisilano) em 2 banhos de 10 min cada e deixados secar à temperatura ambiente em papel absorvente durante a noite.

Seguidamente os espécimes foram fixados num porta-amostras de alumínio com fita de carbono dupla face e metalizados cobertos com uma fina película de Au/Pd (Ouro/Paládio) numa metalizadora da Quorum Technologies, modelo QT150 ES (Jeol Fine Coat Ion Sputter JFC-1100E, Tóquio, Japão). No final, a interface adesiva dos espécimes preparados foram analisadas num MEV(Feg-SEM da JEOL , modelo (JEOL, JSM-7001F, USA)

4. Microscopia Eletrónica de Varrimento

O MEV (Fig.8) é uma das ferramentas mais utilizadas na análise da união adesiva(87). Este microscópio baseia-se na transmissão de uma imagem tridimensional cuja formação é originada ponto a ponto por eletrões. Os eletrões são emitidos em resposta à colisão do feixe de eletrões com a amostra. Por sua vez o número de eletrões emitidos de qualquer ponto da superfície depende da estrutura e composição desta. Dado o curto comprimento da onda dos feixes de eletrões, é possível obter imagens com uma boa resolução de estruturas tais como : a camada híbrida, *resin tags*, entre outras formações de poucos micrómetros(73) .



Figura 8 -Microscópio Eletrónico de Varrimento (MEV)

IV. Resultados

1. Estatística descritiva

A estatística descritiva dos resultados do ensaio de resistência adesiva encontra-se apresentada na tabela 4. Pela leitura da tabela 4. verifica-se que os valores médios obtidos foram de 22,75 (2,74) MPa para o grupo **Controlo**, de 26,11 (1,48) MPa para o grupo **SD1** e de 25,05 (1,08) MPa para o grupo **SD2**.

Tabela 4-Estatística descritiva

μ TBS (MPa)

Protocolo de Adesão	Máximo	Mínimo	Média+Desvio padrão (MPa)	Mediana	Mediana+Amplitude Interquartil
Controlo	27	17,5	22,75±2,74	22,45	22,45±3,85
SD1	28,5	23,4	26,11±1,48	26,4	26,4 ±1,88
SD2	26,7	23,1	25,05±1,08	25,3	25,3 ±1,18

2.Estatística inferencial

Depois de verificada a normalidade de distribuição dos resultados da amostra com o teste Shapiro-Wilk, ($p>0,05$),(tabela 5), procedeu-se à análise dos resultados com o teste paramétrico ANOVA one way (tabela 6).

Tabela 5-Teste de Normalidade

Testes de Normalidade

	Protocolo adesão	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
μ TBS (MPa)	Control	.137	10	.200*	.976	10	.942
	SD1	.155	10	.200*	.964	10	.830
	SD2	.219	10	.193	.896	10	.196

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

De acordo com a normalidade da distribuição dos dados da amostra foram selecionados os testes estatísticos mais adequados para análise dos dados.

Tabela 6-Teste ANOVA

ANOVA					
μ TBS (MPa)					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	59.011	2	29.505	8.146	.002
Within Groups	97.799	27	3.622		
Total	156.810	29			

O teste paramétrico *ANOVA* demonstrou que, existem diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,002$) nos valores de resistência adesiva obtidos para os 3 grupos experimentais.

Foi efetuado um *Post Hoc de Tukey* de modo a aferir entre que protocolos existiram as diferenças significativas.

Tabela 7-Comparações múltiplas

Comparações múltiplas

Dependent Variable: μ TBS (MPa)						
Tukey HSD						
(I) Protocolo adesão	(J) Protocolo adesão	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Control	SD1	-3.36000*	.85114	.001	-5.4703	-1.2497
	SD2	-2.30000*	.85114	.031	-4.4103	-.1897
SD1	Control	3.36000*	.85114	.001	1.2497	5.4703
	SD2	1.06000	.85114	.438	-1.0503	3.1703
SD2	Control	2.30000*	.85114	.031	.1897	4.4103
	SD1	-1.06000	.85114	.438	-3.1703	1.0503

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

O grupo **SD1** alcançou valores de resistência adesiva estatisticamente superiores ($p=0,001$) ao grupo **controle**. Entre o grupo **SD1** e o grupo **SD2** não foram detetadas diferenças estatisticamente significativas ($p=0,438$).

Entre o grupo **SD2** e o grupo **Controle** foram também detetadas diferenças estatisticamente significativas ($p=0,031$).

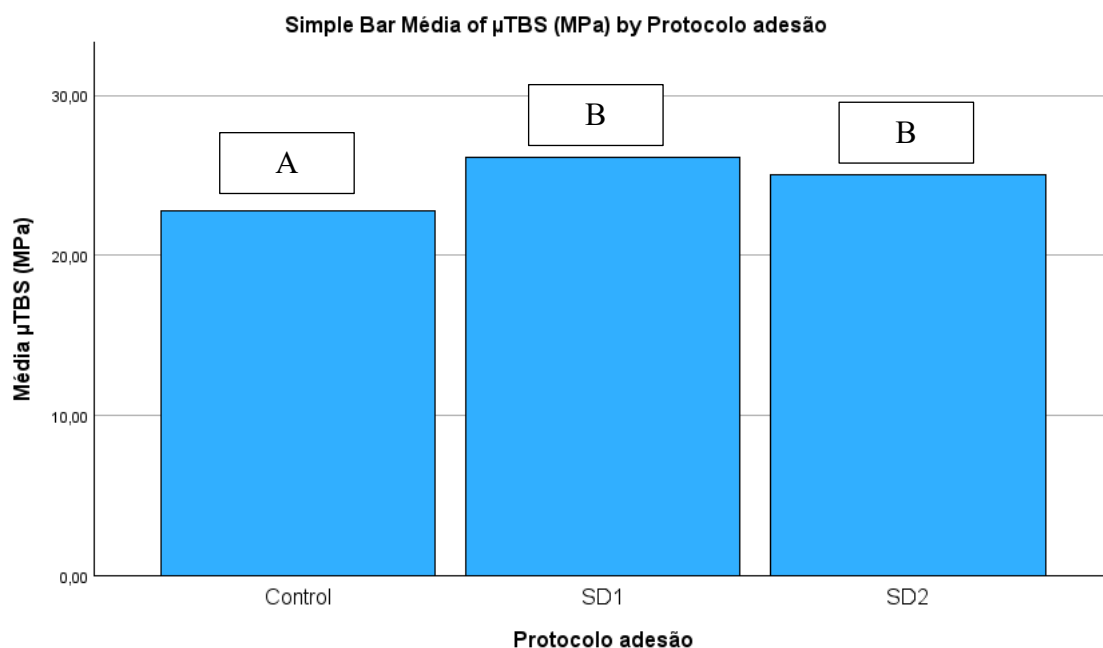


Figura 9 -Gráfico das forças adesivas (MPa) por protocolo (letras semelhantes, sobre as barras, indicam grupos estatisticamente semelhantes, $p>0,05$).

3.Caracterização morfológica da interface adesiva em MEV

Um dos objetivos secundários deste estudo é a utilização de MEV para avaliar qualitativamente a interface adesiva.

Conseqüentemente, após a constatação de que o tratamento com ácido clorídrico 6N por alguns minutos permitira uma melhor visualização, foram captadas duas imagens por grupo experimental, nas quais foram avaliados:

- Integridade da interface adesiva formada entre o sistema adesivo e o substrato dentinário
- Formação de prolongamentos e microprolongamentos laterais de resina

Observou-se que nos grupos onde o protocolo de adesão seguiu a técnica *SDE* a camada híbrida formada apresentava maior espessura em comparação com o grupo submetido à técnica *SE*.

Grupo Controlo

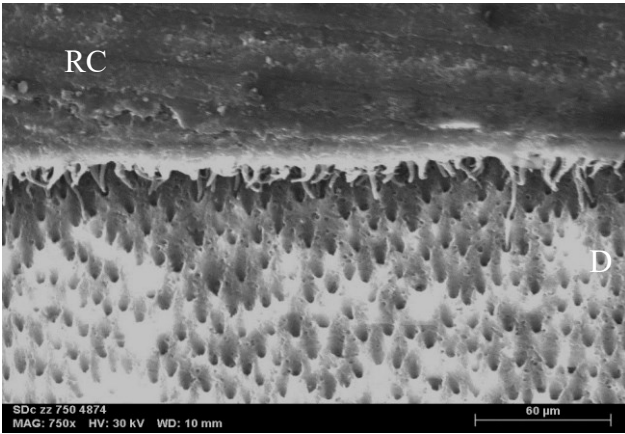


Figura 10- Interface adesiva criada no GC, ampliação 750x (RC –Resina composta ,D – dentina)

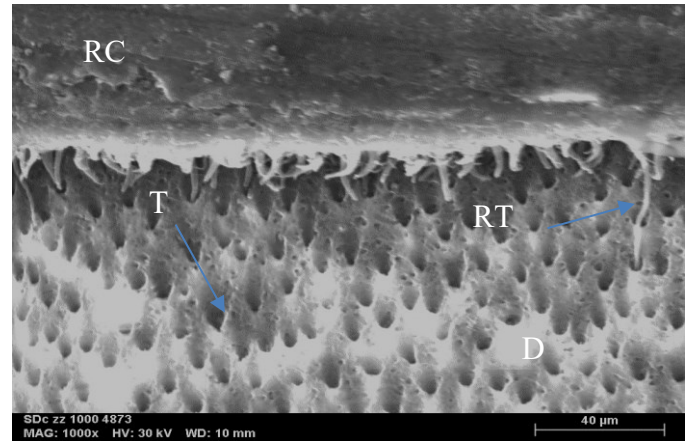


Figura 11-Interface adesiva criada no GC ampliação 1000x (RC–Resina composta, D- Dentina, RT- resin tags , T-túbulos dentinários)

Grupo SD1

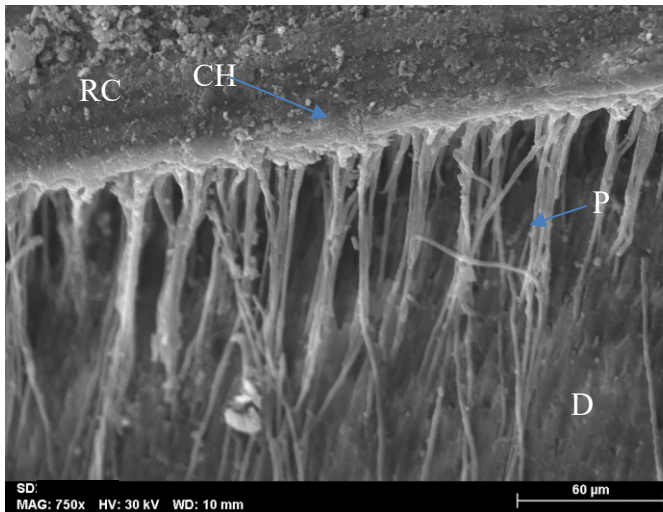


Figura 12- Interface adesiva criada no SD1, ampliação, 750x (RC – Resina Composta, D – dentina, CH-camada híbrida, P-prolongamento de resina)

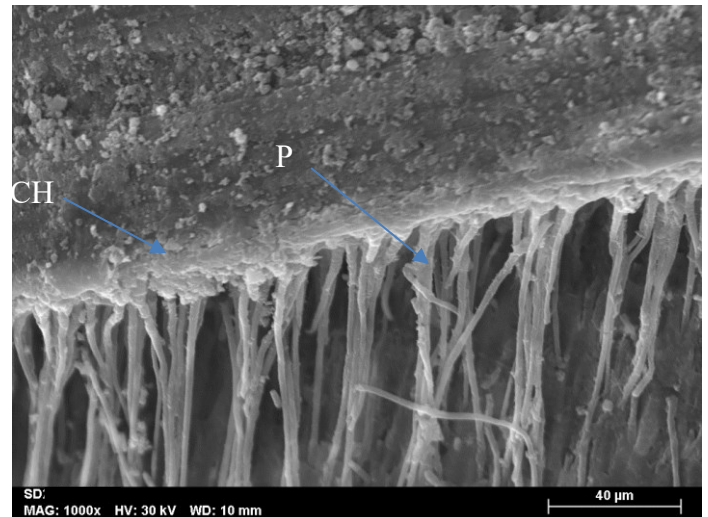


Figura 13- Interface adesiva criada no SD1, ampliação 1000x (CH-camada híbrida, P-prolongamento de resina)

Constatou-se a presença de alguns sais que permaneceram na amostra (após a lavagem com NaOCL), verifica-se no grupo *SD1* em relação ao grupo Controlo uma maior quantidade de prolongamentos de resina e de túbulos dentinários expostos e impregnados pelos resin tags. É notável um maior padrão desmineralizante no grupo *SD1* (Fig.12 e 13), devido à utilização do sistema adesivo com a técnica *SDE*.

Grupo SD2



Figura 14- Interface adesiva criada no SD2, ampliação, 750x (RC- Resina composta, D-Dentina)

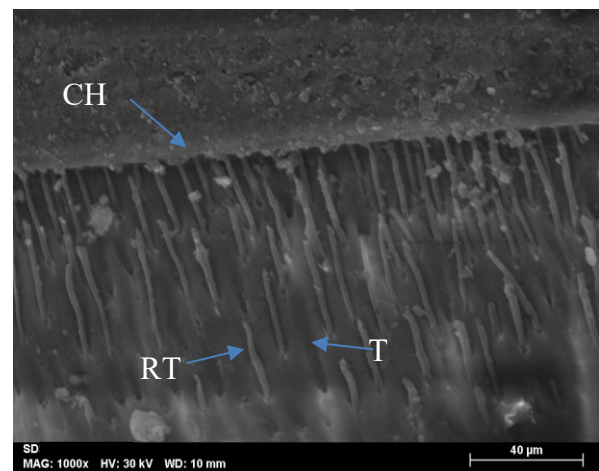


Figura 15- Interface adesiva criada no SD2, ampliação 1000x (CH-camada híbrida, RT- resin tags ,T-túbulos dentinários)

À semelhança do grupo *SD1* o grupo *SD2* revelou uma maior quantidade de prolongamentos de resina, túbulos dentinários e resin tags do que o grupo *Controlo*. É também notável um maior padrão desmineralizante no grupo *SD2* (Fig.14 e 15), devido à utilização do sistema adesivo com a técnica *SDE*.

V. Discussão

1. Discussão

Nesta investigação laboratorial procurou-se averiguar a existência de diferenças na resistência mecânica da interface adesiva dentina-resina promovida por três protocolos de aplicação do sistema adesivo Universal Futurabond® M+. Para tal, foi realizado o ensaio de testes de (μ TBS). Em complementaridade a este estudo da interface adesiva, foi realizada a sua avaliação qualitativa com MEV.

No estudo e avaliação da resistência adesiva dos espécimes dos diferentes grupos utilizou-se a máquina de testes universal. Os resultados mais fidedignos são obtidos em espécimes quadrados com 1 mm² que permitem um correto protocolo de colagem e testagem da resistência adesiva com a máquina de tração. A espessura da dentina remanescente é um fator que também influencia a testagem da resistência adesiva na máquina de tração Universal (μ TBS)(72).

A força de união entre a estrutura dentária e os sistemas adesivos é condicionada pela conjugação de fatores, o que conseqüentemente, torna a comparação entre estudos de grande dificuldade. A resistência da interface adesiva nos testes de microtração revela uma tendência crescente para áreas de adesão mais pequenas e com a utilização de compósitos de alto módulo de elasticidade(74).

Os ensaios mecânicos das interfaces aderidas permitem a obtenção de dados importantes no estudo e compreensão das variáveis do substrato, tornando possível a elaboração e evolução dos procedimentos de aplicação dos sistemas adesivo(75,76). Nesta investigação verificou-se uma melhoria nos resultados de resistência adesiva nos grupos expostos aos 3 s de condicionamento com ácido ortofosfórico a 37%, o que sugere uma interação adesivo-dentina mais eficaz.

Os grupos SD1 e SD2 revelaram um melhor desempenho, em termos de valores de resistência adesiva alcançados, em relação ao grupo Controlo, que seguiu um protocolo SE.

Os estudos existentes revelam que a técnica *SDE* com o condicionamento ácido durante 3 segundos melhora a profundidade de impregnação do adesivo universal, sem grande risco de exposição excessiva do colagénio desmineralizado ou de reduzir

a disponibilidade de Ca na interface adesiva, melhorando a eficácia da ligação à dentina. Contudo, tempos de condicionamento ácido mais longos devem ser evitados, existindo um risco de prejudicar a qualidade da ligação resina-dentina (60).

A técnica SDE é realizada com o intuito de melhorar a ligação resina-dentina através da preservação dos cristais de hidroxiapatite no interior dos espaços do colagénio intrafibrilar, cuja presença é necessária permitindo a ligação ao grupo fosfato do monómero bi-funcional, estabelecendo-se deste modo uma ligação electrostática entre o grupo fosfato (altamente polar) e de carga negativa com a superfície da hidroxiapatite ,de carga positiva(39,77).

Os mecanismos de ligação micro-mecânica e química dos adesivos universais tendem a ser maximizados através de um breve condicionamento com H₃PO₄, conseqüentemente a profundidade de interação com a dentina e com o adesivo aumenta. Não obstante, quando o tempo de condicionamento ácido é maior, verifica-se uma tendência de perda de qualidade da ligação adesiva a longo prazo. Essa perda de qualidade pode dever-se a uma exposição excessiva do colagénio desmineralizado e destruição do Ca presente na hidroxiapatite(60). Conseqüentemente, a capacidade do grupo fosfato do monómero bi-funcional estabelecer uma ligação estável (electrostática) à hidroxiapatite da dentina , mais especificamente aos iões de cálcio é condicionada.

Os tempos de condicionamento ácido superiores (de 10 e 15) influenciam negativamente a relação adesiva da resina-dentina, levando a uma desnaturaçãõ excessiva de fibras de colagénio, que culmina numa diminuição das forças adesivas, ficando deste modo a camada híbrida mais suscetível à degradação hidrolítica(60).

O sistema de adesivos universal torna a prática clínica mais rápida e fácil para o médico dentista, contudo diversos estudos revelam que tal sistema não deve ser utilizado como um sistema exclusivamente autocondicionante, sendo importante o condicionamento ácido prévio no esmalte e na dentina(78). A capacidade de condicionamento ácido das resinas autocondicionantes está dependente da profundidade de interação do adesivo na dentina(30).

Um dos desafios para a técnica *SE* é a dissolução da *smear layer* sem a desmineralização profunda da dentina, de modo a preservar os cristais de hidroxiapatite na interface de união(60). Por vezes parte destes resíduos, maioritariamente cristais de hidroxiapaita e colagénio (constituintes da *smear layer*), resíduos bloqueiam os orifícios dos túbulos dentinários, formando tampões de *smear layer* que diminuem a permeabilidade da dentina em 86% (49). Contudo, o fluido dos túbulos dentinários pode permear através da *smear layer* devido à sua estrutura microporosa(79).

Quando a *smear layer* na dentina é espessa existe a possibilidade dos monómeros de resina não serem capazes de penetrar através desta, havendo um contacto insuficiente com a dentina mineralizada intacta(26). Por outro lado, a acidez do primer pode ser tamponada pelos componentes minerais da camada de esfregaço da dentina reduzindo assim o potencial de desmineralização e formação de uma camada híbrida na dentina intacta (75).

Consequentemente, o grupo Controlo (SE), pode ter sido condicionado pela presença de *smear layer*, que pode ter dificultado a penetração de interação do adesivo na dentina, não sendo possível estabelecer a união química e retenção micromecânica desejadas.

A aplicação de várias camadas de adesivo com secagem intercalada é um método alternativo que foi aplicado no grupo experimental SD2 cujo intuito é aumentar a eficácia dos adesivos Universais na ligação à dentina. Este método consiste na incorporação de várias camadas adesivas(76). Todavia, constatou-se que o efeito geral deste método alternativo de aplicação de camadas adesivas com secagem intercalada era material-dependente, bem como influenciado pela técnica utilizadas e pelo próprio operador. Não só a eficácia da adesão imediata como também a eficácia da adesão envelhecida parecem ser dependentes do material utilizado(80).

Um estudo no qual foi utilizada a técnica adesiva SE, foram comparados 4 grupos experimentais nos quais se comparou a influência do número de camadas adesivas aplicadas na resistência da ligação. Apesar de ter-se verificado uma tendência para um aumento dos valores de resistência à tração à medida que são aplicadas camadas adicionais de adesivo, os valores de resistência adesiva obtidos pelo grupo com 4

camadas adicionais de adesivo diminuiram. Neste grupo (4 camadas adicionais) ao contrário daqueles em que foram aplicados de 1 a 3 camadas de adesivo, poderá ter havido um aumento da espessura do adesivo que tenha dificultado a impregnação dos monómeros de resina na rede de colagénio(74). Assim sendo, é possível que tal aumento da espessura do adesivo tenha levado aos resultados obtidos nesta investigação, no qual o grupo SD2(no qual foram aplicadas 3 camadas adesivas sucessivas com secagem intercalada) embora com valores de resistência adesiva ligeiramente inferiores não tenha demonstrado diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo SD1.

A camada de interação dos adesivos auto-condicionantes com a dentina é bastante fina cerca de 100 nm(81). Pelo que até uma pequena melhoria na profundidade de interação do adesivo com a dentina podem ter uma grande influência na eficácia da adesão. O condicionamento ácido durante 3 s origina a formação de uma fina matriz de colagénio desmineralizada que permite melhorias na profundidade de interação e consequentemente uma melhor retenção micromecânica(60). O ácido quando aplicado desmineraliza a dentina, permitindo que o grupo fosfato dos monómeros funcionais reaja com os radicais hidroxilo presentes na dentina, levando à formação de ligações químicas. Estas ligações fosfodiéster (ligações covalentes) são fortes e duradouras promovendo a adesão eficaz à dentina. A utilização do ácido por um tempo reduzido de 3 segundos preserva suficientemente a estrutura da hidroxiapatite da dentina, com destaque para os iões de cálcio com os quais se estabelecerá uma ligação com o grupo fosfato do monómero funcional do adesivo(82)(38) .

A ligação entre a penetração dos adesivos na estrutura dentária e a espessura da camada adesiva está diretamente relacionada às propriedades reológicas e químicas(82). No entanto esta relação também pode ser influenciada pela forma como o adesivo é aplicado(83). De modo a aprimorar a penetração do monómero foram utilizadas várias estratégias entre as quais a aplicação de várias camadas de adesivo, aumento nos tempos de polimerização e evaporação do solvente(84).

No presente estudo não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre o grupo SD1 e o grupo SD2 no qual foram aplicadas 3 camadas adesivas com secagem intercalada, o aumento da espessura do adesivo poderá ter dificultado a impregnação

dos monómeros de resina da rede de colagénio, sendo os valores de resistência adesiva do grupo SD1 ligeiramente superiores.

Nesta investigação foi realizada uma avaliação qualitativa da interface adesiva resina-dentina através do MEV, na qual foi possível observar uma maior quantidade de prolongamentos de resina, túbulos dentinários e *resin tags* nas imagens do grupo SD1 e SD2 em comparação com o grupo Controlo. Foi constatado um maior padrão desmineralizante nos grupos SD1(Fig 12 e 13) e SD2(Fig 14 e 15) devido à utilização do sistema adesivo com a técnica SDE. Os grupos onde o protocolo de adesão seguiram a técnica SDE aparentaram apresentar uma camada híbrida com uma maior espessura quando comparada com o grupo Controlo , submetido à técnica SE.

É possível aferir que a resistência adesiva à dentina após o envelhecimento por termociclagem, utilizando o sistema adesivo Futura Bond M+, é influenciado pela estratégia adesiva , pelo que se rejeita a hipótese nula H_0 ($p < 0,05$).

2. Limitações do estudo

A origem das peças dentárias oriundas de diferentes indivíduos leva a uma heterogeneidade da composição dentinária que consequentemente afeta os valores da resistência adesiva, sendo uma variável pré-existente ao estudo, para além da variável inicial imposta pelo estudo (diferente técnica adesiva utilizada).

A inexperiência do operador é um fator que pode influenciar a qualidade da interface adesiva formada, o modo de preparação dos espécimes e por conseguinte a resistência adesiva.

3. Perspetivas futuras

A observação e estudo de um maior número de peças dentárias de modo a poder analisar um número de palitos mais extenso com o intuito de ter uma melhor noção da influência do protocolo de aplicação do adesivo Universal na resistência adesiva-dentina com a utilização do Sistema Adesivo Universal - Futurabond® M+(VOCO).

Dada a limitação do adesivo universal hidrofílico deveria colocar-se num estudo posterior uma camada hidrófoba adicional de modo a permitir um melhor isolamento da camada híbrida.

Poderão ser utilizados outros tipos de adesivos universais de modo a avaliar a sua resistência adesiva. Poderá também ser realizada a análise química da interface adesiva com microespectroscopia e Raman.

VI. Conclusão

No decorrer desta investigação laboratorial observaram-se diferenças estatisticamente significativas na resistência adesiva à dentina consoante a estratégia adesiva utilizada.

A resistência adesiva à dentina, após o envelhecimento por termociclagem, utilizando o sistema adesivo Futurabond® M+ é influenciada pela estratégia adesiva, pelo que os grupos no qual foi aplicada a técnica *SDE*: *SD1* e *SD2* revelaram valores de resistência adesiva μ TBS estatisticamente superiores aos do grupo Controlo.

A camada híbrida é uma interface entre a resina composta e a dentina, cuja integridade é influenciada pela estratégia adesiva. A técnica *SDE* aparentou favorecer uma melhor impregnação dos monómeros de resina na rede de colagénio da dentina o que se traduziu numa maior resistência adesiva aos testes de tração e uma maior espessura da camada híbrida aquando da análise qualitativa das imagens do MEV. Em suma, podemos constatar que a técnica *SDE* melhora a penetração do adesivo universal originando uma interface resina-dentina mais resistente.

VII. Referências Bibliográficas

1. Perdigão J. Current perspectives on dental adhesion: (1) Dentin adhesion – not there yet. *Japanese Dental Science Review*. novembro de 2020;56(1):190–207.
2. Manuja N, Nagpal R, Pandit IK. Dental adhesion: mechanism, techniques and durability. *J Clin Pediatr Dent*. 2012;36(3):223–34.
3. Andrade, Lima, Vasconcelos. MECHANISM OF ADHESION TO TISSUE DENTAL: THEORY AND CLINICAL ASPECTS. 2016;
4. Gil-Bona A, Bidlack FB. Tooth Enamel and Its Dynamic Protein Matrix. *IJMS*. 23 de junho de 2020;21(12):4458.
5. De Menezes Oliveira MAH, Torres CP, Gomes-Silva JM, Chinelatti MA, De Menezes FCH, Palma-Dibb RG, et al. Microstructure and mineral composition of dental enamel of permanent and deciduous teeth. *Microsc Res Tech*. 2009;NA-NA.
6. Antonio Nanci. Enamel: composition, formation, and structure; Dentin-pulp complex. In *Ten Cate's oral histology : development, structure, and function*. (8th edition, pp. 122–204). 2013.
7. Park S, Wang DH, Zhang D, Romberg E, Arola D. Mechanical properties of human enamel as a function of age and location in the tooth. *J Mater Sci: Mater Med*. junho de 2008;19(6):2317–24.
8. Buonocore MG. A Simple Method of Increasing the Adhesion of Acrylic Filling Materials to Enamel Surfaces. *J Dent Res*. dezembro de 1955;34(6):849–53.
9. Gwinnett AJ, Matsui A. A study of enamel adhesives. *Archives of Oral Biology*. dezembro de 1967;12(12):1615-IN46.
10. De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K, et al. Four-year Water Degradation of Total-etch Adhesives Bonded to Dentin. *J Dent Res*. fevereiro de 2003;82(2):136–40.
11. Goldberg M. Dentin structure composition and mineralization. *Front Biosci*. 2011;E3(2):711–35.
12. Tjäderhane L. Dentin Bonding: Can We Make it Last? *Operative Dentistry*. 1 de janeiro de 2015;40(1):4–18.
13. Kuttler Y. Classification of dentine into primary, secondary, and tertiary. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. agosto de 1959;12(8):996–1001.
14. Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjäderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, et al. State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dental Materials*. janeiro de 2011;27(1):1–16.

15. Carvalho RM, Tjäderhane L, Manso AP, Carrilho MR, Carvalho CAR. Dentin as a bonding substrate: Dentin bonding. *Endod Topics*. setembro de 2009;21(1):62–88.
16. Pashley DH, Tay FR, Carvalho RM, Rueggeberg FA, Agee KA, Carrilho M, et al. From dry bonding to water-wet bonding to ethanol-wet bonding. A review of the interactions between dentin matrix and solvated resins using a macromodel of the hybrid layer. *Am J Dent*. fevereiro de 2007;20(1):7–20.
17. Perdigão J. New Developments in Dental Adhesion. *Dental Clinics of North America*. abril de 2007;51(2):333–57.
18. Van Meerbeek B, Perdigão J, Lambrechts P, Vanherle G. The clinical performance of adhesives. *Journal of Dentistry*. janeiro de 1998;26(1):1–20.
19. Nakabayashi N, Nakamura M, Yasuda N. Hybrid Layer as a Dentin-Bonding Mechanism. *J Esthet Restor Dent*. julho de 1991;3(4):133–8.
20. Atik E, Kızılırmak M, Akcan CA, Taner T. No-primer adhesive vs. self-adhesive resin: bonding strength following LED curing. *J Orofac Orthop*. março de 2022;83(2):141–50.
21. Schnebel B, Mateer S, Maganzini AL, Freeman K. Clinical acceptability of two self-etch adhesive resins for the bonding of orthodontic brackets to enamel. *Journal of Orthodontics*. dezembro de 2012;39(4):256–61.
22. Faltermeier A, Behr M, Müssig D. A comparative evaluation of bracket bonding with 1-, 2-, and 3-component adhesive systems. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. agosto de 2007;132(2):144.e1-144.e5.
23. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res*. maio de 1982;16(3):265–73.
24. Van Meerbeek B, Inokoshi S, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological Aspects of the Resin-Dentin Interdiffusion Zone with Different Dentin Adhesive Systems. *J Dent Res*. agosto de 1992;71(8):1530–40.
25. Chigira H, Yukitani W, Hasegawa T, Manabe A, Itoh K, Hayakawa T, et al. Self-etching Dentin Primers Containing Phenyl-P. *J Dent Res*. maio de 1994;73(5):1088–95.
26. Watanabe I, Nakabayashi N, Pashley DH. Bonding to Ground Dentin by a Phenyl-P Self-etching Primer. *J Dent Res*. junho de 1994;73(6):1212–20.
27. Tay FR, Pashley DH. Have dentin adhesives become too hydrophilic? *J Can Dent Assoc*. dezembro de 2003;69(11):726–31.
28. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent*. 2003;28(3):215–35.

29. Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A, et al. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*. setembro de 2007;28(26):3757–85.
30. Tay FR, Pashley DH. Aggressiveness of contemporary self-etching systems. *Dental Materials*. julho de 2001;17(4):296–308.
31. Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Itthagarun A. Single-step adhesives are permeable membranes. *Journal of Dentistry*. setembro de 2002;30(7–8):371–82.
32. Yiu CKY, King NM, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Carrilho MRO, et al. Effect of resin hydrophilicity and water storage on resin strength. *Biomaterials*. novembro de 2004;25(26):5789–96.
33. Effects of Water Storage on Bond Strength and Dentin Sealing Ability Promoted by Adhesive Systems. *The Journal of Adhesive Dentistry*. 15 de dezembro de 2012;14(6):543–9.
34. Jang JH, Lee MG, Woo SU, Lee CO, Yi JK, Kim DS. Comparative study of the dentin bond strength of a new universal adhesive. *Dental Materials Journal*. 2016;35(4):606–12.
35. Fehrenbach J, Isolan CP, Münchow EA. Is the presence of 10-MDP associated to higher bonding performance for self-etching adhesive systems? A meta-analysis of in vitro studies. *Dental Materials*. outubro de 2021;37(10):1463–85.
36. Tian F, Zhou L, Zhang Z, Niu L, Zhang L, Chen C, et al. Paucity of Nanolayering in Resin-Dentin Interfaces of MDP-based Adhesives. *J Dent Res*. abril de 2016;95(4):380–7.
37. Kim EC, Park H, Lee SI, Kim SY. Effect of the Acidic Dental Resin Monomer 10-methacryloyloxydecyl Dihydrogen Phosphate on Odontoblastic Differentiation of Human Dental Pulp Cells. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. novembro de 2015;117(5):340–9.
38. Fukegawa D, Hayakawa S, Yoshida Y, Suzuki K, Osaka A, Van Meerbeek B. Chemical Interaction of Phosphoric Acid Ester with Hydroxyapatite. *J Dent Res*. outubro de 2006;85(10):941–4.
39. Yoshida Y, Van Meerbeek B, Nakayama Y, Yoshioka M, Snauwaert J, Abe Y, et al. Adhesion to and Decalcification of Hydroxyapatite by Carboxylic Acids. *J Dent Res*. junho de 2001;80(6):1565–9.
40. Yoshioka M, Yoshida Y, Inoue S, Lambrechts P, Vanherle G, Nomura Y, et al. Adhesion/decalcification mechanisms of acid interactions with human hard tissues. *J Biomed Mater Res*. janeiro de 2002;59(1):56–62.
41. Matsui N, Takagaki T, Sadr A, Ikeda M, Ichinose S, Nikaido T, et al. The role of MDP in a bonding resin of a two-step self-etching adhesive system. *Dental Materials Journal*. 2015;34(2):227–33.

42. Feitosa VP, Pomacóndor-Hernández C, Ogliari FA, Leal F, Correr AB, Sauro S. Chemical interaction of 10-MDP (methacryloyloxi-decyl-dihydrogen-phosphate) in zinc-doped self-etch adhesives. *Journal of Dentistry*. março de 2014;42(3):359–65.
43. Turp V, Sen D, Tuncelli B, Özcan M. Adhesion of 10-MDP containing resin cements to dentin with and without the etch-and-rinse technique. *J Adv Prosthodont*. 2013;5(3):226.
44. Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H, et al. Comparative Study on Adhesive Performance of Functional Monomers. *J Dent Res*. junho de 2004;83(6):454–8.
45. Daneshmehr L, Ozer F, Mante FK, Blatz MB. Relationship between air-blowing duration and bond strengths of three adhesive systems to dentin after thermal aging. *Dent Mater J*. 2013;32(5):767–74.
46. Takahashi A, Inoue S, Kawamoto C, Ominato R, Tanaka T, Sato Y, et al. In vivo long-term durability of the bond to dentin using two adhesive systems. *J Adhes Dent*. 2002;4(2):151–9.
47. Monticelli F, Osorio R, Pisani-Proença J, Toledano M. Resistance to degradation of resin–dentin bonds using a one-step HEMA-free adhesive. *Journal of Dentistry*. fevereiro de 2007;35(2):181–6.
48. Eick JD, Cobb CM, Chappell RP, Spencer P, Robinson SJ. The dentinal surface: its influence on dentinal adhesion. Part I. *Quintessence Int*. dezembro de 1991;22(12):967–77.
49. Oliveira SSA, Pugach MK, Hilton JF, Watanabe LG, Marshall SJ, Marshall GW. The influence of the dentin smear layer on adhesion: a self-etching primer vs. a total-etch system. *Dental Materials*. dezembro de 2003;19(8):758–67.
50. Saikaew P, Matsumoto M, Sattabanasuk V, Harnirattisai C, Carvalho RM, Sano H. Ultra-morphological characteristics of dentin surfaces after different preparations and treatments. *Eur J Oral Sci*. junho de 2020;128(3):246–54.
51. Retief DH, Denys FR. Adhesion to enamel and dentin. *Am J Dent*. julho de 1989;2 Spec No:133–44.
52. Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, J. DM, K.L. VL. State of the art of self-etch adhesives. *Dental Materials*. janeiro de 2011;27(1):17–28.
53. Giannini M, Makishi P, Ayres APA, Vermelho PM, Fronza BM, Nikaido T, et al. Self-Etch Adhesive Systems: A Literature Review. *Braz Dent J*. fevereiro de 2015;26(1):3–10.
54. Pazinato FB, Atta MT. Influence of Differently Oriented Dentin Surfaces and the Regional Variation of Specimens on Adhesive Layer Thickness and Bond Strength. *J Esthet Restor Dent*. abril de 2008;20(2):119–28.

55. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, et al. A Critical Review of the Durability of Adhesion to Tooth Tissue: Methods and Results. *J Dent Res.* fevereiro de 2005;84(2):118–32.
56. Kermanshahi S, Santerre JP, Cvitkovitch DG, Finer Y. Biodegradation of Resin-Dentin Interfaces Increases Bacterial Microleakage. *J Dent Res.* setembro de 2010;89(9):996–1001.
57. Cardoso SA, Oliveira HL, Münchow EA, Carreño NL, Gonini Junior A, Piva E. Effect of shelf-life simulation on the bond strength of self-etch adhesive systems to dentin. *Appl Adhes Sci.* dezembro de 2014;2(1):26.
58. Betancourt DE, Baldion PA, Castellanos JE. Resin-Dentin Bonding Interface: Mechanisms of Degradation and Strategies for Stabilization of the Hybrid Layer. *International Journal of Biomaterials.* 3 de fevereiro de 2019;2019:1–11.
59. Takamizawa T, Imai A, Hirokane E, Tsujimoto A, Barkmeier WW, Erickson RL, et al. SEM observation of novel characteristic of the dentin bond interfaces of universal adhesives. *Dental Materials.* dezembro de 2019;35(12):1791–804.
60. Stape THS, Wik P, Mutluay MM, Al-Ani AAS, Tezvergil-Mutluay A. Selective dentin etching: A potential method to improve bonding effectiveness of universal adhesives. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials.* outubro de 2018;86:14–22.
61. Kharouf N, Rapp G, Mancino D, Hemmerlé J, Haikel Y, Reitzer F. Effect of etching the coronal dentin with the rubbing technique on the microtensile bond strength of a universal adhesive system. *Dent Med Probl.* 3 de dezembro de 2019;56(4):343–8.
62. Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: Aging and stability of the bonded interface. *Dental Materials.* janeiro de 2008;24(1):90–101.
63. Breschi L, Maravic T, Cunha SR, Comba A, Cadenaro M, Tjäderhane L, et al. Dentin bonding systems: From dentin collagen structure to bond preservation and clinical applications. *Dental Materials.* janeiro de 2018;34(1):78–96.
64. Frankenberger R, Pashley DH, Reich SM, Lohbauer U, Petschelt A, Tay FR. Characterisation of resin–dentine interfaces by compressive cyclic loading. *Biomaterials.* maio de 2005;26(14):2043–52.
65. Munck JD, Landuyt KV, Coutinho E, Poitevin A, Peumans M, Lambrechts P, et al. Micro-tensile bond strength of adhesives bonded to class-I cavity-bottom dentin after thermo-cycling. *Dental Materials.* novembro de 2005;21(11):999–1007.
66. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo Degradation of Resin-Dentin Bonds in Humans Over 1 to 3 Years. *J Dent Res.* junho de 2000;79(6):1385–91.
67. Miyazaki M, Sato M, Onose H, Moore BK. Influence of thermal cycling on dentin bond strength of two-step bonding systems. *Am J Dent.* junho de 1998;11(3):118–22.

68. Gale MS, Darvell BW. Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations. *Journal of Dentistry*. fevereiro de 1999;27(2):89–99.
69. Versluis A, Douglas WH, Cross M, Sakaguchi RL. Does an Incremental Filling Technique Reduce Polymerization Shrinkage Stresses? *J Dent Res*. março de 1996;75(3):871–8.
70. Duarte S, Phark JH, Varjão FM, Sadan A. Nanoleakage, ultramorphological characteristics, and microtensile bond strengths of a new low-shrinkage composite to dentin after artificial aging. *Dental Materials*. maio de 2009;25(5):589–600.
71. Armstrong S, Breschi L, Özcan M, Pfefferkorn F, Ferrari M, Van Meerbeek B. Academy of Dental Materials guidance on in vitro testing of dental composite bonding effectiveness to dentin/enamel using micro-tensile bond strength (μ TBS) approach. *Dental Materials*. fevereiro de 2017;33(2):133–43.
72. Perdigão J, Lambrechts P, Van Meerbeek B, Tomé ÂR, Vanherle G, Lopes AB. Morphological field emission-SEM study of the effect of six phosphoric acid etching agents on human dentin. *Dental Materials*. julho de 1996;12(4):262–71.
73. Drobac M, Stojanac I, Ramic B, Premovic M, Petrovic L. Micromorphological characterization of adhesive interface of sound dentin and total-etch and self-etch adhesives. *Med pregl*. 2015;68(1–2):10–6.
74. Taschner M, Kümmerling M, Lohbauer U, Breschi L, Petschelt A, Frankenberger R. Effect of Double-layer Application on Dentin Bond Durability of One-step Self-etch Adhesives. *Operative Dentistry*. 1 de julho de 2014;39(4):416–26.
75. Hume WR. Influence of dentine on the pulpward release of eugenol or acids from restorative materials. *J of Oral Rehabilitation*. julho de 1994;21(4):469–73.
76. Muñoz MA, Sezinando A, Luque-Martinez I, Szesz AL, Reis A, Loguercio AD, et al. Influence of a hydrophobic resin coating on the bonding efficacy of three universal adhesives. *Journal of Dentistry*. maio de 2014;42(5):595–602.
77. Bertassoni LE, Orgel JPR, Antipova O, Swain MV. The dentin organic matrix – limitations of restorative dentistry hidden on the nanometer scale. *Acta Biomaterialia*. julho de 2012;8(7):2419–33.
78. Lopes LDS, Malaquias P, Calazans FS, Reis A, Loguercio AD, Barceleiro MDO. Protocolo das possibilidades técnicas de aplicação dos sistemas adesivos universais: revisão de literatura com relato de caso. *Rev Bras Odontol*. 30 de junho de 2016;73(2):173.
79. Pashley DH. The effects of acid etching on the pulpodentin complex. *Oper Dent*. 1992;17(6):229–42.
80. Do Universal Adhesives Benefit from an Extra Bonding Layer? *The Journal of Adhesive Dentistry*. 12 de abril de 2019;21(2):117–32.
81. Chasqueira AF, Arantes-Oliveira S, Portugal J. Effect of Changes to the Manufacturer Application Techniques on the Shear Bond Strength of Simplified

- Dental Adhesives. *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*. maio de 2013;11(2):117–21.
82. Mine A, De Munck J, Cardoso MV, Van Landuyt KL, Poitevin A, Van Ende A, et al. Dentin-smear remains at self-etch adhesive interface. *Dental Materials*. outubro de 2014;30(10):1147–53.
83. Albuquerque M, Pegoraro M, Mattei G, Reis A, Loguercio AD. Effect of Double-application or the Application of a Hydrophobic Layer for Improved Efficacy of One-step Self-etch Systems in Enamel and Dentin. *Operative Dentistry*. 1 de setembro de 2008;33(5):564–70.
84. Effect of Multiple Coats of Ultra-mild All-in-One Adhesives on Bond Strength to Dentin Covered with Two Different Smear Layer Thicknesses. *The Journal of Adhesive Dentistry*. 15 de dezembro de 2011;13(6):507–16.

Anexos

Anexo 1

 EGAS MONIZ SCHOOL
of HEALTH & SCIENCE

Comissão de Ética EGAS MONIZ

Proc. Interno nº 1204
PLATAFORMA

Ex.mo Senhor
Martinho Aragão Pinto Zava

Monte de Caparica, 2 de março de 2023.

Ex.mo Senhor,

Em resposta ao Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado: **“Influência do protocolo de aplicação de um sistema adesivo universal na adesão à dentina após o envelhecimento artificial: in vitro**, foi aprovado.

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz



Professora Doutora Maria Fernanda de Mesquita

EGAS MONIZ – COOPERATIVA DE ENSINO SUPERIOR, CRL
Campus Universitário – Quinta da Granja – Monte de Caparica
2829-511 Caparica