



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**ANÁLISE DA INTERFACE ADESIVA FORMADA ENTRE
DENTINA ERODIDA E UM SISTEMA ADESIVO FUNCIONAL, NO
IMEDIATO E APÓS ENVELHECIMENTO**

Trabalho submetido por

Madalena de Castro Monteiro Belmar da Costa

para a obtenção do grau de **Mestre em Medicina Dentária**

setembro de 2021



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**ANÁLISE DA INTERFACE ADESIVA FORMADA ENTRE
DENTINA ERODIDA E UM SISTEMA ADESIVO FUNCIONAL, NO
IMEDIATO E APÓS ENVELHECIMENTO**

Trabalho submetido por

Madalena de Castro Monteiro Belmar da Costa

para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por

Prof. Doutora Ana Cristina Mano Azul

e coorientado por

Prof. Doutor António Sales Delgado

Mestre Tomás Amorim Afonso

setembro de 2021

Agradecimentos

À Prof. Doutora Ana Mano Azul, por todo o apoio, dedicação e empenho ao longo da realização deste trabalho. Obrigada por ser uma constante fonte de inspiração e motivação ao longo do curso. A sua boa disposição e sentido de humor tornou esta tarefa muito mais fácil e agradável.

Ao Prof. Doutor António Delgado, por quem tenho um orgulho imenso. Obrigada pela constante e incansável disponibilidade e apoio ao longo deste trabalho e da minha vida. Para além de um grande exemplo profissional, és e serás sempre para mim um exemplo de amizade.

Ao Mestre Tomás Amorim, por ser um grande impulsionador da minha motivação clínica e por fazer crescer o meu amor pela Medicina Dentária. Obrigada por todo o apoio e incentivo ao longo do curso.

À Prof. Doutora Ana Sofia Ramos, por todo o apoio e disponibilidade ao longo do processo laboratorial desta tese.

Ao Prof. João Rua, por toda a ajuda que me deu com os materiais na clínica. Obrigada pela disponibilidade e simpatia.

Ao Prof. Doutor Mário Polido, pela disponibilidade de todos os materiais necessários. Obrigada pela confiança e ajuda.

Ao IUEM e ao Prof. Doutor José João Mendes, pelos 5 anos neste instituto que posso chamar de minha segunda casa. Obrigada por todas as oportunidades.

Aos meus pais, 5 irmãos e ao António, por sempre acreditarem em mim e apoiarem todas as minhas decisões. Obrigada por serem, agora e para sempre, os meus maiores e mais importantes exemplos de vida.

Às minhas colegas de Box, Carolina e Mafalda, por estarem sempre lá para mim, nas coisas boas e nas coisas menos boas. Obrigada por serem um colo ao longo destes anos.

Aos meus colegas de box do coração, Sofia, Sebastião e Inês. Obrigada por me porem um sorriso na cara todos os dias.

Às minhas amigas dentistas Bela, Tere, Mar, Mat e Inês. Obrigada por terem aparecido na minha vida, pelo apoio e momentos inesquecíveis que passei convosco.

Às minhas amigas mais antigas, por me mostrarem que mesmo fora do Liceu Francês posso contar convosco para o resto da vida.

Resumo

Objetivos: Comparar a interface adesiva de um novo adesivo funcional em dentina erodida com uma estratégia *gold-standard*, com recurso a testes de microtração (μ TBS), nanodureza (GPa) e módulo de elasticidade reduzido (GPa).

Materiais e Métodos: Foram distribuídos aleatoriamente por 4 grupos experimentais, 44 molares permanentes humanos hígidos, todos sujeitos a erosão artificial com ácido cítrico (0.05M; 3x por dia, 5 dias). Os grupos incluíram o controlo Clearfil SE Bond 2 (CFSE) e um grupo experimental Clearfil SE Protect (CFP), em dois tempos diferentes – ao imediato (24h) e a longo prazo (3 meses – 3M). As amostras foram seccionadas em microespécimes para μ TBS ($n=8$) e em fatias transversais de 2 mm para os ensaios de nanoindentação ($n=3$). Os grupos CFSE_3M e CFP_3M foram armazenados em saliva artificial. A análise estatística contemplou o teste ANOVA *two-way* para os resultados de μ TBS, enquanto que os resultados de dureza/módulo de elasticidade foram analisados com recurso a um teste de *Kruskal-Wallis* (nível de significância de 5%, SPSS v.27.0).

Resultados: Embora não se tenham verificado diferenças significativas nos valores de μ TBS entre os grupos testados, tanto a curto (24 h) como longo prazo (3 meses) ($p>0,05$), foi observada uma tendência crescente no grupo CFP_3M nos testes de microtração. Em relação aos testes de dureza, não foram observadas diferenças na camada híbrida, entre as duas variáveis ($p=0.05$), enquanto o módulo de elasticidade reduzido aumentou no grupo CFP_3M comparado com CFP_24.

Conclusão: O adesivo CFP demonstrou resistência adesiva e propriedades mecânicas semelhantes ao CFSE, com potencial de reforço e remineralização da interface erodida. Esta estratégia poderá ser promissora a longo prazo.

Palavras-chave: adesivo funcional, dentina erodida, propriedades mecânicas, resistência adesiva.

Abstract

Introduction: To compare the adhesive interface in eroded dentin, formed by a functional dental adhesive and a gold standard strategy, by testing microtensile bond strength (μ TBS), hardness and elastic modulus.

Materials and Methods: Permanent sound human molars were randomly allocated to 4 experimental groups, all subject to artificial erosion (0.05 M citric acid; 3x daily, 5 days). Groups included control Clearfil SE Bond 2 (CFSE) and experimental group Clearfil SE Protect (CFP), in two different times - immediate (24h) and long-term (3 months – 3M). Samples were sectioned into microspecimens for μ TBS testing ($n=8$) and into 2-mm thick slabs for nanoindentation assays ($n=3$). Groups CFSE_3M and CFP_3M were stored in artificial saliva. The statistical analysis included two-way ANOVA for μ TBS results, while hardness/modulus were analyzed using *Kruskal-Wallis* H Test (significance level of 5%; SPSS v.27.0).

Results: Although there were no significant differences in μ TBS values, between adhesives or at different points in time – both short (24 h) and long term (3 months) - a positive trend, with μ TBS rising in the CFP_3M group was observed ($p>0.05$). Regarding hardness, no specific differences were seen in the hybrid layer, between the two variables ($p>0.05$), while the reduced elastic modulus rose in CFP_3M compared to 24h.

Conclusion: Thus, CFP shows similar bond strength results and nanomechanical properties to CFSE in eroded dentin, although it may comprise promising long-term results.

Key words: eroded dentin, functional adhesive, mechanical properties, microtensile bond strength.

Índice Geral

I. INTRODUÇÃO	13
1. COMPOSIÇÃO E ESTRUTURA DOS SUBSTRATOS DENTÁRIOS.....	13
1.1 Esmalte.....	14
1.2 Dentina.....	15
2. ADESÃO E SISTEMAS ADESIVOS.....	16
2.1 Sistemas adesivos self-etch ou etch-and-dry.....	17
3. EROSÃO DENTÁRIA.....	22
3.1 Etiologia.....	22
3.2 Resposta dos substratos aos fenómenos erosivos.....	23
3.3 Adesão ao Substrato Erodido.....	24
4. ESTUDOS E MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA INTERFACE ADESIVA <i>IN VITRO</i>	27
4.1 Norma de orientação da Academy of Dental Materials (ADM).....	27
4.2 Resistência adesiva à microtração (μ TBS).....	28
4.3 Determinação de dureza e módulo de elasticidade de Young à nanoescala....	28
5. ENQUADRAMENTO.....	30
II. OBJETIVOS DO ESTUDO	33
III. HIPÓTESES DO ESTUDO	33
IV. MATERIAIS E MÉTODOS	35
1. AMOSTRA DE ESTUDO.....	35
2. MATERIAIS.....	36
3. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	38
3.1 Corte e exposição dentinária.....	38
3.2 Ciclos de desmineralização-remineralização na dentina.....	39
3.3 Protocolo adesivo e restauração das amostras.....	41
3.4 Teste de resistência adesiva à microtração (μ TBS).....	50
3.5 Teste das propriedades nanomecânicas: dureza e módulo reduzido de Young	53
4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	54
V. RESULTADOS	57
1. RESISTÊNCIA ADESIVA À MICROTRAÇÃO E ANÁLISE FRACTOGRÁFICA.....	57

2. DUREZA E MÓDULO REDUZIDO DE <i>YOUNG</i>	59
2.1 Mapas de dureza e módulo reduzido de Young a partir de matrizes programadas	60
VI. DISCUSSÃO	63
VII. CONCLUSÃO	75
VII.1. RELEVÂNCIA CLÍNICA	75
VIII. PERSPETIVAS FUTURAS.....	77
IX. BIBLIOGRAFIA	79

Índice de Tabelas

<i>Tabela 1. Materiais utilizados – composição e especificações técnicas.</i>	<i>36</i>
<i>Tabela 2. Protocolo erosivo das amostras utilizado no estudo, passo a passo.</i>	<i>40</i>
<i>Tabela 3. Preparação do Grupo CFSE_24 e CFSE_3M – Clearfil SE Bond 2TM.</i>	<i>44</i>
<i>Tabela 4. Preparação do Grupo CFP_24 e CFP_3M– Clearfil SE ProtectTM.</i>	<i>44</i>
<i>Tabela 5. Instruções do fabricante da Resina Composta Ceram.x SpectraTM ST.</i>	<i>45</i>
<i>Tabela 6. Resultados do teste ANOVA two-way, considerando os seguintes fatores: grupo experimental e tempo de armazenamento para a variável dependente, a resistência à microtração.</i>	<i>58</i>
<i>Tabela 7. Sumário da análise de fratura, demonstrando os tipos de fratura encontrados em cada grupo experimental (em %). A sigla PTF representa as falhas pré-teste – palitos que fraturaram previamente à concretização do teste de resistência adesiva.</i>	<i>58</i>
<i>Tabela 8. Médias (em GPa) correspondentes à nanodureza (H) e módulo de Young reduzido (E) e desvio padrão indicado entre parêntesis, consoante o adesivo (CFSE, CFP) e tempo de armazenamento (imediate e 3 meses de envelhecimento). As letras maiúsculas representam diferença significativa dentro da mesma coluna, enquanto que as letras minúsculas indicam diferença significativa dentro da mesma linha (Dunn-Bonferroni, $p < 0.05$; $n=3$).</i>	<i>59</i>

Índice de Figuras

<i>Figura 1. Estrutura química dos monómeros funcionais 10-MDP e 12-MDPB</i>	20
<i>Figura 2. Imagem exemplificativa da amostra</i>	35
<i>Figura 3. Micrótopo de tecidos duros - Accutom-50, Struers A/S, Ballerup, Denmark</i>	38
<i>Figura 4. Dentina coronária média exposta</i>	38
<i>Figura 5. Amostras sujeitas ao protocolo erosivo</i>	40
<i>Figura 6. Simulação da smear layer</i>	41
<i>Figura 7. Máquina polidora LabolPol-4 (Struers A/S, Ballerup, Denmark)</i>	41
<i>Figura 8. Esquema representativo dos grupos experimentais, da sua divisão e dos ensaios realizados, ao imediato, e passado 3 meses de envelhecimento, em água destilada</i>	43
<i>Figura 9. - Protocolo de preparação dos grupos CFSE_3M e CFP_3M. Imagem mostra os seguintes passos: 1- Amostra seccionada, lavada e montada com um porta-matriz universal (Montellano, Lisboa, Portugal) e uma matriz metálica (Montellano, Lisboa, Portugal); 2- Iniciação do processo adesivo com aplicação de primer; 3 - Secagem recomendada pelo fabricante com leve jato de ar; 4 - Aplicação de bond; 5 - Secagem com leve jato de ar; 6- Fotopolimerização do adesivo in situ (20 segundos, 700 mW/cm²); 7- Aplicação da resina composta por técnica de layering; 8 - Fotopolimerização da resina composta (20 segundos, 700 mW/cm²); 9 - Amostra final restaurada com 6 mm de resina composta; 10 – Armazenamento durante três meses</i>	45
<i>Figura 10. – Fotopolimerizador COXO modelo DB686 (Froshan COXO Medical Instruments, Guangdong, China)</i>	46
<i>Figura 11. Remoção dos tecidos da câmara pulpar</i>	46
<i>Figura 12. Palitos obtidos após secção nas direções X e Y</i>	47
<i>Figura 13. Estufa (Memmert INE 400, Scwabach, Germany)</i>	47
<i>Figura 14. Amostra fixa em resina epóxi (Epofix Kit, Struers APS, Pederstrupvej, Denmark) e cortada transversalmente</i>	48
<i>Figura 15. Sistemas de Acabamento e Polimento (superior: Henry Schein, CadCam lab finishing and polishing Kit HP 900-9510, UK; inferior: Diashine extraoral finishing and polishing system, 3M™ ESPE™ Lava™ Ultimate, St.Paul, MN, USA)</i>	49
<i>Figura 16. Imagem comparativa das secções prévias ao polimento (esquerda) e posteriores ao polimento (direita)</i>	49

<i>Figura 17. Microscópio utilizado para controlo de polimento (Carl Zeiss Meditec AG, Jena, Germany).</i>	50
<i>Figura 18. Craveira digital usada no estudo, Storm Digital Caliper (CDC/N 0 150 mm, Pontoglio, BS, Itália).</i>	50
<i>Figura 19. Máquina de testes universal (Shimadzu, Autograph AG-IS, Tokyo, Japan).</i>	53
<i>Figura 20. Palito após ter sido sujeito ao teste de microtração.</i>	50
<i>Figura 21. Microscópio ótico (EMZ-8TR, MejiTechno Co., Ltd., Saitama, Japan) e figura representativa do tipo de falha: 1. Falha adesiva; 2. Falha coesiva de resina; 3. Falha coesiva de dentina; 4. Falha mista.</i>	53
<i>Figura 22. Nanoindentador equipado de um indentador diamantado de Berkovich (NanoTest, Micro Materials Limited, Wrexham, UK).</i>	54
<i>Figura 23. Gráfico de barras comparativo dos dois grupos experimentais em tempos diferentes de armazenamento (imediate e após 3 meses de envelhecimento). Não foram obtidas diferenças significativas entre os dois grupos experimentais nem entre os tempos (ANOVA two-way, $p=0.087$; $n=8$). As barras de erro representam erros padrão dos valores da média (SE).</i>	57
<i>Figura 24. Mapas de dureza e módulo de Young reduzido (GPa), evidenciando a variação em intensidade de cada variável, numa área, mapeando a interface resina-dentina, após ter sido restaurada e armazenada durante 24h em água desionizada. A dentina pode ser observada em baixo, facilmente identificável pelo módulo de elasticidade elevado, enquanto que a camada híbrida se encontra imediatamente em cima desta camada (os mapas são representativos de uma só amostra). A distância entre pontos é medida em μm.</i>	60
<i>Figura 25. Mapas de dureza e módulo de Young reduzido (GPa), evidenciando a variação em intensidade de cada variável, ao longo de uma área, mapeando a interface resina-dentina, após ter sido restaurada e armazenada durante 3 meses em saliva artificial. Uma aleatoriedade na variação dos valores de dureza no grupo CFSE pode ser observada, enquanto que o módulo reduzido demonstra características evidentes de dentina na camada inferior (os mapas são representativos de uma amostra aleatória). A distância entre pontos é medida em μm.</i>	61

Lista de Siglas

4-META – 4-metacriloxietil-trimelitato-anidrido

10-MDP – 10-Metacriloiloxidecil dihidrogenofosfato

ABRZ – *Acid-Base Resistant Zone*

AD – adesão-descalcificação

ANOVA – *Analysis of variance*

Bis-GMA – bisfenol-A glicidil dimetacrilato

Bis-EMA – bisfenol-A dimetacrilato etoxilado

CHX – clorexidina

CFP – Clearfil SE TM Protect

CFSE – Clearfil SE TM Bond 2

HEMA – 2-hidroxietil metacrilato

KW – *Kruskal-Wallis*

MDPB – 12-metacriloiloxidecilpiridínio brometo

MMP – metaloproteinases da matriz

QAC – amónia quaternária polimerizável

TEGDMA – dimetacrilato de trietileno glicol

UDMA – dimetacrilato de uretano

I. Introdução

Atualmente os tratamentos restauradores baseiam-se em filosofias mais conservadoras, minimamente invasivas, sem, contudo, comprometer o seu sucesso (Laske et al., 2019). Diversos fenómenos cada vez mais prevalentes, levam a um desgaste e conseqüente perda de estrutura dentária. Desta forma, existe uma necessidade acrescida relativamente à implementação destes tratamentos, focados na preservação do remanescente dentário e prevenção contra desgaste futuro. Torna-se assim de extrema importância, investir em ensaios laboratoriais focados em testar não só novas técnicas, como também materiais experimentais, que promovam o sucesso destes tratamentos.

1. Composição e Estrutura dos Substratos Dentários

O sucesso da dentisteria operatória é determinado, em grande parte, pela aquisição de conhecimentos biológicos e químicos das estruturas que compõem o dente. Só assim se torna possível compreender os processos biológicos, patológicos e de degradação, inerentes à cavidade oral e, conseqüentemente adaptar os diversos procedimentos à situação clínica que nos é proposta (Neel et al., 2016).

Tanto o esmalte como a dentina são tecidos altamente mineralizados, compostos por uma matriz organizada cuja unidade fundamental são os cristais de hidroxiapatite carbonatados (Bartlett, 2013; Low et al., 2008; Taube et al., 2010). No que toca às diferenças na composição e estrutura, o esmalte é composto por 96% em peso de cristais de hidroxiapatite e os restantes 4% por água e conteúdo orgânico residual (Taube et al., 2010). A componente orgânica é por sua vez constituída por proteínas importantes no que toca a guiar a mineralização, mas incapazes de formar colagénio, tais como as enamelinas e as amelogeninas (Bartlett, 2013; Low et al., 2008; Taube et al., 2010).

À semelhança do esmalte, a matéria inorgânica da dentina é composta por cristais de hidroxiapatite, embora menos organizados e em menor quantidade, sendo o seu conteúdo orgânico, na forma da sua matriz extracelular, o mais relevante neste substrato (Bartlett, 2013; Goldberg et al., 2011; Low et al., 2008). As diferenças entre os dois substratos

levam assim a que a dentina represente um substrato desafiante em termos de adesão (Amsler et al., 2015; Spencer et al., 2010; Van Meerbeek et al., 2020). Apesar das semelhanças, o esmalte e a dentina apresentam capacidades de regeneração diferentes em resposta às diversas agressões a que são sujeitos (Low et al., 2008; Neel et al., 2016). Estas incluem as lesões de cárie, a abrasão, a atrição e ainda a erosão (Bartlett & O'Toole, 2019).

1.1 Esmalte

O esmalte, sendo a estrutura externa do dente, providencia a dureza, protegendo as suas estruturas subjacentes – a dentina e a polpa (Bartlett, 2013; Low et al., 2008; Taube et al., 2010). Representa também um tecido com um elevado módulo de elasticidade e elevada resistência às forças de compressão. No entanto, o esmalte dispõe não só de uma fraca resiliência assim como de uma fraca resistência às forças de tração, apresentando-se como um material frágil, com uma capacidade de deformação plástica limitada e uma maior propensão à propagação de fraturas (Cuy et al., 2002). Desta forma, as estruturas que o esmalte envolve demonstram ser essenciais na resistência às forças mastigatórias. Quimicamente constitui um tecido altamente mineralizado, formado a partir de ameloblastos, células que se degeneram após a formação do cristal (Bartlett, 2013). É por esta razão que, uma vez lesado, o esmalte não é passível de ser regenerado. A nível estrutural, os elementos cristalinos encontram-se organizados e orientados distintamente, de forma a potencializar a força e resistência dos prismas de esmalte (Low et al., 2008; Taube et al., 2010). Esta organização permite por sua vez, resistir melhor tanto às forças mastigatórias como ao desgaste químico, facilitado pelo metabolismo bacteriano, ou fatores intrínsecos ou extrínsecos a que o mesmo é sujeito (Cuy et al., 2002; Taube et al., 2010).

Apesar da sua estrutura mineralizada e densa, o esmalte atua como uma membrana semipermeável, capaz de realizar trocas iónicas (Taube et al., 2010). Assim, iões como o flúor conseguem substituir o grupo hidroxilo, presente na superfície dos cristais de hidroxiapatite, levando à conseqüente diminuição da solubilidade destes cristais (Neel et al., 2016; Taube et al., 2010). De facto, os

componentes carbonatados do cristal são mais suscetíveis aos ácidos que componentes fluoretados e, portanto, mais solúveis (Neel et al., 2016). Sendo a manutenção e preservação do esmalte fundamental para a integridade da estrutura dentária, as trocas iônicas como a mencionada acima são de elevada importância. Na verdade, ao promovê-las podemos atrasar o processo de desmineralização do esmalte ou mesmo fomentar a sua remineralização (Neel et al., 2016; Taube et al., 2010).

1.2 Dentina

Se o esmalte não fosse suportado por um tecido mais resiliente e elástico, fraturar-se-ia com facilidade face às forças da mastigação e *stress* a que é exposto na cavidade oral. A dentina constitui assim um tecido que protege o esmalte e compensa a sua dureza, resistindo às forças mastigatórias devido a uma menor quantidade de tecido mineralizado (Brauer et al., 2011; Kinney et al., 1996). De facto, por apresentar um módulo de elasticidade diminuído e uma elevada resistência às forças de compressão e tração representa uma estrutura flexível, resistente e resiliente, capaz de sustentar e reforçar o esmalte (Bartlett, 2013; Brauer et al., 2011; Goldberg et al., 2011; Kinney et al., 1996). Embora mineralizada, oferece uma percentagem de matéria inorgânica menor, quando comparada à do esmalte, representando apenas 70% em peso da sua estrutura. No entanto, em relação à componente orgânica, esta é constituída por uma extensa rede de colagénio, maioritariamente composta de fibras de tipo I, representando cerca de 20% do total (Goldberg et al., 2011). Os restantes 10% são dados pela existência de água, numa quantidade muito superior em relação ao esmalte (Brauer et al., 2011; Goldberg et al., 2011).

Por outro lado, a dentina destaca-se pela existência de túbulos dentinários, que atravessam a sua estrutura (Goldberg et al., 2011). Esta organiza-se assim à volta dos túbulos que a atravessam, dando espaço para a dentina peri-tubular que envolve os túbulos e a dentina inter-tubular que se encontra entre eles. O núcleo celular encontra-se na polpa, ao passo que os prolongamentos se encontram na dentina (Brauer et al., 2011; Low et al., 2008). Os prolongamentos dos odontoblastos relacionam-se intimamente com o

complexo pulpo-dentinário e são responsáveis pela vitalidade da dentina. Através desta constante comunicação, quando sujeita a um fator de agressão, a polpa reage de forma a estimular a formação de uma dentina terciária, reparadora ou reacional (Torabinejad et al., 2018). É por esta razão que a dentina se torna um tecido sensitivo e com capacidade regeneradora (Low et al., 2008; Torabinejad et al., 2018). Assim, quando comparada ao esmalte, a dentina oferece potencial regenerador (Neel et al., 2016).

2. Adesão e Sistemas Adesivos

As técnicas restauradoras modernas têm tido o seu principal foco na conservação da estrutura dentária e como tal, a correta utilização dos sistemas adesivos torna-se fundamental (Peumans et al., 2014; Van Meerbeek et al., 2020).

A adesão ao esmalte é tida na literatura como a que apresenta o grau mais elevado de confiança e longevidade (Amsler et al., 2015), concretizada através da desmineralização da estrutura e consequente infiltração e polimerização *in situ* da resina na superfície rugosa e nas microporosidades criadas, após dissolução cristalina. Uma adesão fundamentalmente micromecânica é chave neste substrato (Pashley et al., 2011; Van Meerbeek et al., 2020).

No entanto, a adesão à dentina demonstra-se particularmente desafiante. Na realidade, a estrutura dentinária não é homogénea e divide-se como supramencionado, em matéria orgânica e inorgânica (Amsler et al., 2015). A quantidade elevada de matéria orgânica presente na dentina e consequente preservação da sua hidratação residual, surgem então como obstáculos no âmbito da adesão (Van Meerbeek et al., 2020). Enquanto no esmalte se pretende obter uma desmineralização e desidratação completa para permitir o *interlocking* ou interligação da resina polimerizada (Fusayama, 1992; Peumans et al., 2014), na dentina torna-se crucial manter a rede de colagénio hidratada, expandida e com uma energia de superfície favorável à infiltração monomérica, para que se forme a camada híbrida (Nakabayashi et al., 1991; Spencer et al., 2010). No entanto, se a matéria orgânica apresentar água em

excesso, podem ocorrer fenómenos como a estimulação de metaloproteínases da matriz (MMPs) capazes de a degradar, e subsequente ataque hidrolítico da resina (Hashimoto et al., 2000; Montagner et al., 2014). Por outro lado, uma hidratação excessiva desta rede de colagénio ainda levará a uma infiltração incompleta da resina, uma criação de espaços e canais de água, um grau de conversão dos monómeros insuficiente e ainda a fenómenos de plasticização (Frassetto et al., 2016; Spencer et al., 2010; Zhang et al., 2020).

Desta forma, na dentina é preconizada a utilização de um *primer*, incluído ou não no adesivo, que conta com solventes na sua constituição (água, álcool ou acetona). O *primer* permite que se mantenha a hidratação necessária da rede colagénio enquanto remove os excessos de água. Por outro lado, esta hidratação ainda contribui para o estabelecimento de um meio favorável à ionização e conseqüente infiltração dos monómeros acídicos, caso existentes na sua composição (Giannini et al., 2015).

2.1 Sistemas adesivos *self-etch* ou *etch-and-dry*

Atualmente, os sistemas adesivos interagem com o substrato removendo a *smear layer* (técnica de *etch-and-rinse*) (Pashley et al., 2011) ou pelo contrário, dissolvendo-a parcialmente e incorporando-a na camada híbrida (técnica de *etch-and-dry* ou *self-etch*) (Van Meerbeek et al., 2011). Esta camada, localizada superiormente à dentina mineralizada, é composta por matéria orgânica, cristais de hidroxiapatite residuais, solventes e monómeros de resina. A camada híbrida e sua estabilidade deverão ser o foco principal na execução da técnica adesiva (Nakabayashi et al., 1991). De facto, define-se que a camada híbrida ideal seria caracterizada por uma rede tridimensional entre o polímero e o colagénio, capaz de favorecer uma ligação contínua, estável e duradoura entre o adesivo e a dentina. Embora o foco dos estudos nas últimas décadas esteja direcionado para este tema, a camada híbrida é tida, ainda, como o elo mais fraco do complexo adesivo (Spencer et al., 2010).

De forma a contribuir para a criação e estabilidade desta camada híbrida, surgem os sistemas adesivos *self-etch* que dispensam a utilização individual de ácido ortofosfórico, evitando uma desmineralização e desidratação exagerada, desaconselhada em dentina pela instabilidade que criam (Amsler et al., 2015). Estes sistemas adesivos visam desmineralizar a estrutura com recurso a *primers* acídicos com um pKa - constante de dissociação - ligeiramente superior quando comparado ao do ácido ortofosfórico (pKa = 2.0) (Salz et al., 2005), permitindo a parcial dissolução dos cristais envolvendo o colagénio, enquanto garante a sua integridade, preservando a receção dos monómeros subsequentes (Giannini et al., 2015; Spencer et al., 2010; Van Meerbeek et al., 2011). Esta estratégia adesiva tem demonstrado ser ao longo dos anos, o *gold-standard* da adesão à dentina no que toca a estabilidade (Van Meerbeek et al., 2011, 2020).

Ao contrário dos adesivos iniciais *etch-and-rinse*, os adesivos *etch-and-dry* contam para além da adesão micromecânica com uma adesão química. De facto, a presença de monómeros acídicos funcionais permite uma interação química com as diferentes componentes dos cristais de hidroxiapatite, desempenhando diferentes funções (Nakabayashi et al., 1982). Estes monómeros são compostos por grupos acídicos carboxilo ou fosfato (10-metacriloiloxidecil dihidrogenofosfato – 10-MDP; 12-brometo de metacriloiloxidodecilpiridínio – MDPB; 4-metacriloxietil-trimelitato-anidrido – 4-META), que, atuando como surfactantes, permitem a desmineralização, infiltração, e estabelecimento de ligações iónicas ao cálcio proveniente da hidroxiapatite (Giannini et al., 2015; Spencer et al., 2010; Van Landuyt et al., 2008; Yoshida et al., 2004).

2.1.1 Clearfil SE Bond e Clearfil SE Protect

A primeira marca a desenvolver e patentear o monómero 10-MDP (Figura 1) foi a *Kuraray* com o adesivo Clearfil SE Bond (Kuraray, 1999). Este monómero funcional presente no *primer* acídico e *bond* do sistema, permite a formação de uma ligação química forte e estável com o cálcio presente nos

cristais de hidroxiapatite residuais (Giannini et al., 2015; Nakabayashi et al., 1982; Matsui et al., 2015; Van Landuyt et al., 2008), de acordo com o conceito de “adesão-descalcificação” (AD) (Fukeygawa et al., 2006; Yoshida et al., 2004). De facto, quando comparada à ligação química de outros monómeros funcionais com a componente inorgânica, o potencial de ligação do 10-MDP à hidroxiapatite mostra-se significativamente superior (Yoshida et al., 2004). Por outro lado, os resultados parecem ser quase imediatos, contribuindo para o interesse clínico desta estratégia. Autores como Yoshihara et al., (2011) e Yoshida et al., (2004) comprovaram por um lado, a capacidade de desmineralização do 10-MDP ($pK_a = 2.2$) (Salz et al., 2005) em comparação com outros monómeros funcionais. Por outro lado, estes estudos demonstraram que o sal formado entre o 10-MDP-cálcio em água é dificilmente solúvel e contribui assim para melhores resultados de resistência adesiva a longo-prazo (Yoshida et al., 2004; Yoshihara et al., 2011). Adicionalmente, cada monómero de 10-MDP é capaz de formar uma multi-camada, num arranjo organizado, na ordem dos nanómetros, mantida estável pelos sais de cálcio. A durabilidade da interface adesiva formada na presença do monómero 10-MDP tem assim, vindo a ser atribuída a este fenómeno de *nanolayering* (Fukeygawa et al., 2006; Tian et al., 2016; Yoshida et al., 2004; Yoshihara et al., 2011). Esta forte afinidade química aliada à formação de uma camada estável, favorece então a eficácia e longevidade dos sistemas adesivos que beneficiam deste monómero funcional (Peumans et al., 2010; Yoshida et al., 2004).

O Clearfil SE Bond (Kuraray, 1999) é um adesivo *self-etch* de dois passos que conta com um *primer* ácido *mild* e os resultados *in-vitro* salientam a sua resistência à microinfiltração e estabilidade hidrolítica. Desta forma, apresenta resultados de resistência adesiva elevados e comparáveis com os resultados obtidos com sistemas adesivos do tipo *etch-and-rinse*, provando ser o *gold-standard* dos *self-etch* (Matsui et al., 2015; Van Meerbeek et al., 2011).

Mais recentemente, a Kuraray lançou outro adesivo funcional, o Clearfil SE Protect (Kuraray, 2014). Este adesivo, de acordo com afirmações do fabricante, tem as mesmas propriedades e benefícios do Clearfil SE Bond (Kuraray, 1999), uma vez que a composição é idêntica. No entanto, foi adicionado ao *primer* um

monómero funcional, o MDPB (Figura 1). Trata-se de um monómero de metacrilato de amônio quaternário, polimerizável, com potencial capacidade antibacteriana que, na presença de outros monómeros, parece permanecer imobilizado, permitindo a eventual inibição do crescimento bacteriano e das MMPs, sem comprometimento da resistência adesiva na interface (Frassetto et al., 2016; Hashimoto et al., 2018; Imazato et al., 1997). Por outro lado, este adesivo tem na sua composição partículas de carga reativas, que parecem beneficiar de uma libertação sustentada de flúor (Kuraray, 2014). Esta libertação de flúor torna este adesivo capaz de remineralizar a superfície com a qual contacta, promovendo a formação de uma camada denominada de “super dentina”, uma zona de resistência ácido-base, denominada ABRZ (*acid-base resistant zone*) e já descrita experimentalmente (Nikaido et al., 2011).

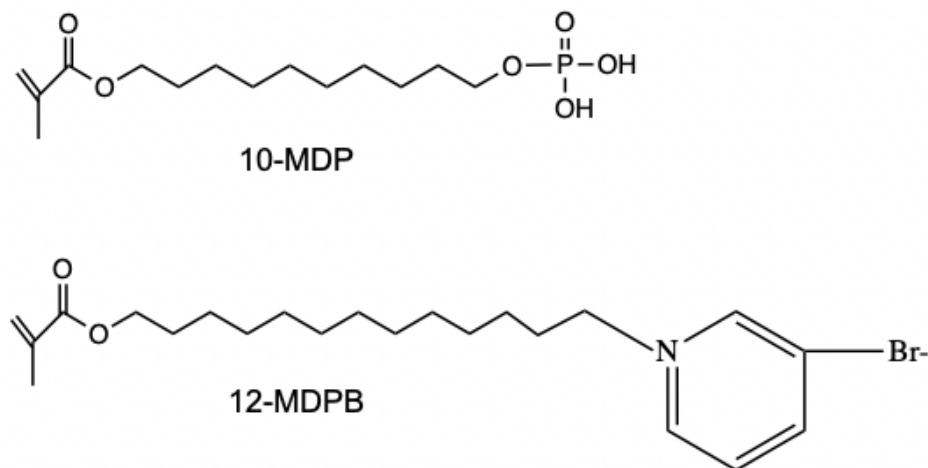


Figura 1. Estrutura química dos monómeros funcionais 10-MDP e 12-MDPB

2.1.2 Camada ou Zona de Resistência Ácido-Base (ABRZ)

A implementação de compostos funcionais nos adesivos, capazes de garantir uma ação regeneradora e remineralizadora representa o foco atual relativamente à investigação laboratorial na área da adesão dentária (Giannini et al., 2015). Fenómenos como o desgaste dentário ao longo do tempo, são capazes de alterar a estrutura dentária, por vezes irreversivelmente (Bartlett &

O'Toole, 2019). Desta forma e tendo em conta a prevalência deste fenómeno, é importante adotar estratégias reabilitadoras no sentido de proteger ao máximo estes tecidos.

Uma zona de resistência ácido-base (ABRZ), subjacente à camada híbrida e formada por sistemas adesivos do tipo *self-etch*, tem sido descrita. Esta camada, estimulada através da libertação contínua de flúor, tem vindo a demonstrar resultados promissores (Inoue et al., 2006; Nikaido et al., 2009, 2011). De facto, enquanto a dentina hígida apresentaria capacidade limitada de reagir contra uma lesão de cárie primária ou secundária, a zona ABRZ constituiria uma dentina cuja camada híbrida é reforçada (Waidyasekera et al., 2009). Isto possibilitará que esta seja mais resistente à dissolução acídica futura, quer por cárie, quer por hábitos erosivos por parte do paciente (Inoue et al., 2005). Por esta razão, é apelidada de “super dentina” (Nikaido et al., 2011).

O adesivo Clearfil SE Protect (Kuraray, 2014), conta na sua constituição com uma partícula de fluoreto de sódio patenteada, encapsulada e passível de ser libertada a longo prazo, sem em contrapartida comprometer a integridade, viabilidade e resistência adesiva; contudo, os estudos ainda são escassos (Imazato et al., 2006; Muratovska et al., 2018). Deste modo, o adesivo é capaz de formar esta camada ABRZ na interface entre os monómeros de resina e a dentina, camada que não é formada na presença de adesivos do tipo *etch-and-rinse* sem reatividade (Hashimoto et al., 2018).

Sendo que a degradação hidrolítica da camada híbrida é um conceito bem definido e que atualmente representa um dos maiores desafios da dentisteria adesiva, a formação de uma possível camada ABRZ constituiria uma solução promissora para combater este obstáculo (Nikaido et al., 2011). O Clearfil SE Protect (Kuraray, 2014), parece então reunir as componentes necessárias para criar esta dentina reforçada, potencialmente protetora de fenómenos erosivos, tornando-se num adesivo muito relevante de estudar neste substrato (Shinohara et al., 2006).

3. Erosão Dentária

A erosão do esmalte e da dentina apresenta-se como um desafio complexo e crescente no âmbito da Medicina Dentária (Carvalho et al., 2015). Segundo alguns autores (Bartlett et al., 2013; Bartlett & O'Toole, 2019), a prevalência da erosão dentária é elevada, estando presente em aproximadamente 30% da população, e afetando predominantemente o sexo masculino.

Embora a erosão dentária tenda a aumentar com a idade, atualmente verificamos um aumento de fenómenos erosivos na população infantil e adolescente, dificultando a gestão e planeamento da situação (Carvalho et al., 2015; Loomans et al., 2017). A erosão dentária patológica distingue-se da erosão dentária fisiológica devido ao facto de ser comum em idades onde o fenómeno não seria esperado e apresentado uma sintomatologia mais acentuada. Quando a erosão dentária é grave, caracteriza-se por uma exposição dentinária e perda substancial de tecidos mineralizados (Loomans et al., 2017).

3.1 Etiologia

A erosão é descrita na literatura como uma lesão progressiva não originada por cárie dentária, cuja etiologia remonta à dissolução dos tecidos mineralizados dentários por ácidos, que não são subprodutos bacterianos (Viana et al., 2020). A dissolução progressiva resulta no enfraquecimento do esmalte e aumento da suscetibilidade à abrasão ou atrição, permanecendo, ainda assim, remineralizável (Wang et al., 2014). Desta forma, a origem do fenómeno erosivo tende a ser multifatorial, coexistindo a maioria das vezes com desgaste por abrasão e atrição (Lussi & Carvalho, 2014; Viana et al., 2020). A severidade da perda estrutural encontra-se diretamente relacionada com o tempo, a frequência, a concentração e o método de exposição ao agente erosivo (Carvalho et al., 2015; Loomans et al., 2017).

A erosão dentária resulta de fatores intrínsecos ou fatores extrínsecos que podem ou não estar correlacionados (Loomans et al., 2017). O ácido clorídrico presente na cavidade oral em doenças como o refluxo gastro-esofágico ou a bulimia, constituem causas intrínsecas da erosão dentária (Bartlett & O'Toole, 2019; Carvalho et al., 2015). Por outro lado, hábitos alimentares ou de higiene oral, medicação e fatores nutricionais ou ocupacionais, são capazes de desenvolver uma erosão extrínseca. Dependendo da

etiologia, as lesões adotam uma morfologia e localização diferentes que requerem ainda tratamentos e abordagens multidisciplinares (Carvalho et al., 2015). Assim, torna-se indispensável um diagnóstico correto e preciso da erosão dentária, de forma a melhorar a qualidade do tratamento (Viana et al., 2020).

3.2 Resposta dos substratos aos fenómenos erosivos

Os substratos dentários sofrem alterações irreversíveis e por vezes graves quando expostos a fenómenos de desgaste químico ou mecânico, nomeadamente a erosão (Viana et al., 2020). Numa primeira instância, existe uma dissolução catalisada por ácidos extrínsecos ou intrínsecos sobre o tecido externo e com maior conteúdo mineral - o esmalte (Deari et al., 2017; Zimmerli et al., 2012). Tipicamente, ocorre uma alteração da superfície provocada pela desmineralização dos cristais presentes na estrutura deste substrato. Os tecidos são desgastados na ordem dos micrómetros. No entanto, a camada afetada, altamente vulnerável, pode atingir uma espessura de 0,2 a 3 μm (Lussi & Carvalho 2014). Deste modo, os tecidos subjacentes são também afetados e tornam-se suscetíveis a fenómenos de desgaste mecânico (Carvalho et al., 2015). De facto, esta camada de esmalte é fisicamente instável e frágil. É também visualmente brilhante, lisa e livre de placa bacteriana (Loomans et al., 2017). Em circunstâncias fisiológicas, existe um equilíbrio dinâmico entre a desmineralização e a remineralização do esmalte, liderado pela capacidade tampão da saliva. Contudo, quando existe uma exposição prolongada e consequente alteração abrupta neste equilíbrio, a dissolução do esmalte é favorecida, tornando-o incapaz de se regenerar e afetando consequentemente a dentina subjacente (Viana et al., 2020).

Uma vez que apresenta cristais de hidroxiapatite mais pequenos, em menor quantidade e com maior percentagem de iões de carboxilo, quando comparada ao esmalte, a dentina é uma estrutura mais suscetível ao desgaste e pode ser erodida a um pH mais elevado (Frattes et al., 2017). Quando a dentina é atingida pelo ácido, microalterações de grande impacto ocorrem. De forma irregular e aleatória, é possível encontrar-se material cristalino proveniente do desgaste no interior dos túbulos dentinários (Tay & Pashley, 2004). Nas camadas mais superficiais de dentina afetada pela erosão, podemos verificar que estes mesmos túbulos se apresentam ocluídos. Nesta superfície, podemos ainda encontrar uma camada hipermineralizada, espessa, muito variável e desorganizada,

contando com cristais de tamanho superior aos presentes na dentina subjacente (Siqueira et al., 2018; Tay & Pashley, 2004).

3.3 Adesão ao Substrato Erodido

Como a erosão pode causar danos irreversíveis e por vezes graves à estrutura dentária, muitos pacientes necessitam de tratamentos restauradores complexos, com o intuito de reabilitar tanto a função estética como mastigatória perdidas (De Rossi et al., 2021). Atualmente, a tendência no planeamento destes casos exigentes baseia-se numa medicina dentária conservadora e minimamente invasiva. A adesão no substrato erodido e a sua previsibilidade vão variar consoante o substrato em questão, comportando-se de forma diferente durante o processo adesivo (De Rossi et al., 2021; Pashley et al., 2011; Van Meerbeek et al., 2011).

3.3.1 Adesão ao Esmalte Erodido

A dissolução acídica do esmalte promove uma desmineralização à semelhança do que ocorre durante o condicionamento ácido nos procedimentos adesivos (De Siqueira et al., 2020; Van Meerbeek et al., 2020). Deste modo, o processo erosivo parece ser benéfico para a adesão do esmalte, uma vez que facilita a criação de rugosidades, micro e macroporosidades que facilitam a retenção da resina (Moda et al., 2018; Wang et al., 2014). Embora se trate da primeira camada exposta aos efeitos do ácido, quando avaliamos a resistência adesiva no esmalte erodido, a evidência atual mostra que esta não está comprometida (Frattes et al., 2017; Moda et al., 2018; Van Meerbeek et al., 2020; Wang et al., 2014).

3.3.2 Adesão à Dentina Erodida

Contrariamente, na dentina erodida a adesão permanece um desafio (De Rossi et al., 2021). Fenómenos como a hipermineralização e a oclusão tubular levam a uma fraca capacidade reacional deste substrato. Consequentemente, observa-se uma dificuldade acrescida de infiltração dos monómeros de resina, o que leva a um comprometimento da

capacidade adesiva (Tay & Pashley, 2004). Estudos laboratoriais feitos até à data indicam de facto que a resistência adesiva em dentina erodida apresenta resultados significativamente inferiores, quando comparados com um substrato hígido (Zimmerli et al., 2012).

Como já mencionado, a camada híbrida representa a chave da adesão a nível da dentina (Nakabayashi et al., 1982; Nakabayashi et al., 1991). Com a dissolução da dentina peri e intertubular provocada pelos fenómenos erosivos e consequente espessamento da matéria inorgânica superficial, os monómeros de resina apenas conseguem penetrar até 3 µm dentro dos túbulos. Dado que em dentina hígida estes valores tendem a atingir as 9-15 µm, a integridade da camada híbrida é prejudicada (Moda et al., 2018). Por outro lado, a rede de colagénio apresenta algumas fibras colapsadas e um excesso de água pode ser observado, contribuindo ainda mais para uma camada híbrida pobre, com uma fraca infiltração dos monómeros refletindo-se numa resistência adesiva inferior (Frattes et al., 2017). Adicionalmente, a presença de um excesso de água promove ainda uma maior probabilidade de nanoinfiltração a longo prazo (Siqueira et al., 2018), degradando a camada híbrida, dado que esta é parcialmente responsável pelo aumento da atividade das MMPs, capazes de catalisar a biodegradação e hidrólise do colagénio (Frassetto et al., 2016).

Assim, todos estes fenómenos observados na dentina erodida são capazes de degradar as ligações químicas presentes na interface adesiva, ou piorar a camada híbrida formada, e desta forma, contribuir para uma degradação enzimática e hidrolítica (Tezvergil-Mutluay et al., 2015). Surge então a necessidade de superar este desafio, de forma a proteger a integridade das reabilitações a longo prazo.

3.3.2.1 Estratégias de Adesão à Dentina Erodida

Os estudos têm vindo a focar-se nas diferentes estratégias de proteção do substrato erodido, no momento desta adesão desafiante (De Rossi et al., 2021; Siqueira et al., 2018).

Os pré-tratamentos como a preparação mecânica da superfície, utilização de agentes remineralizantes (Flury et al., 2013), hipoclorito de sódio (NaOCl) (Siqueira et al., 2018) ou laser Er,Cr:YSGG (Ramos et al., 2013) na tentativa de alterar ou dissolver esta camada hipermineralizada não demonstram ser consistentes. Por outro lado, a utilização de agentes inibidores enzimáticos como a clorexidina (CHX) não parecem promover e reter a longevidade da interface formada neste substrato (Costa et al., 2019; Deari et al., 2017; Moda et al., 2018).

No entanto, embora não exista uma técnica adesiva ideal quando lidamos com substrato erodido (De Rossi et al., 2021), os monómeros funcionais como o 10-MDP têm demonstrado bons resultados em dentina erodida (Tian et al., 2016). De facto, como vimos, a interação entre este monómero e o cálcio e consequente ligação iónica, promove uma estabilidade a longo prazo da interface adesiva, contribuindo para melhores resultados (Siqueira et al., 2018). Este fenómeno denominado de *nanolayering* aparenta ser particularmente importante no substrato erodido, sendo que a matriz inorgânica é apenas parcialmente desmineralizada e consequentemente existe uma maior percentagem de cálcio para interagir com o 10-MDP (Tian et al., 2016). Assim, os adesivos que beneficiam deste monómero funcional, parecem ser promissores em dentina erodida (De Rossi et al., Siqueira et al., 2018).

4. Estudos e métodos de avaliação da interface adesiva *in vitro*

A nível de viabilidade e sucesso clínico, um adesivo deve conseguir favorecer um bom selamento marginal, conferir durabilidade e ser capaz de resistir às forças presentes na cavidade oral. Surgem desta forma, diferentes testes *in vitro*, capazes de quantificar estes critérios e de prever *outcomes* clínicos. A resistência adesiva representa assim, um valor atribuído à interface formada entre o adesivo e o dente, que dá uma medida direta da força a que o adesivo resiste, sob tensão, antes da sua falha (Armstrong et al., 2017; Sano et al., 1994, 2020; Van Meerbeek et al., 2010).

As normas e protocolos de investigação existentes visam, no âmbito dos testes de resistência adesiva, combater as inconsistências de resultados devido à falta de padronização do método (Armstrong et al., 2017; Sano et al., 2010; Van Meerbeek et al., 2010).

Os testes de resistência adesiva devem recorrer a uma técnica que requira pouca sensibilidade, facilidade de reprodução e rapidez. Devem ainda assegurar a possibilidade de testar uma variável específica, mantendo as restantes constantes. A capacidade de comparar vários materiais e/ou técnicas e consequentemente extrapolar os resultados de forma a prever resultados clínicos torna-se desta forma, o objetivo principal destes testes. Dependendo do tamanho da área aderida, são classificados em tipologia macro e micro, e podem basear-se em testes de forças de tração, cisalhamento ou *push-out* (Van Meerbeek et al., 2010).

4.1 Norma de orientação da *Academy of Dental Materials* (ADM)

Atualmente, a norma ISO/TS 11405:2015 não se encontra em vigor, estando sujeita a atualização. Desta forma, o teste de microtração para fins de investigação é regido pela norma da *Academy of Dental Materials* (ADM) (Armstrong et al., 2017). Esta norma providencia um protocolo e uma guia para a elaboração de testes de microtração, permitindo uma padronização do método e consequente reprodução e relevância clínica.

4.2 Resistência adesiva à microtração (μ TBS)

Este teste de resistência adesiva em tipologia “micro”, desenvolvido em 1994 por Sano et al., representa, de acordo com certas equipas de investigação atuais, a melhor técnica de medição da retenção da interface adesiva (Armstrong et al., 2017; Pashley et al., 1995). Como permite a medição de uma interface adesiva igual ou inferior a 1 mm², o mesmo dente consegue ser testado múltiplas vezes em diferentes secções (Sano et al., 2020; Van Meerbeek et al., 2010). Assim, um melhor controlo e resultados mais consistentes são obtidos, separando as diferentes zonas da estrutura dentária. Este teste acarreta então maior versatilidade, sem comprometer as diversas variáveis (Sano et al., 2020).

As secções de dente são aderidas a um *jig* metálico que é posteriormente tracionado a uma velocidade constante de 0,5-1 mm/min, de forma a obter uma força (em kN) no momento da fratura. Através deste valor e com recurso à área total da interface adesiva, é possível calcular o valor da resistência adesiva (em μ TBS) nesta secção de dente (Armstrong et al., 2017).

Dispondo de uma área reduzida e conseqüentemente uma melhor distribuição das forças, este teste permite obter falhas a nível da interface adesiva, aproximando os resultados da realidade clínica. Em contrapartida, por testar uma menor área aderida, a microtração requer alguma sensibilidade técnica por parte do operador (Armstrong et al., 2017; Sano et al., 2020; Van Meerbeek et al., 2010).

4.3 Determinação de dureza e módulo de elasticidade de *Young* à nanoescala

Outro tipo de teste que tem sido utilizado em vários estudos para caracterizar as propriedades mecânicas da interface adesiva é o ensaio de nanodureza. Este permite avaliar a dureza e o módulo de elasticidade de um material, e neste caso, pela sua tipologia nano, distinguir a camada híbrida, da

dentina e adesivo. Assim, este teste exibe uma elevada relevância clínica (Takahashi et al., 2021; Wang et al., 2003).

As propriedades mecânicas representam atualmente critérios de elevada relevância relativamente à qualidade dos materiais dentários (Chun & Lee, 2014; Wang et al., 2003). De facto, uma das causas mais prevalentes das falhas adesivas ou de compósito é a fratura adesiva. Assim, estas propriedades mecânicas devem ser medidas e avaliadas de forma a melhor prever os resultados clínicos (Wang et al., 2003).

A dureza é uma propriedade mecânica inerente ao material (Chun & Lee, 2014; Wang 2003). Desta forma, quando se mede a dureza do esmalte, dentina, adesivo ou camada híbrida, o valor será independente de outras variáveis que não as características intrínsecas ao respetivo material. O teste baseia-se na resistência do material ou estrutura no momento da propagação de uma fratura artificial, de área e força conhecidas (Takahashi et al., 2021; Wang et al., 2003).

Existem diversas técnicas que permitem executar o teste de nanodureza, destacando-se a indentação com recurso a uma pirâmide de Vickers (Wang et al., 2003). De facto, com recurso a um nanodurómetro, são efetuadas diferentes indentações na dentina a nível da camada híbrida. A nanodureza tem vindo assim a demonstrar particular interesse na medição de propriedades mecânicas em áreas altamente reduzidas (Oliver & Pharr, 1992). A estrutura dentária é seccionada longitudinalmente, polida e posteriormente fixa a uma resina. As nanoindentações são obtidas através de uma força (g), tempo (s) e distância entre elas (μm) definidas. Desta forma, é possível desenvolver um modelo de nanodureza de modo a atribuir diferentes valores de dureza à camada híbrida (De Siqueira et al., 2020; Takahashi et al., 2021).

Com recurso ao teste de nanodureza, é possível obter-se também o módulo de elasticidade do material – módulo de elasticidade de *Young* (Takahashi et al., 2021; Wang et al., 2003). Esta propriedade inerente ao material, representa a sua capacidade de se deformar de forma reversível – elástica – quando lhe é aplicada uma força conhecida. Assim, através da obtenção de uma curva de

tensão-deformação, este teste é capaz de medir a elasticidade de um material ou estrutura, quando sujeito a forças mastigatórias (Oliver & Pharr, 1992).

5. Enquadramento

Se a adesão à estrutura dentinária tem sido alvo de diversos estudos, de modo a ultrapassar as dificuldades observadas, quando falamos de dentina erodida, o desafio exponencia-se (Belmar da Costa et al., 2021). Trata-se de um substrato que apresenta resultados de resistência adesiva significativamente inferiores quando comparados aos encontrados em dentina hígida. E, atualmente, ainda não existem protocolos que favoreçam técnicas adesivas específicas para contornar este problema (Ramos et al., 2013; Siqueira et al., 2018). Com um aumento da população afetada pela erosão dentária, e a procura por tratamentos reabilitadores, torna-se assim imperativo estabelecer a melhor estratégia e plano de reabilitação destes casos (Belmar da Costa et al., 2021).

Embora nenhuma técnica adesiva tenha demonstrado particular vantagem quando se trata de dentina erodida, a literatura tem apresentado bons resultados quando são usadas formulações que contêm monómeros funcionais, como o 10-MDP (Siqueira et al., 2018). Trata-se então de um substrato com resultados dependentes da composição do material, possivelmente beneficiando de interações químicas (Tian et al., 2016). Por outro lado, a inclusão de partículas de fluoreto de sódio nos adesivos aparenta ser uma técnica promissora (Flury et al., 2013), capaz de gerar uma camada ABRZ, criando conseqüentemente uma zona resistente, remineralizada e menos solúvel à dissolução acídica (Nikaido et al., 2009, 2011).

Esta investigação laboratorial surge então da necessidade de testar a integridade da camada híbrida e resistência adesiva em dentina erodida, quando formada após a utilização de um adesivo funcional potencialmente reativo. Esta abordagem será comparada ao *gold-standard* da estratégia adesiva dos *self-etch*, comprovada em inúmeros estudos clínicos e laboratoriais (Giannini et al., 2015; Matsui et al., 2015; Peumans et al., 2014; Van Meerbeek et al.,

2011; Van Meerbeek et al., 2020). Este adesivo servirá de controlo uma vez que apresenta uma composição homóloga ao adesivo funcional em estudo, excetuando o monómero MDPB e as partículas de carga reativas.

II. Objetivos do estudo

Avaliar a resistência adesiva à microtração e propriedades nanomecânicas, em concreto a dureza e módulo de *Young* reduzido, de um novo sistema adesivo funcional *self-etch*, no imediato (24 h) e a longo prazo (3 meses) em dentina erodida, comparativamente com um sistema adesivo *gold-standard self-etch*.

III. Hipóteses do estudo

Hipótese Nula 0.1: O sistema adesivo funcional não apresenta melhores resultados de resistência adesiva, no imediato (24 h) e a longo prazo (3 meses), em dentina erodida, quando comparado com o *gold-standard* atual.

Hipótese Alternativa 1.1: O sistema adesivo funcional apresenta melhores resultados de resistência adesiva, no imediato (24 h) e a longo prazo (3 meses), em dentina erodida, quando comparado com o *gold-standard* atual.

Hipótese Nula 0.2: O sistema adesivo funcional não apresenta uma diferença dos valores de dureza e módulo reduzido de *Young*, após 3 meses, em dentina erodida, quando comparado com o *gold-standard* atual.

Hipótese Alternativa 1.2: O sistema adesivo funcional apresenta uma diferença dos valores de dureza e módulo reduzido de *Young*, após 3 meses, em dentina erodida, quando comparado com o *gold-standard* atual.

IV. Materiais e Métodos

1. Amostra de estudo

O estudo laboratorial em questão foi aprovado pela Comissão de Ética do Instituto Universitário Egas Moniz (IUEM), com o número de processo interno 938 (Anexo I).

A amostra total do estudo consistiu em quarenta e quatro molares humanos hígidos, extraídos no máximo nos 6 meses prévios ao estudo. Doados pelo Banco de Dentes Humano da Clínica Dentária Universitária Egas Moniz (Anexo II). Os dentes não apresentavam defeitos estruturais dos tecidos mineralizados, lesões de cárie, fraturas ou restaurações e foram extraídos por razões ortodônticas ou periodontais (Figura 2). O trabalho laboratorial realizou-se no Laboratório de Biomateriais da Egas Moniz (Anexo III) e no Centro de Engenharia Mecânica Materiais e Processos (CEMMPRE), no Departamento de Engenharia Mecânica na Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra (Anexo IV).



Figura 2. Imagem exemplificativa da amostra

Após a sua aquisição, os dentes foram lavados com água corrente e tratados com recurso a curetas de *Gracey*, de forma a eliminar resíduos orgânicos presentes. De seguida, os dentes foram colocados numa solução de cloramina-

T trihidratada a 1%, entre 4 e 7°C durante 7 dias, conforme o recomendado (Armstrong et al., 2017).

Posteriormente a este protocolo de desinfecção, os dentes foram colocados em água destilada a 4°C, substituída semanalmente até ao início do estudo laboratorial.

Durante todo o estudo, os procedimentos experimentais foram executados pelo mesmo operador, com uma temperatura e humidade controladas [(23 ± 2)°C + Humidade Relativa (50 ± 5)] (Armstrong et al., 2017).

2. Materiais

Todos os materiais adquiridos, fabricados e usados neste estudo estão listados na Tabela 1 assim como no Anexo V.

Tabela 1. Materiais utilizados – composição e especificações técnicas.

Material	Composição	Lote	Validade
Ácido cítrico	Solução de 500 mL de ácido cítrico a 0,05 M (pH 3,6-3,8)	-	-
Cola Zapit (Dental Ventures of America, Corona, CA, USA)	Base: 9,4 g (etil-2-cianoacrilato, polimetil-metacrilato, hidroquinona) Acelerador: 60 mL (heptano, acetona, N, N-dimetil-p-toluidina)	-	-
Clearfil™ SE Bond 2 (Kuraray Noritake Dental Inc., Tokyo, Japan)	<i>Primer:</i> 10-MDP, HEMA, dimetacrilato alifático hidrofílico, canforoquinona, água (pH do primer = 2,2) <i>Bond:</i> MDP, Bis-GMA, HEMA, dimetacrilato hidrofóbico alifático, fotoiniciadores, aceleradores, sílica coloidal, canforoquinona	0.00128	31-03-2024

Clearfil™ SE Protect (Kuraray Noritake Dental Inc., Tokyo, Japan)	<p><i>Primer:</i> 10-MDP, MDPB, HEMA, dimetacrilato hidrofóbico (pH do primer = 2,0)</p> <p><i>Solvente:</i> água</p> <p><i>Bond:</i> MDP, Bis-GMA, HEMA, dimetacrilato hidrofóbico, canforoquinona</p> <p><i>Partículas de carga:</i> fluoreto de sódio reativo, sílica coloidal</p>	0.000070	30-09-2022
Cloramina T	500 mL de cloramina T a 1 %	-	-
Resina Composta Ceram x Spectra™ ST HV (Dentsply DeTrey, GmbH, Konstanz, Germany) de cor A1, 3g	<p>Bis-EMA, Bis-GMA, UDMA, TEGDMA</p> <p><i>Partículas de carga:</i> trifluoreto de itérbio, di-ter-butyl-p-cresol</p> <p>78-80 wt%, 60-62% de volume de partículas de carga</p>	2011000700	30-09-2023
Resina epoxy 1L Epofix Kit (Struers, APS, Pederstrupjev, Denmark)	Resina epóxi com bis-[4-(2,3-epoxipropoxi) fenil] propano (60-90%) e oxidando, mono [C12-14-alkiloxi]metil] (10-40%)	9177-01	-
Endurecedor 130 mL Epofix Kit (Struers, APS, Pederstrupjev, Denmark)	Endurecedor com aminas e fração de polietileno-politrietileno-tetramina	9161-01	-
Saliva Artificial (Fusayama/Meyer solution)	0,4g NaCl, 0,4g KCl, 0,906g CaCl ₂ , H ₂ O, 0,39g NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O, 0,142g NaHPO ₄ , 0,005g Na ₂ S, 9H ₂ O, 1g de Ureia em 100 mL de H ₂ O destilada	-	-

MDP: metacrilóiloxidecil dihidrogenofosfato; HEMA: 2-hidroxietil metacrilato; Bis-GMA: bisfenol-A glicidil metacrilato; 10-MDP: 10- metacrilóiloxidecil dihidrogenofosfato; MDPB: 12- brometo de metacrilóiloxidodecilmiridínio; Bis-EMA: bisfenol-A dimetacrilato etoxilado; UDMA: dimetacrilado de uretano; TEGDMA: dimetacrilato de trietileno glicol.

3. Preparação das Amostras

3.1 Corte e exposição dentinária

Numa primeira fase, os dentes foram colocados com cola quente (Salki, Navarra, Espanha) num suporte acrílico e seccionados perpendicularmente ao longo eixo do dente, retirando 3 mm a partir das cúspides, pela linha da fossa adjacente. Desta forma, foi possível expor a dentina coronária média. Para tal, foi utilizado um micrótomo de tecidos duros (Accutom-50, Struers A/S, Ballerup, Denmark) sob refrigeração constante de água e a baixa rotação (0.350 mm/min) (Figura 3 e 4).

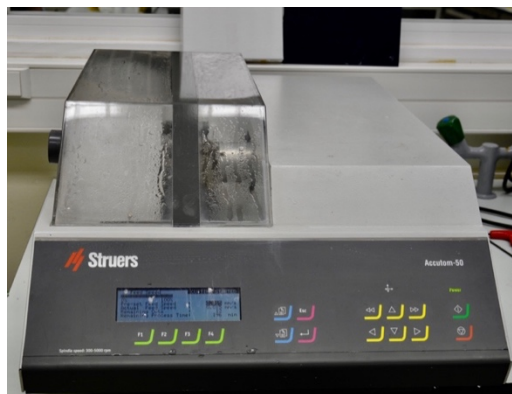


Figura 3. Micrótomo de tecidos duros - Accutom-50, Struers A/S, Ballerup, Denmark.



Figura 4. Dentina coronária média exposta.

Durante todo o procedimento, a hidratação dos dentes foi garantida, conservando sempre os dentes numa solução de saliva artificial (Tabela 1 para especificidades).

3.2 Ciclos de desmineralização-rem mineralização na dentina

Os dentes seccionados e com a dentina média exposta, foram armazenados em saliva artificial, até serem de seguida submetidos a um protocolo erosivo artificial, de forma similar ao sugerido por diversos autores (Costa et al., 2019; Deari et al., 2017; De Siqueira et al., 2020; Flury et al., 2013; Frattes et al., 2017; Ramos et al., 2013; Siqueira et al., 2018; Zimmerli et al., 2012).

O protocolo de desmineralização-rem mineralização cíclico foi executado durante 5 dias consecutivos, sempre pelo mesmo operador. Os dentes foram colocados em frascos de laboratório, 3 vezes por dia durante 5 minutos sob agitação mecânica numa placa angulada a 170 rpm, em ácido cítrico (Tabela 1 para especificidades), e posteriormente lavados com água destilada durante 60 segundos. Entre os ciclos erosivos, as amostras foram colocadas durante 60 minutos em saliva artificial (Tabela 1 para especificidades) e lavadas novamente com água destilada antes de iniciar o ciclo seguinte. No final dos 3 ciclos, os dentes foram armazenados durante 12 horas em saliva artificial, até ao recomeço do processo, no dia seguinte (Tabela 2).

Tabela 2. Protocolo erosivo das amostras utilizado no estudo, passo a passo.

Técnica de aplicação

- 1) Lavagem dos espécimes com água destilada durante 10 segundos**
- 2) Imersão dos espécimes numa solução de ácido cítrico * a 0,05M (pH 2.3), sob agitação mecânica a 170 rpm durante 5 minutos**
- 3) Lavagem dos espécimes com água destilada durante 10 segundos**
- 4) Imersão dos espécimes em saliva artificial* (pH 6.7), sob agitação mecânica a 170 rpm durante 60 minutos**
- 5) Execução de 3 ciclos erosivos no total**
- 6) Armazenamento dos espécimes numa solução de saliva artificial, sem agitação mecânica**
- 7) Repetição durante 5 dias consecutivos**

*As soluções foram renovadas diariamente e o pH monitorizado

Os efeitos erosivos no esmalte e dentina no final dos ciclos consecutivos durante 5 dias podem ser observados na Figura 5.



Figura 5. Amostras sujeitas ao protocolo erosivo.

Após a realização dos ciclos erosivos, os dentes foram mantidos em saliva artificial (Tabela 1 para especificidades), de forma a simular as condições erosivas que acontecem *in vivo*.

3.3 Protocolo adesivo e restauração das amostras

De forma a simular a *smear layer* existente no cenário clínico aquando do processo adesivo (Figura 6), os dentes foram submetidos a um polimento com uma lixa de carbeto de silício (SiC), de grão 600 (grão médio) (Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, USA), sob água corrente, com recurso a uma máquina polidora durante 60 segundos (Figura 7), até ser obtida uma superfície rugosa e brilhante, visível a olho nu.



Figura 6. Simulação da smear layer.



Figura 7. Máquina polidora LaboPol-4 (Struers A/S, Ballerup, Denmark).

Após os ciclos de desmineralização-rem mineralização, foi efetuada a distribuição aleatória dos dentes. Os dentes seccionados foram divididos pelos dois grupos experimentais, consoante o sistema adesivo utilizado

1. Clearfil SE™ Bond 2 ($n=22$ total) como grupo de controlo
2. Clearfil SE™ Protect ($n=22$ total) como grupo de teste/experimental

De seguida, cada grupo foi dividido em quatro subgrupos, de acordo com o *timing* de realização dos ensaios, e os ensaios em si, da seguinte forma (Figura 8):

1. Resistência adesiva à microtração ao imediato ($n=8$)
2. Ensaios de nanodureza da interface adesiva ao imediato ($n=3$)
3. Resistência adesiva à microtração passados 3 meses ($n=8$)
4. Ensaios de nanodureza da interface adesiva passados 3 meses ($n=3$)

Originando assim os seguintes grupos experimentais:

- CFSE_24 – Clearfil SE™ Bond 2 ao imediato
- CFSE_3M – Clearfil SE™ Bond 2 passado 3 meses
- CFP_24 – Clearfil SE™ Protect ao imediato
- CFP_3M – Clearfil SE™ Protect passado 3 meses

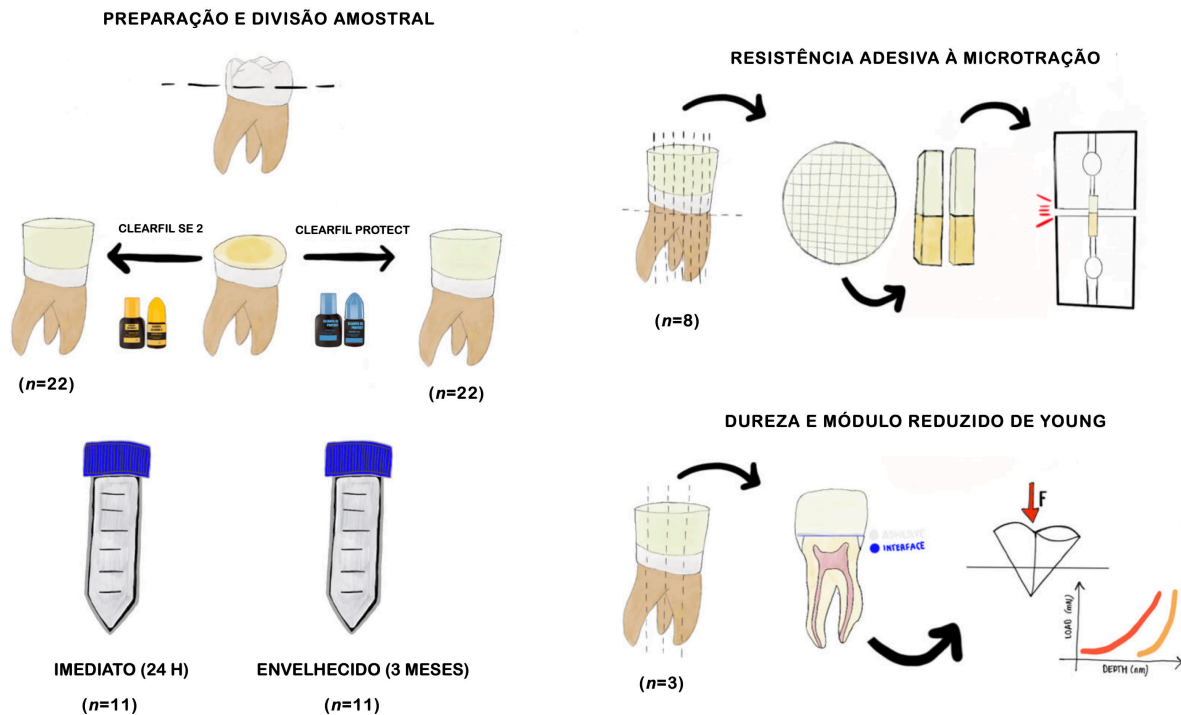


Figura 8. Esquema representativo dos grupos experimentais, da sua divisão e dos ensaios realizados, ao imediato, e passado 3 meses de envelhecimento, em água destilada.

Previamente à aplicação do sistema adesivo, os dentes foram lavados em água corrente durante 10 segundos e os excessos de água removidos com um leve jato de ar, isento de contaminação.

Seguidamente, realizou-se o protocolo adesivo em todas as amostras, consoante o grupo experimental em que se inseriam (Figura 9). A técnica de aplicação foi executada conforme as normas recomendadas pelo fabricante, tanto para o Clearfil SE Bond™ (Tabela 3) como para o Clearfil SE Protect™ (Tabela 4). Desta forma, tanto o esmalte como a dentina foram condicionados com recurso ao *primer* ácido contido no sistema adesivo.

Tabela 3. Preparação do Grupo CFSE_24 e CFSE_3M – Clearfil SETM Bond 2.

Técnica de aplicação

Técnica etch-and-dry do Clearfil SE Bond 2

- 1) Aplicar o *primer* (frasco 1) no esmalte e dentina durante 20 segundos; não lavar e secar levemente durante 5 segundos
- 2) Aplicar o adesivo (frasco 2) no esmalte e dentina e aplicar levemente ar de forma a criar uma camada uniforme durante 20 segundos
- 3) Fotopolimerizar 20 segundos a 700 mW/cm²
- 4) Restaurar com resina composta (Tabela 5)
- 5) Armazenar em saliva artificial durante 3 meses*

*Apenas realizado para o grupo CFSE_3M

Tabela 4. Preparação do Grupo CFP_24 e CFP_3M – Clearfil SETM Protect.

Técnica de aplicação

Técnica etch-and-dry do Clearfil SE Bond Protect

- 1) Aplicar o *primer* (frasco 1) no esmalte e dentina durante 20 segundos; não lavar e secar levemente durante 5 segundos
- 2) Aplicar o adesivo (frasco 2) no esmalte e dentina e aplicar levemente ar de forma a criar uma camada uniforme durante 20 segundos
- 3) Fotopolimerizar 20 segundos a 700 mW/cm²
- 4) Restaurar com resina composta (Tabela 5)
- 5) Armazenar em saliva artificial durante 3 meses*

*Apenas realizado para o grupo CFP_3M

As amostras foram de seguida restauradas com três incrementos de 2 mm de resina composta, respeitando as normas recomendadas pelo fabricante (Tabela 5). Foi utilizado o fotopolimerizador, modelo DB686 da Coxo (Froshan COXO Medical Instrument, Guangdong, China). Este fotopolimerizador apresenta uma luz LED, com uma potência de irradiação na ponta, de 700 mW/cm², medida a cada três utilizações com recurso ao radiómetro analógico Optilux

Radiometer (SDS Kerr, Orange, EUA). Apresenta também um comprimento de onda entre os 420 e os 480 nm (Figura 10).

Tabela 5. Instruções do fabricante da Resina Composta Ceram.x Spectra™ ST.

Técnica de aplicação

Técnica incremental

- 1) Colocar o material restaurador, em técnica de *layering*, por incrementos até 2 mm
- 2) Fotopolimerizar durante 20 segundos cada incremento a 700 mW/cm^2

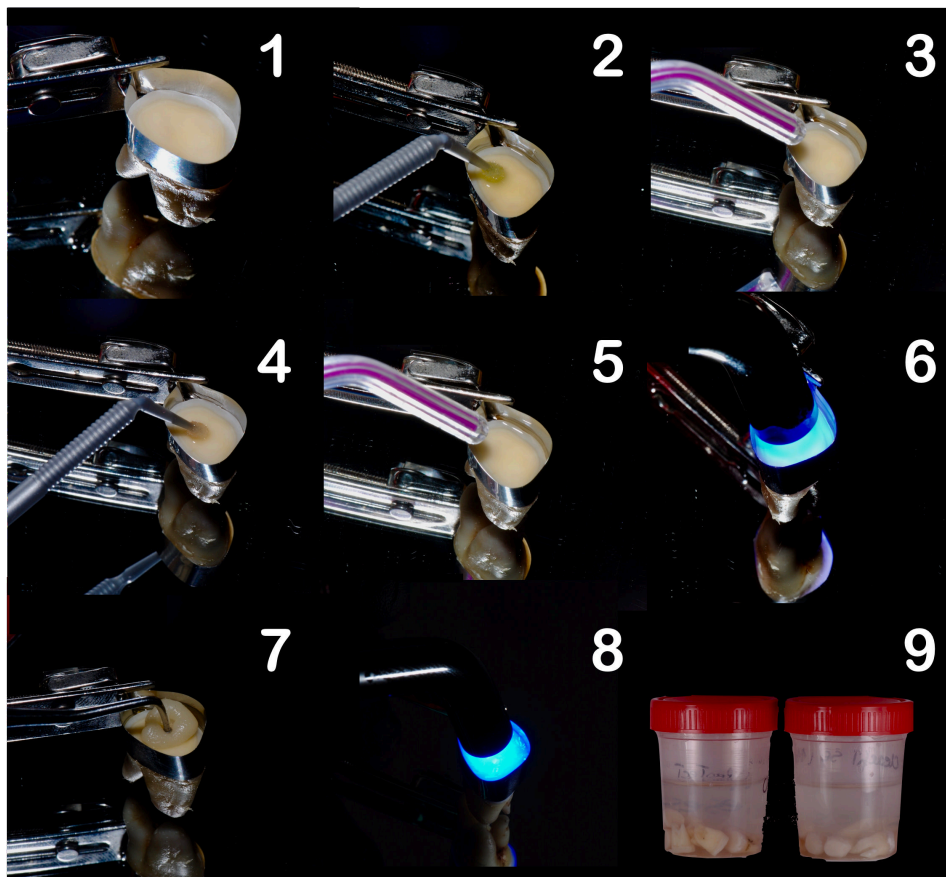


Figura 9. Protocolo de preparação dos grupos CFSE_3M e CFP_3M. Imagem mostra os seguintes passos: 1- Amostra seccionada, lavada e montada com um porta-matriz universal (Montellano, Lisboa, Portugal) e uma matriz metálica (Montellano, Lisboa, Portugal); 2- Iniciação do processo adesivo com aplicação de primer; 3 - Secagem recomendada pelo fabricante com leve jato de ar; 4 - Aplicação de bond; 5 - Secagem com leve jato de ar; 6- Fotopolimerização do adesivo in situ (20 segundos, 700 mW/cm^2); 7- Aplicação da resina composta por técnica de layering; 8 - Fotopolimerização da resina composta (20 segundos, 700 mW/cm^2); 9 - Amostra final restaurada com 6 mm de resina composta; 10 – Armazenamento durante três meses para as amostras CFSE_3M e CFP_3M.



Figura 10. Fotopolimerizador COXO modelo DB686 (Froshan COXO Medical Instruments, Guangdong, China).

No final do processo restaurador, a zona oclusal correspondente ao esmalte foi marcada com recurso a uma caneta de acetato e medida com uma régua de forma a posteriormente melhor identificar os palitos de dentina, substrato a estudar.

Cada dente dos grupos pertencentes aos ensaios de microtração foi seccionado no micrótopo de tecidos duros (Accutom-50, Struers A/S, Ballerup, Denmark), com uma lâmina diamantada a baixa velocidade (0.350 mm/min), a nível da raiz, 2 mm abaixo da junção amelo-cimentária, os tecidos pulpaes foram removidos através de curetas e a câmara pulpar dos dentes foi preenchida com cola rápida de cianoacrilato (Loctite, Itapevi, Brasil) (Figura 11).

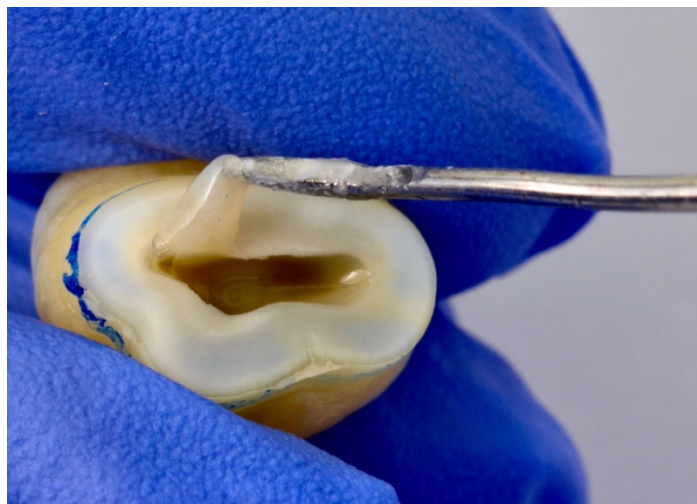


Figura 11. Remoção dos tecidos da câmara pulpar.

De seguida, as amostras foram novamente seccionadas, desta vez nas direções X e Y. Assim, foi possível obter palitos com uma secção transversal de $1 \pm 0,2$ mm (Figura 12). As amostras dos grupos (grupos a 3 meses) foram armazenadas durante 12 semanas certas, em saliva artificial e de seguida sujeitas ao mesmo processo de corte supramencionado.

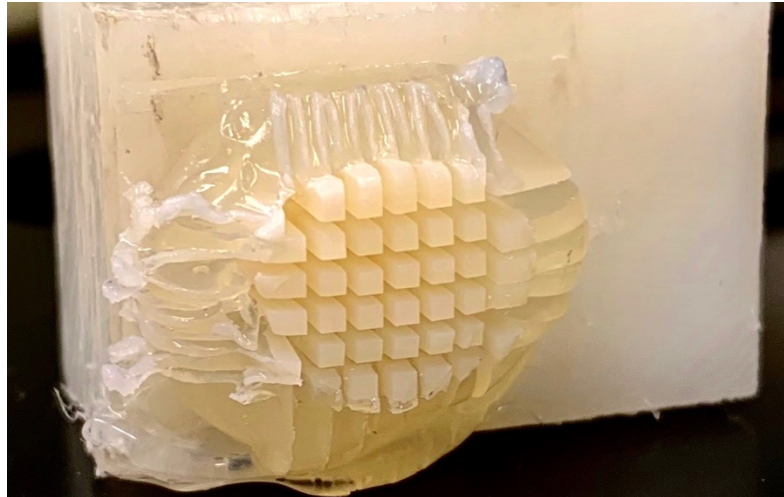


Figura 12. Palitos obtidos após secção nas direções X e Y.

Os dentes foram armazenados em água destilada numa estufa a 37°C (Memmert INE 400, Schwabach, Germany) durante 24h, até serem cortados e de seguida testados (Figura 13).



Figura 13. Estufa (Memmert INE 400, Schwabach, Germany).

Cada dente restaurado pertencente ao grupo dos ensaios de nanodureza, foi fixado em cilindros de resina epóxi (Epofix Kit, Struers APS, Pederstrupvej, Denmark), até à sua tomada de presa completa (72 horas). De seguida, cada bloco de resina epóxi com a amostra encapsulada, foi seccionada no micrótopo de tecidos duros, transversalmente, para dar origem a três fatias, expondo a interface adesiva dos dentes (Figura 14). Cada secção foi seguidamente lavada, seca e polida. Em primeiro lugar, foi utilizada uma sequência de brocas diamantadas (Henry Schein, CadCam lab Finishing and polishing Kit HP 900-9510, UK) - velocidade 7000-12000 rpm - para acabamento e polimento. De seguida, foi utilizada uma pasta suave e ultra-suave com auxílio de dois discos suaves (Diashine extraoral finishing and polishing system, 3M™ ESPE™ Lava™ Ultimate, St.Paul, MN, USA). Ambos os sistemas de acabamento e polimento podem ser observados na figura 15. De forma a garantir o polimento adequado de cada secção, as amostras foram observadas (Figura 16), sob microscópio endodôntico (Figura 17), com uma magnificação de 16X (Carl Zeiss Meditec AG, Jena, Germany).

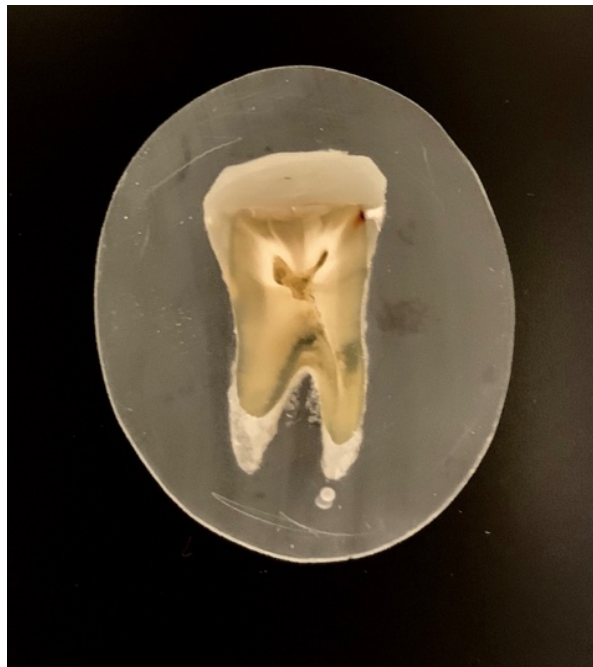


Figura 14. Amostra fixa em resina epóxi (Epofix Kit, Struers APS, Pederstrupvej, Denmark) e cortada transversalmente.



Figura 15. Sistemas de Acabamento e Polimento (Inferior: Henry Schein, CadCam lab finishing and polishing Kit HP 900-9510, UK; superior: Diashine extraoral finishing and polishing system, 3M™ ESPE™ Lava™ Ultimate, St. Paul, MN, USA).



Figura 16. Imagem comparativa das secções prévias ao polimento (esquerda) e posteriores ao polimento (direita).



Figura 17. Microscópio utilizado para controlo de polimento (Carl Zeiss Meditec AG, Jena, Germany).

3.4 Teste de resistência adesiva à microtração (μ TBS)

Para cada palito originado pelos cortes, foram registadas as dimensões para posteriormente calcular a área da secção transversal da interface adesiva, com o auxílio de uma craveira digital Storm Digital Caliper (CDC/N 0 150 mm, Pontoglio, BS, Itália) (Figura 18).

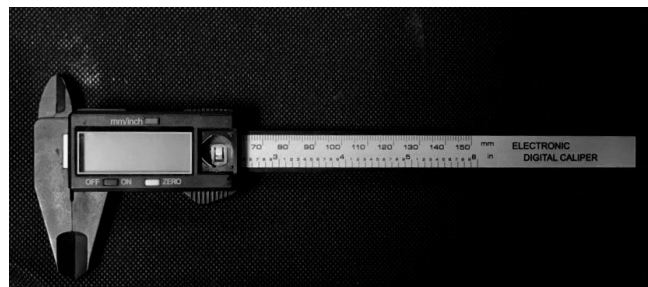


Figura 18. Craveira digital usada no estudo, Storm Digital Caliper (CDC/N 0 150 mm, Pontoglio, BS, Itália).

Cada palito dos grupos provenientes dos ensaios de microtração foi colocado num *jig* metálico de aço inoxidável, do tipo *Geraldeli*, com recurso a

cola de cianoacrilato (Zapit, Dental Ventures of America, Corona, CA, USA), deixando cuidadosamente a interface adesiva livre de cola. De seguida, cada palito foi tracionado com recurso a uma máquina de testes universal (Shimadzu, Autograph AG-IS, Tokyo, Japan), a uma velocidade de 0,05 mm/min (Figura 19), operando a 0,5 kN de *load cell*, até obtenção de uma fratura e força correspondente, registada em kN (Figura 20) (Trapezium2 Version 2.24, Copyright 1999 – 2005 Shimadzu Corporation). O cálculo da resistência adesiva correspondente a cada palito foi obtido através da seguinte equação:

$$B_S = \frac{F}{A}$$

Equação 1. Equação relacionando a resistência adesiva em MPa (BS), a força medida através da máquina de testes universal em N (F) e a área da interface adesiva de cada palito (A).



Figura 19. Máquina de testes universal (Shimadzu, Autograph AG-IS, Tokyo, Japan).

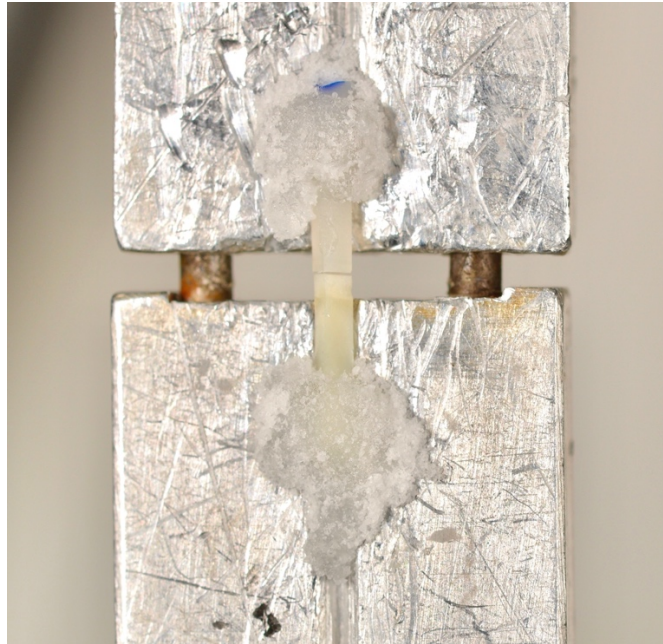


Figura 20. Palito após ter sido sujeito ao teste de microtração.

Após registada a área da secção transversal da interface adesiva de cada palito, assim como a força de tensão aplicada no momento de fratura (N), foi calculado o valor da resistência adesiva (μ TBS) em MPa. Este valor foi obtido pela divisão do valor da fratura pela área (Armstrong, 2017).

De forma a identificar o tipo de falha obtida, foi utilizada uma lupa estereoscópica (EMZ-8TR, MejiTechno Co., Ltd., Saitama, Japan) (Figura 21) tendo sido as falhas classificadas da seguinte forma:

- Falha adesiva, na eventualidade da fratura ocorrer a nível da interface adesiva;
- Falha coesiva de dentina, na eventualidade da fratura ocorrer a nível da dentina;
- Falha coesiva de compósito, na eventualidade da fratura ocorrer a nível do compósito;
- Falha mista, na eventualidade da fratura ocorrer tanto a nível da interface adesiva, como a nível da dentina ou compósito.

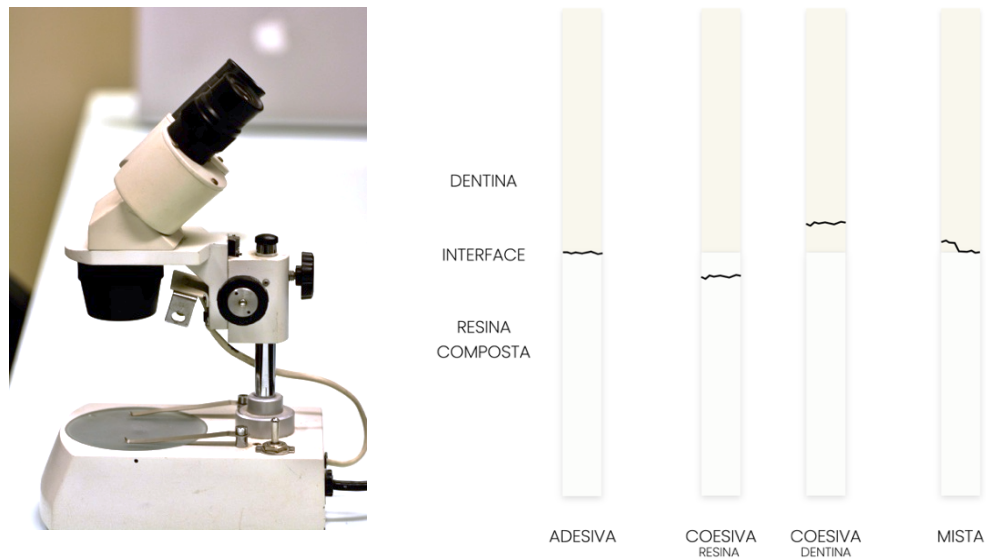


Figura 21. Microscópio ótico (EMZ-8TR, MejiTechno Co., Ltd., Saitama, Japan) e figura representativa do tipo de falha: 1. Falha adesiva; 2. Falha coesiva de resina; 3. Falha coesiva de dentina; 4. Falha mista.

As falhas pré-teste (PTF) foram também registadas sendo-lhes atribuído um valor de 0 MPa, como sugerido por Arsmtrong et al., (2017).

3.5 Teste das propriedades nanomecânicas: dureza e módulo reduzido de Young

Após polimento e acabamento de cada fatia transversal de dente erodido e restaurado, fixo em resina epóxi (Epofix Kit, Struers APS, Pederstrupvej, Denmark), foi utilizado um método de nanoindentação de forma a medir a nanodureza e módulo de elasticidade da camada híbrida. Após hidratação de cada espécime, cada fatia foi de seguida transferida para uma nanoindentador equipado de um indentador diamantado, triangular e piramidal de Berkovich (NanoTest, Micro Materials Limited, Wrexham, UK), com recurso a uma tabela X-Y e um sistema operacional incorporado (Figura 22).

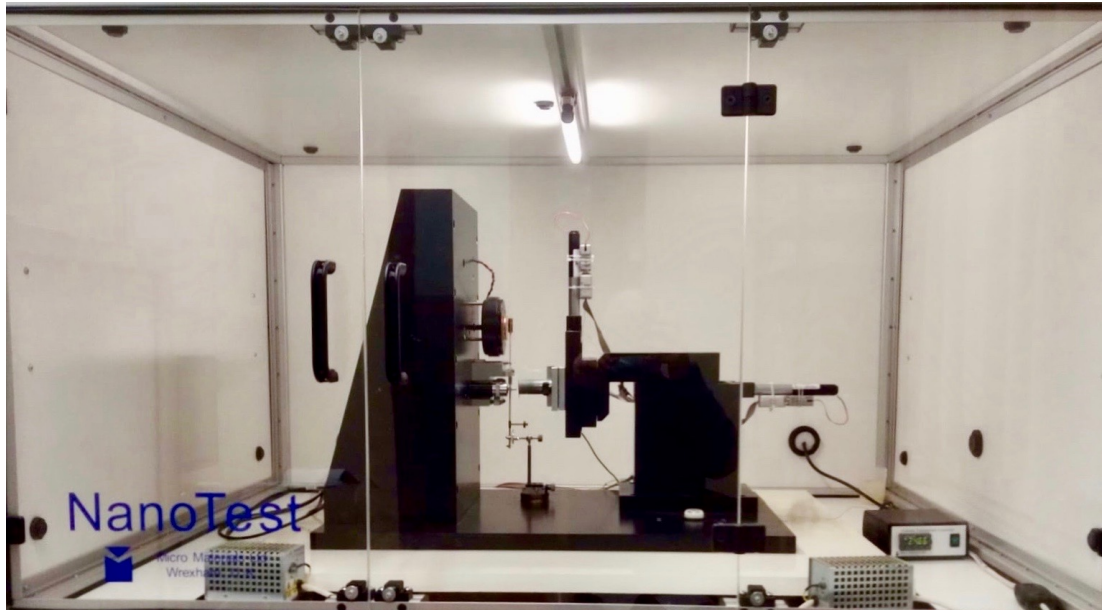


Figura 22. Nanoindentador equipado de um indentador diamantado de Berkovich (NanoTest, Micro Materials Limited, Wrexham, UK).

Os testes de nanoindentação foram executados ao longo da interface compósito-adesivo-dentina. Para cada amostra, foram realizadas duas matrizes de indentação. Para a matriz A, foram executadas 12 indentações em X e 8 em Y, cada uma com 2 μm de distância entre elas. Para a matriz B, foram realizadas 11 indentações em X e 9 indentações em Y, cada uma com 1 μm de distância entre elas. Em ambas, a carga máxima utilizada foi de 1 mN. As cargas e descargas foram efetuadas em 5 s, com 2 s de manutenção à carga máxima. Os valores de nanodureza foram obtidos através da média aritmética dos resultados das diferentes indentações.

4. Análise Estatística

Para o cálculo do tamanho amostral, foi seguida a norma de orientação em vigor, da *Academy of Dental Materials* (ADM) para o teste de resistência adesiva à microtração, recomendando pelo menos 5, e idealmente 8 dentes por grupo experimental (Armstrong et al., 2017). Relativamente ao estudo piloto de ensaios de nanodureza, por objetivo exploratório, definiram-se 3 amostras por grupo experimental. O dente foi a unidade estatística experimental deste estudo.

Para realizar testes de estatística inferencial, foi utilizado o programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versão 27.0 para Mac (IBM Corporation, Armonk, USA). As médias dos valores dos testes (μ TBS) e ensaio de nanodureza foram calculados por dente primeiramente, originando médias por grupo. Realizou-se uma análise de variância (ANOVA) *two-way*, para comparar o efeito de diferentes adesivos ao longo do tempo, na variável dependente resistência adesiva, enquanto que para a dureza e módulo reduzido utilizou-se o teste não-paramétrico *Kruskal-Wallis* (KW), uma vez que não se cumpriram os pressupostos paramétricos. Como teste post-hoc para o KW foi utilizado o teste de *Dunn-Bonferroni*.

Para os testes de estatística inferencial, o nível de significância definido foi de 5%, de modo a aceitar-se a hipótese nula caso $p \geq 0,05$.

Apesar de todas as falhas obtidas através do teste de microtração terem sido registadas, apenas foram incluídas na análise estatística as falhas adesivas, mistas e pré-teste, uma vez que as falhas coesivas não refletem um valor verdadeiro de resistência adesiva na interface (Armstrong et al., 2017).

V. Resultados

1. Resistência adesiva à microtração e análise fractográfica

Os resultados obtidos através dos testes de microtração encontram-se ilustrados na Figura 23. Embora através do teste ANOVA *two-way* ($p=0.087$) não se tenham observado diferenças significativas entre os grupos experimentais, a curto ou longo prazo, verificou-se uma tendência crescente no grupo CFP_3M. Esta tendência contrasta ainda, com a simultânea diminuição dos resultados do grupo CFSE_3M. Adicionalmente, foi identificada uma interação significativa entre as duas variáveis analisadas (grupo e tempo de armazenamento), (ANOVA, $p=0.025$), verificada na Tabela 6. Esta interação representa o facto de que a influência do tempo de armazenamento, no teste de microtração, depende da utilização dos adesivos, CFSE ou CFP. Desta forma, o tempo de armazenamento obteve uma magnitude de efeito superior (eta quadrado parcial = 0.02), comparativamente ao grupo experimental (eta quadrado parcial = 0.17).

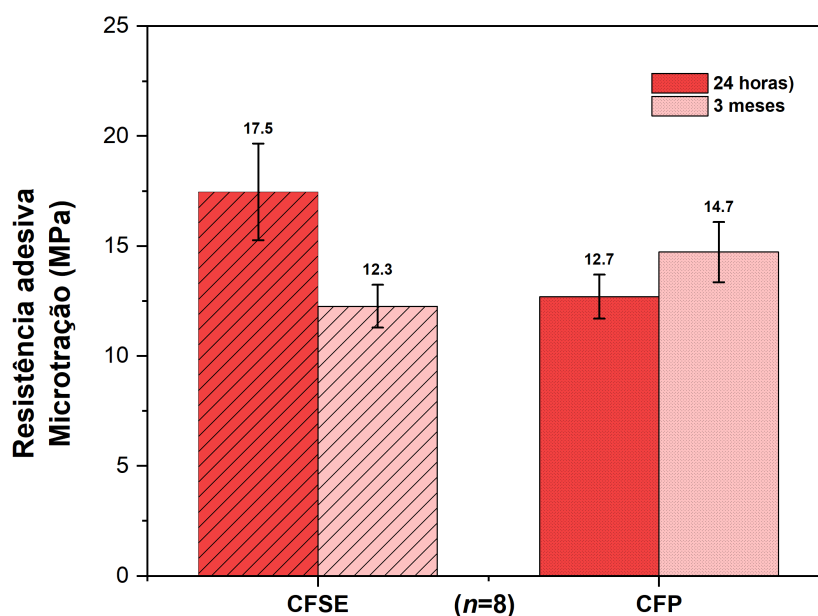


Figura 23. Gráfico de barras comparativo dos dois grupos experimentais em tempos diferentes de armazenamento (imediate e após 3 meses de envelhecimento). Não foram obtidas diferenças significativas entre os dois grupos experimentais nem entre os tempos (ANOVA *two-way*, $p=0.087$; $n=8$). As barras de erro representam erros padrão dos valores da média (SE).

Tabela 6. Resultados do teste ANOVA two-way, considerando os seguintes fatores: grupo experimental e tempo de armazenamento para a variável dependente, a resistência à microtração.

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Model	135.142	3	45.047	2.419	.087
Adhesive	20.161	1	20.161	350.783	.307
Time point	10.580	1	10.580	0.568	.457
Adhesive x time point	104.401	1	104.401	5.606	.025
Error	521.412	28	18.622		
Total	7188.800	32			

As contagens finais dos diferentes tipos de falha possível a nível da interface resina-dentina (falha adesiva, coesiva ou mista), identificadas através de percentagens, encontram-se descritas na Tabela 7. Em todos os grupos, a falha adesiva foi o tipo de falha predominante, seguida da falha mista, embora excepcionalmente, no grupo CFSE_24, se tenham registado 27% de falhas coesivas em compósito.

Tabela 7. Sumário da análise de fratura, demonstrando os tipos de fratura encontrados em cada grupo experimental (em %). A sigla PTF representa as falhas pré-teste – palitos que fraturaram previamente à concretização do teste de resistência adesiva.

Falhas	Adesivas	Coesiva Compósito	Coesiva Dentina	Mista	PTF	
Imediato (24 h)	CFSE	38%	27%	1%	24%	10%
	CFP	58%	14%	1%	17%	11%
3 meses	CFSE	47%	18%	1%	20%	14%
	CFP	52%	14%	1%	19%	13%

2. Dureza e módulo reduzido de *Young*

A dureza e o módulo reduzido de *Young* foram calculados em três camadas distintas: na camada híbrida, na camada de adesivo e na dentina. Os valores correspondentes a estes testes encontram-se descritos na Tabela 8, de acordo com o grupo experimental e tempo de armazenamento. A distribuição dos valores de dureza (H) demonstrou ser significativamente diferente na camada híbrida (KW $\chi^2(3)$: 11.1; $p=0.011$), na camada de adesivo (KW $\chi^2(3)$: 18.8; $p<0.001$) e na dentina (KW $\chi^2(3)$: 19.9; $p<0.001$). Relativamente aos valores do módulo de elasticidade (E), a distribuição de valores apresentou ser também ela, significativamente diferente na camada híbrida (KW $\chi^2(3)$: 8.5; $p=0.037$), na camada de adesivo (KW $\chi^2(3)$: 17.0; $p=0.001$) e na dentina (KW $\chi^2(3)$: 15.7; $p=0.001$).

Tabela 8. Médias (em GPa) correspondentes à nanodureza (H) e módulo de Young reduzido (E) e desvio padrão indicado entre parêntesis, consoante o adesivo (CFSE, CFP) e tempo de armazenamento (imediate e 3 meses de envelhecimento). As letras maiúsculas representam diferença significativa dentro da mesma coluna, enquanto que as letras minúsculas indicam diferença significativa dentro da mesma linha (Dunn-Bonferroni, $p<0.05$; $n=3$).

		Imediato (24 h)			Longo-prazo (3 meses)		
		Camada Híbrida	Adesivo	Dentina	Camada Híbrida	Adesivo	Dentina
H (GPa)	CFSE	0.43 (0.19) ^{aA}	0.62 (0.20) ^{aA}	0.79 (0.23) ^{aA}	0.32 (0.10) ^{aA}	0.37 (0.19) ^{bA}	0.76 (0.32) ^{aA}
	CFP	0.52 (0.18) ^{aA}	0.64 (0.21) ^{aA}	0.83 (0.25) ^{aA}	0.46 (0.30) ^{aA}	0.39 (0.18) ^{bA}	1.52 (0.61) ^{bA}
E (GPa)	CFSE	6.08 (2.30) ^{aA}	8.30 (3.07) ^{aA}	13.91 (3.38) ^{aA}	4.88 (1.07) ^{aA}	5.61 (1.80) ^{bA}	15.63 (5.27) ^{aA}
	CFP	6.21 (1.13) ^{aA}	8.17 (1.84) ^{aA}	19.80 (4.39) ^{aB}	6.44 (1.24) ^{bA}	5.9 (1.10) ^{bA}	19.44 (5.79) ^{aA}

2.1 Mapas de dureza e módulo reduzido de *Young* a partir de matrizes programadas

Os mapas ilustrativos da variação da nanodureza e módulo de *Young* reduzido através da interface resina-dentina, numa matriz fixa, podem ser encontrados nas Figuras 24 e 25. A camada híbrida e a camada de adesivo apresentaram resultados similares em termos de distribuição de dureza e módulo de elasticidade reduzido, tanto ao imediato como a longo prazo. Assim, examinando os mapas, estes resultados não demonstram ser distintos entre si.

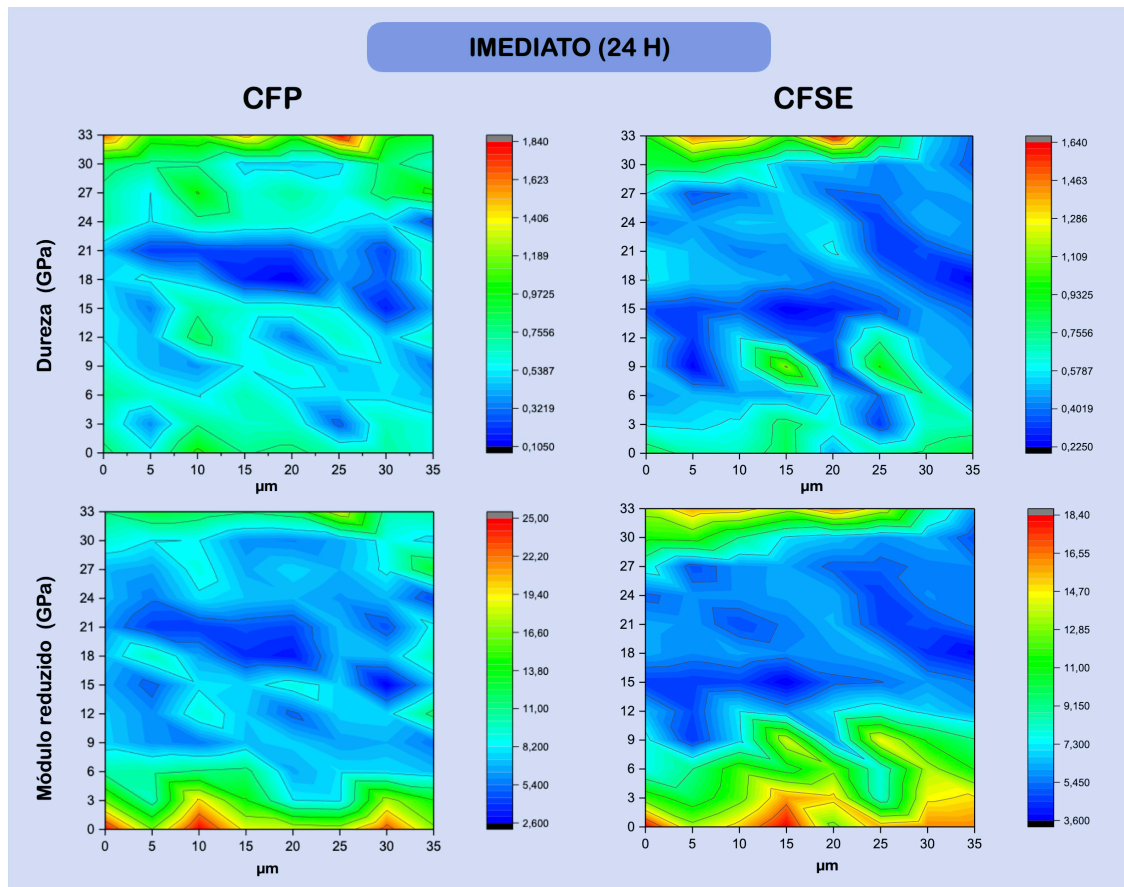


Figura 24. Mapas de dureza e módulo de *Young* reduzido (GPa), evidenciando a variação em intensidade de cada variável, numa área, mapeando a interface resina-dentina, após ter sido restaurada e armazenada durante 24h em água desionizada. A dentina pode ser observada em baixo, facilmente identificável pelo módulo de elasticidade elevado, enquanto que a camada híbrida se encontra imediatamente em cima desta camada (os mapas são representativos de uma só amostra). A distância entre pontos é medida em μm .

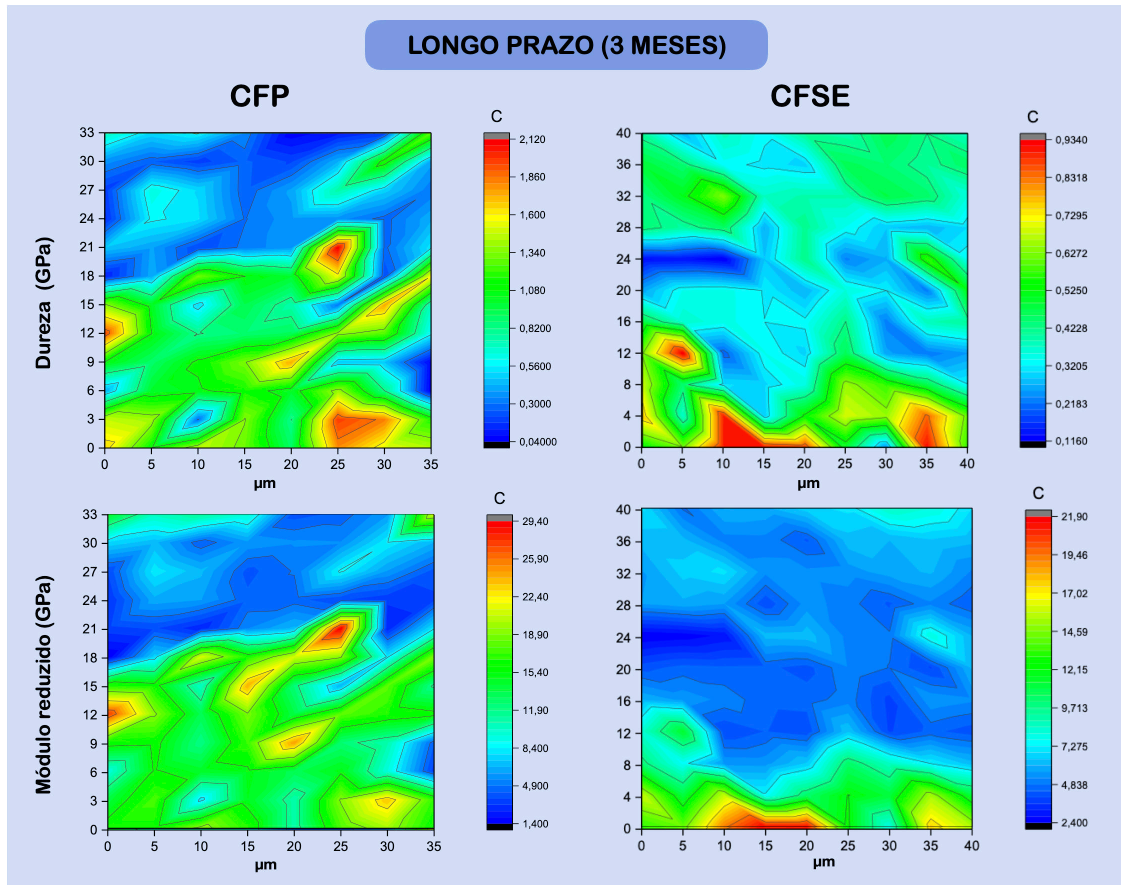


Figura 25. Mapas de dureza e módulo de Young reduzido (GPa), evidenciando a variação em intensidade de cada variável, ao longo de uma área, mapeando a interface resina-dentina, após ter sido restaurada e armazenada durante 3 meses em saliva artificial. Uma aleatoriedade na variação dos valores de dureza no grupo CFSE pode ser observada, enquanto que o módulo reduzido demonstra características evidentes de dentina na camada inferior (os mapas são representativos de uma amostra aleatória). A distância entre pontos é medida em μm .

VI. Discussão

O presente estudo *in vitro* teve como objetivo avaliar e comparar a interface adesiva de um sistema adesivo funcional, em substrato erodido. Os resultados obtidos levaram a que a primeira hipótese nula fosse aceite, sendo que não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos testados, quer com a variação dos adesivos, quer a curto ou a longo prazo. Na segunda hipótese nula formulada, esta foi parcialmente aceite, uma vez que se verificaram certas diferenças, com o envelhecimento no CFP, em algumas zonas estudadas.

Atualmente os desafios no âmbito da adesão dentária repousam maioritariamente nas dificuldades encontradas no substrato dentinário (Van Meerbeek et al., 2020). De forma a permitir estabilidade e longevidade dos tratamentos adesivos, deve ser assegurada uma infiltração dos monómeros de resina e a sua subsequente polimerização nos espaços interfibrilares da rede de colagénio, formando uma camada reticulada e coesa (Nakabayashi et al., 1982; Nakabayashi et al., 1991; Spencer et al., 2010). Este processo torna-se desafiante num tecido com elevado conteúdo orgânico, como é o caso da dentina (Frassetto et al., 2016; Liu et al., 2011). Dentro das adversidades encontradas clinicamente encontra-se a erosão dentária (Carvalho et al., 2015; De Rossi et al., 2021; Loomans et al., 2017).

Em termos de adesão à dentina erodida, a literatura apresenta-se unânime, sublinhando uma redução marcada na resistência adesiva (Belmar da Costa et al., 2021; De Rossi et al., 2021; Frattes et al., 2017; Ramos et al., 2013). Foram descritas alterações morfológicas e estruturais na dentina sujeita a este fenómeno, responsáveis pela formação de uma camada híbrida menos coesa (Bartlett & O'Toole, 2019; Siqueira et al., 2018;). De facto, autores como Tay & Pashley (2004) descrevem a presença de túbulos dentinários alargados, cobertos de dentina peri-tubular porosa e dura, resultando na sua oclusão e consequente formação de uma camada hipermineralizada superficial. Estas características demonstraram ter um impacto negativo na infiltração dos monómeros, comprovado por estudos como o de Zimmerli et al. (2012) ou Frattes et al. (2017). Estudos laboratoriais demonstram ainda que neste

contexto, os resultados de resistência adesiva ao imediato (24 h) são significativamente superiores em dentina hígida, quando comparados aos resultados em dentina erodida, independentemente do sistema adesivo utilizado (Deari et al., 2017; Flury et al., 2013; Flury et al., 2017; Ramos et al., 2013; Zimmerli et al., 2012).

Por outro lado, o estudo laboratorial de Flury et al. (2017) destaca uma degradação acelerada da camada híbrida neste substrato. Siqueira et al. (2018) verificou resultados significativamente inferiores de resistência adesiva em dentina erodida, após dois anos de envelhecimento em água, quando comparados aos grupos onde a dentina erodida foi previamente preparada com agentes de reticulação – proantrocianinas e riboflavina. Assim, como especulado por Costa et al. (2019) e Zimmerli et al. (2012), estes valores encontrar-se-iam diminuídos devido a uma degradação acelerada, tanto pela hidrólise das fibras não incluídas na camada híbrida, como pela atividade das metaloproteinases da matriz (MMPs). Estimuladas pelo ambiente ácido, estas MMPs contribuem assim, para a colagenólise, resultando numa menor integridade da camada híbrida a longo prazo (Costa et al., 2019).

Neste contexto, foram então escolhidos dois sistemas adesivos diferentes: Clearfil SE Bond 2 e Clearfil SE Protect.

Encontra-se atualmente estabelecido pela literatura que o adesivo Clearfil SE Bond 2, que beneficia do monómero funcional 10-MDP original na sua composição (Van Meerbeek et al., 2010), representa o *gold-standard* da adesão dentinária. Ensaios clínicos como os de Pena et al., (2016) com um *follow-up* a 2 anos ou o de Peumans et al. (2010) a 8 anos, comprovam este argumento. Adicionalmente, estudos laboratoriais como o de Peumans et al. (2005) assim como os dados meta-analíticos de Van Meerbeek et al. (2010) ou Van Meerbeek et al. (2020), apoiam esta premissa. De facto, quando comparado com outros 10-MDP sintetizados após a patente expirar, estes demonstraram eficácia inferior por impurezas, confirmando que o monómero presente nos adesivos da Kuraray é superior em resistência adesiva (Shibuya et al., 2019) Este adesivo permite também o estabelecimento do fenómeno de *nanolayering*

- como descrito por Yoshihara et al. (2011) ou Tian et al. (2016) - e consequente ligação química forte e estável, com baixa dissolução hidrolítica, entre o cálcio presente na hidroxiapatite, ou livre, e o 10-MDP. Desta forma quando falamos em adesão à dentina sujeita a uma desmineralização superficial, está identificado que este adesivo *self-etch* apresenta os melhores resultados a curto e longo prazo (Van Meerbeek et al., 2011, 2020).

O Clearfil SE Protect, também apresentado pela Kuraray, tem como base a mesma composição do Clearfil SE Bond 2, contudo, conta com a presença do monómero 12-MDPB. Este monómero funcional que incorpora brometo de piridínio, torna-se um potencial agente anti-bacteriano por ser uma amónia quaternária polimerizável (QAC), sem todavia comprometer a adesão (Muratovska et al., 2018; Tezvergil-Mutluay et al., 2011, 2015). O MDPB é assim capaz de co-polimerizar com outros monómeros, imobilizando-o e permitindo uma ação inibitória contra o crescimento bacteriano a nível da matriz de resina (Imazato et al., 1997, 1998 2006). Esta ação anti-bacteriana representa uma técnica promissora, como evidenciado num estudo laboratorial de Hashimoto et al. (2018), sugerindo um aumento da longevidade das restaurações que beneficiem desta estratégia. Por outro lado, o adesivo conta ainda com partículas de flúor reativas, funcionalizadas, possivelmente potenciadoras de processos remineralizantes (Ozel et al., 2015). A libertação de flúor, como sugerido por Viana et al. (2020), permite a formação e precipitação de fluoroapatite, um mineral menos solúvel, levando a uma dentina protegida e reforçada. De outro modo, aquando de uma nova exposição acídica na presença de partículas de flúor reativas, uma camada de resistência ácido-base (ABRZ) é formada, protegendo a dentina subjacente (Inoue et al., 2006; Nikaido et al., 2009, 2011; Waidyasekera et al., 2009). Tsuchiya et al. (2004) evidenciou e analisou esta estrutura, com recurso a imagens de microscopia eletrónica de varrimento, afirmando a sua formação como sendo dependente do adesivo. Concordantemente, Shinohara et al. (2006) prova a formação de uma camada resistente após desafios acídicos, localizada junto à dentina, após a camada híbrida. Assim, este novo adesivo funcional será eventualmente passível de formar esta camada, e desta forma melhorar os resultados de resistência adesiva a longo prazo no substrato erodido (Nikaido et al., 2011).

Consequentemente o sistema adesivo Clearfil SE Bond 2, por apenas diferir do Clearfil SE Protect nos dois constituintes supramencionados, torna-se o controlo ideal para testar a eficácia dos mesmos.

Após os testes efetuados ao imediato (24h) tanto de microtração como de propriedades nanomecânicas, as amostras foram conservadas em saliva artificial. Esta solução foi escolhida no sentido de simular uma remineralização comparável com a que acontece no meio oral, de forma similar ao estudo de Ayres et al. (2015).

Para envelhecimento foi definido um período de 3 meses. Apesar de ser um período relativamente curto, 3 meses é considerado um estudo laboratorial a longo prazo, como indicado por Armstrong et al. (2017) na orientação da ADM. Se por um lado os testes de microtração permitiram a obtenção de resultados quantitativos de resistência adesiva, os ensaios nanomecânicos permitem esclarecer propriedades determinantes tais como a dureza e o módulo de elasticidade. Enquanto o módulo de elasticidade esclarece o comportamento de um material quando este é sujeito a uma força, já a dureza está correlacionada com a resistência ao desgaste (Ferracane, 2013). Assim, o estudo das propriedades mecânicas de um material ou estrutura dentária, revela ter implicações clínicas importantes (Ilie et al., 2017).

No contexto de dentina erodida e relativamente aos testes de microtração efetuados ao imediato, os resultados associados ao adesivo Clearfil SE Bond 2 foram concordantes com os valores referidos na literatura (Figura 23 e Tabela 6). Efetivamente, no estudo de Deari et al. (2017) e Ramos et al. (2013) as médias dos resultados de microtração no grupo experimental erodido foram inferiores comparativamente ao grupo controlo, tal como no presente estudo. É possível aferir que os resultados foram significativamente inferiores quando comparados a resultados descritos em dentina hígida, também coerente com o esperado, como demonstrado em estudos tais como o de Francisconi-dos-Rios et al. (2015) ou de Deari et al. (2017), para os respetivos grupos controlo. Quando comparados aos resultados ao imediato do grupo experimental que utilizou o adesivo Clearfil SE Protect, os valores não foram estatisticamente

significativos (Figura 23 e Tabela 6). Novamente, estes resultados são convergentes com a literatura, tal como no estudo de Shinohara et al. (2006) que compara resultados de resistência adesiva em dentina hígida, utilizando os mesmos dois adesivos, levando a resultados similares aos presentes. É desta forma possível aferir que a presença de apenas dois componentes diferentes na formulação do Clearfil SE Protect, não afetaram a resistência adesiva ao imediato, quando o substrato em questão é a dentina erodida. Apresentando resultados comparáveis com o Clearfil SE Bond 2 (Shinohara et al., 2006) – *gold-standard* -, na dentina erodida, a utilização deste adesivo poderá tornar-se assim uma opção alternativa fidedigna (Hashimoto et al., 2018; Nikaido et al., 2011; Shinohara et al., 2006) a curto prazo.

Os resultados a longo prazo (3 meses) dos testes de resistência adesiva também não apresentaram diferenças estatisticamente significativas (Figura 23 e Tabela 6). Como descrito na literatura e discutido anteriormente, o substrato erodido encontra-se mais vulnerável a fenómenos de degradação da camada híbrida, quando comparado com o hígido (Costa et al., 2019; De Rossi et al., 2021; Moda et al., 2018). Desta forma, os resultados a longo prazo tendencialmente inferiores obtidos com o Clearfil SE Bond 2 são expectáveis, à semelhança dos resultados encontrados por Costa et al. (2019). De facto, os resultados de resistência adesiva em dentina erodida com o adesivo Clearfil SE Bond 2 obtidos no estudo mencionado (Costa et al., 2019) demonstraram ser estatisticamente inferiores, quando comparados com a resistência ao imediato. Atualmente aceita-se que esta tendência será potencializada pela degradação hidrolítica e enzimática da camada híbrida, inevitável com o tempo na cavidade oral, devido a fenómenos locais e do hospedeiro, como já sustentado pela literatura (Montagner et al., 2014; Shimada et al., 2009).

No entanto, embora estatisticamente irrelevante, os resultados de resistência adesiva do grupo CFP_3M mantiveram-se similares e com uma média superior quando comparados aos imediatos. Desta forma é possível realçar uma tendência crescente neste grupo experimental, aparentemente menos vulnerável à degradação da camada híbrida, conceito já referido na literatura por Muratovska et al. (2018) ou Tezvergil-Mutluay et al. (2011, 2015). Uma das

possíveis interpretações desta tendência crescente está relacionada com a presença do monómero funcional 12-MDPB, contido no *primer* do adesivo em questão (Muratovska et al., 2018). Como referido, a sua estrutura inclui iões de brometo de piridínio, um potente agente anti-bacteriano (Imazato et al., 2006) contra bactérias como o *Streptococcus mutans* (Imazato et al., 1998), tal como foi descrito nos estudos de Imazato et al. (1997, 2006) e Muratovska et al. (2018). Por outro lado, tem sido também mencionado que o 12-MDPB seria capaz de inibir as MMPs, protegendo consequentemente a camada híbrida e contribuindo para o sucesso dos tratamentos restauradores (Liu et al., 2011; Tezvergil-Mutluay et al., 2011). O estudo de Tezvergil-Mutluay et al. (2015) sublinha ainda que o recetor das MMPs por contar com repetições de cisteína necessárias para as ligações estabelecidas pelas QAC, permitiria a libertação de um grupo carboxilo livre nestas enzimas, passível de se ligar electrostaticamente ao 12-MDPB, a um pH de 7.4, bloqueando consequentemente a sua ação (Visse & Nagase, 2003).

A matriz de resina, suportada maioritariamente por fibrilhas de colagénio, contribui fortemente para a resistência à tração da dentina (Tezvergil-Mutluay et al., 2011), uma vez que permite que a resina co-polimerize e preencha os espaços, formando locais fortes de retenção micromecânica sobre uma grande área de superfície. A degradação da camada híbrida inicia-se como consequência de uma infiltração incompleta dos monómeros não polimerizados nas fibrilhas de colagénio, levando a zonas de exposição da rede, realçado na literatura por autores como Carrilho et al. (2008). Hashimoto et al. (2003) descreve que estas fibras expostas se encontram circundadas de espaços interfibrilhares hidratados, levando a uma hidrólise dos monómeros por esterases e assim, a uma degradação hidrolítica. Por outro lado, as metaloproteinases da matriz são capazes de acelerar o processo de degradação. Autores como Chaussain-Miller et al. (2006) descrevem as MMPs como enzimas secretadas por odontoblastos, localizadas na saliva e dentina condicionada por ácido, que demonstram ter um envolvimento importante na degradação das fibrilhas de colagénio desprotegidas. Ativadas pelo ambiente ácido, estas endopeptidases são capazes de hidrolisar componentes da matriz

orgânica extracelular, mediando assim a degradação da camada híbrida (Chaussain-Miller et al., 2006).

Assim, durante o processo de preparação cavitária e condicionamento ácido, as MMPs, naturalmente ligadas ao colagénio mineralizado, são expostas e tornam-se cataliticamente ativas (Montagner et al., 2014), fenómeno particularmente evidente no substrato erodido, onde a presença de ácido é frequente (Buzalaf, Kato & Hannas, 2012). A intervenção precoce na prevenção e atraso da inibição das MMPs, seria assim útil na proteção da camada híbrida (Montagner et al., 2014). Revisões e estudos laboratoriais como os de Montagner et al. (2014) ou Scaffa et al. (2012), introduziram diversos mecanismos no âmbito da inibição destas proteinases, entre os quais se destaca o pré-tratamento com digluconato de clorexidina a 2% (CHX). Esta técnica revelou poder ser incorporada em diferentes fases do sistema adesivo e é atualmente considerada o *gold-standard* por relação risco-benefício, facilidade, acesso e preço (Breschi et al., 2010, 2018; Frassetto et al., 2016). Embora Breschi et al. (2020), tenha demonstrado que a CHX é capaz de retardar a degradação da camada híbrida após envelhecimento artificial de 10 anos, os resultados a longo prazo na literatura são contraditórios e frequentemente comparáveis ao grupo controlo (Van Meerbeek et al., 2020). Mais recentemente e como referido, outros estudos têm-se focado na utilização de QACs e conseqüentemente na sua incorporação em sistemas adesivos, como é o caso do adesivo Clearfil SE Protect.

Por outro lado, o adesivo Clearfil SE Protect, beneficia na sua composição de partículas reativas de flúor, capazes de estimular processos de remineralização da estrutura, através de uma libertação lenta de flúor (Ayres et al., 2015; Guedes et al., 2016). De uma forma interessante, estas partículas reativas conseguem estabelecer uma ligação com a matriz de resina, melhorando as propriedades mecânicas da adesão, e libertando flúor em simultâneo (François 2020). De facto, Freitas et al. (2017) relembra que o módulo de elasticidade apresenta um impacto sobre a resistência adesiva, auxiliando na absorção das forças e preservando assim a interface adesiva. Com base nesta premissa, o autor sugere que a libertação de flúor seria capaz

de aumentar a resistência da interface adesiva à deformação elástica (Freitas et al., 2017). Por outro lado, o fluoreto é capaz de exercer uma atividade antibacteriana e fortalecedora, particularmente útil no substrato erodido (Guedes et al., 2016). A sua presença leva a um aumento da resistência da dentina, pelo aumento da concentração de fluorapatite circundante da camada híbrida, menos solúvel (Guedes et al., 2016). Desta forma, a libertação de partículas reativas de flúor permite a proteção da dentina contra a ação futura de ácidos, conferindo um menor grau de degradação e assim uma maior estabilidade. Num estudo desenvolvido por Guedes et al. (2016), onde foi testada a resistência adesiva do Clearfil SE Protect em substrato erodido, o fluoreto demonstrou ter particular efeito nas regiões dentinárias próximas da interface adesiva, sugerindo o fortalecimento da camada híbrida. Posto isto, o Clearfil SE Protect parece reunir todas as condições necessárias para a formação da camada resistente ácido-base (ABRZ). Pelos benefícios assegurados por este adesivo funcional, a tendência crescente dos resultados de resistência adesiva no grupo experimental CFP_3M poderá então ser associada a uma camada híbrida reforçada pelas partículas reativas, assim como pela ação anti-enzimática do monómero MDPB, ambas contribuindo para uma melhoria na integridade da camada híbrida.

Em relação à percentagem do tipo de falhas obtidas tanto a curto como a longo prazo, os resultados demonstram que, em todos os grupos testados, a falha predominante é a falha adesiva (Tabela 7), concordante com estudos prévios focados no adesivo Clearfil SE Protect, como os de Muratovska et al. (2018) e Imazato et al. (2006), e também expectável na tipologia de teste de microtração.

No âmbito das propriedades nanomecânicas do substrato em questão e da sua influência clínica, foram avaliadas a dureza e módulo reduzido de *Young* das amostras, a curto e longo prazo. A dureza, apesar de se tratar de uma propriedade mecânica não inerente ao material, define-se pela capacidade de resistência máxima à deformação local (Illie et al., 2017). Esta propriedade mede-se através de diferentes indentações na superfície, com uma força constante e distâncias definidas (Illie et al., 2017; Van Meerbeek et al., 1993).

A deformação plástica de um material – deformação irreversível – é desta forma determinada (Illie et al., 2017). O módulo de elasticidade – módulo de *Young* - em contrapartida, pode ser definido pela resistência do material à deformação elástica (que é reversível), quando submetido a uma dada força (Illie et al., 2017).

Como referido, durante o processo adesivo os monómeros de resina infiltram os espaços interfibrilares na rede de colagénio exposta, e, quando copolimerizados entre si formam em conjunto com o colagénio e a hidroxiapatite residual, a camada híbrida (Spencer et al., 2010). Esta camada apresenta um gradiente de elasticidade significativo como comprovado em estudos como os de Freitas et al. (2017). Os estudos atuais preconizam que esta elasticidade e consequente resiliência, é capaz de absorver as forças e stress provenientes da resina composta (Illie et al., 2017). Desta forma, a dureza e módulo de *Young* da camada híbrida encontrar-se-iam intimamente correlacionadas com a resistência adesiva da interface dentinária (Freitas et al., 2017). Efetivamente, com uma camada híbrida que apresente propriedades mecânicas favoráveis, seria então possível preservar a integridade da mesma e consequentemente aumentar a longevidade dos tratamentos (Van Meerbeek et al., 2010).

Comparando os grupos CFSE_24 e CFP_24, os resultados de dureza não demonstraram ser estatisticamente significativos (Tabelas 8 e Figuras 24 e 25). A dureza da camada híbrida e adesivo apresentam resultados inferiores em relação à dureza da dentina e o mesmo pode ser observado no que diz respeito ao módulo de elasticidade, resultados previsíveis uma vez que já havia sido comprovado experimentalmente por Freitas et al. (2017) para o adesivo Clearfil SE 2 e por Guedes et al. (2016) para o adesivo Clearfil SE Protect. Efetivamente, não seria expectável uma diferença entre sistemas adesivos ao imediato, uma vez que apenas diferem em dois componentes, diferenças insuficientes para melhorar as propriedades mecânicas a curto prazo. Desta forma, os resultados a curto prazo encontram-se de acordo com a literatura atual.

Para a dureza, considerando agora a longo prazo, os resultados obtidos também não foram significativamente diferentes entre os dois adesivos (Tabela 8 e Figuras 24 e 25). Contudo, as diferenças estatisticamente significativas entre os resultados da dentina e camada híbrida/adesivo mantiveram-se. Estes resultados foram assim concordantes com estudos como o de Siqueira et al. (2020), que verificou que após 2 anos de armazenamento de amostras de dentina erodidas, os valores não diferiam com os valores recolhidos ao imediato. Embora não seja possível inferir acerca de um aumento das propriedades mecânicas do grupo CFP_3M em comparação com o grupo CFSE_3M, torna-se importante realçar que existe uma estabilidade a longo prazo das propriedades mecânicas nestes grupos, como sugerido já por De Siqueira et al. (2020).

Por outro lado, comparando antes e após o envelhecimento, a dentina registou valores de dureza significativamente maiores, comparados com os imediatos, no grupo CFP_3M. Tal facto poderá evidenciar um processo de remineralização a ocorrer na interface adesiva, proveniente da diferente composição química do Clearfil Protect Bond. O mesmo não se verificou no grupo CFSE_3M. Para o envelhecimento das amostras dos grupos CFP_3M e CFSE_3M, cada espécime foi armazenado numa solução de saliva, substituída semanalmente. A saliva desempenha um papel de elevada relevância no âmbito da remineralização dentária, particularmente interessante no que diz respeito à erosão dentária (Lussi & Carvalho, 2014). De facto, aquando da exposição ácida, o pH decresce para um valor inferior a 5.5, suscitando processos de desmineralização (Lussi & Carvalho, 2014). A presença de saliva na cavidade oral, não só confere uma proteção da erosão, atuando com diluente, como é responsável pelo tamponamento deste pH, elevando novamente o seu valor em torno de 7 (Buzalaf, Hannas & Kato, 2012). Trata-se de um produto biológico supersaturado em conteúdo mineral – cálcio, fosfato e flúor – participando no processo de remineralização-desmineralização, responsável pela manutenção da integridade da estrutura dentária (Zhou et al., 2020). Num estudo de Zhou et al. (2020), após 21 dias armazenadas em saliva, as amostras estudadas já apresentavam focos de remineralização. No âmbito dos testes executados neste estudo, um potencial de remineralização assume um papel fundamental, uma

vez que o Clearfil SE Protect poderia promover a formação de uma camada híbrida reforçada, com o auxílio das partículas de flúor reativas (Guedes et al., 2016; Hashimoto et al., 2018). Embora alguns estudos utilizem fluido corporal simulado (SBF), solução com concentração iônica semelhante à do plasma humano (Tezvergil-Mutluay et al., 2015), neste estudo foi utilizada saliva artificial como meio de remineralização por ser o mais aproximado ao meio oral.

Os valores de dureza a nível da camada adesiva diferiram ao longo do tempo, para ambos os grupos (Tabela 8 e Figuras 24 e 25). Estas diferenças podem ser consistentes com a degradação dos monómeros de resina a longo prazo, por degradação hidrolítica. A mesma tendência foi observada a nível do módulo de elasticidade, com valores reduzidos na camada adesiva (Tabela 8 e Figuras 24 e 25). É ainda possível observar que os valores de dureza na dentina aumentaram no grupo CFP_3M, fenómeno potencialmente relacionado com a formação de uma camada reforçada e remineralizada, associada à presença de partículas de fluoreto de sódio reativas na interface adesiva, assim como ao meio de armazenamento – a saliva artificial. A literatura tem vindo a demonstrar que, na sequência de um desafio ácido futuro, existe a capacidade de formação de uma camada resistente – ABRZ – na presença do adesivo CFP, comparativamente com outras estratégias adesivas (Nikaido et al., 2021). Trata-se assim de um fenómeno dependente da concentração utilizada de flúor, capaz de influenciar as propriedades nanomecânicas da camada adesiva.

Em relação ao módulo de elasticidade, foram observadas diferenças a nível da camada híbrida no grupo CFP_3M, apresentando um aumento ligeiro e consequentemente, uma maior dureza ao longo do tempo, o que pode potencialmente indicar fenómenos de remineralização a ocorrerem na interface, devido aos agentes funcionais presentes na composição química do adesivo. Os outros resultados de módulo de elasticidade seguiram a tendência supramencionada e observada nos valores de dureza, expectável neste tipo de estudo.

Apesar dos resultados de microtração a curto ou longo prazo não terem sido estatisticamente significativos, diversas tendências foram observadas. Se por um lado, os resultados de resistência adesiva do CFSE_24 e CFP_3M foram semelhantes, os resultados do grupo CFP_3M demonstraram ser superiores, podendo ser interpretados como uma tendência crescente (Liu et al., 2011; Tezvergil-Mutluay et al., 2011, 2015). Por outro lado, os valores diminuídos do grupo CFSE_3M confirmam a degradação enzimática acelerada presente em dentina erodida a longo prazo, como descrito na literatura (Buzalaf, Kato & Hannas, 2012). Caso a tendência se verifique, estes resultados sustentariam a hipótese de formação de uma camada híbrida reforçada na presença do adesivo Clearfil SE Protect, assim como uma possível inibição da degradação enzimática, em concordância com os estudos de Imazato et al. (2006) e Guedes et al. (2016). Desta forma, torna-se necessário desenvolver estudos com um envelhecimento das amostras até 5 anos ou superior, igualando o tempo de sobrevivência média de um tratamento restaurador.

Em relação às propriedades nanomecânicas, os mesmos são suportados pelos estudos que revelam que o adesivo funcional apresenta excelentes propriedades mecânicas, a curto e longo prazo (Imazato et al., 2006). Contudo, seria benéfico testar estas propriedades, também num tempo de armazenamento superior. De facto, como descrito por Guedes et al. (2016), o Clearfil SE Protect aparenta proteger a dentina subjacente à camada híbrida, dando-lhe estabilidade.

VII. Conclusão

A partir deste estudo é possível concluir-se que o adesivo Clearfil SE Protect demonstra resultados de resistência adesiva e propriedades mecânicas em dentina erodida, similares às do adesivo Clearfil SE Bond 2. O adesivo Clearfil SE Protect demonstra em contrapartida, uma tendência crescente na resistência adesiva à microtração, passível de ser atribuída a uma maior resistência à degradação. Assim, o adesivo Clearfil SE Protect pode ser considerado uma opção terapêutica fidedigna, mesmo quando comparado ao *gold standard* atual – Clearfil SE Bond 2.

As alterações na dureza da dentina a longo prazo, em presença do adesivo Clearfil SE Protect, assim como o ligeiro aumento do módulo de elasticidade da camada híbrida, sugerem um possível fenómeno de remineralização a nível da interface adesiva. São necessários mais estudos de forma a determinar o papel específico do 12-MDPB e das partículas de flúor reativas no âmbito da inibição das MMPs em substrato erodido e a sua subsequente remineralização.

VII.1. Relevância clínica

Dado que a adesão à dentina erodida permanece um conceito particularmente desafiante, a procura de protocolos específicos que aumentem a longevidade dos tratamentos atuais, demonstra ser pertinente. Com o crescente aumento da incidência deste fenómeno e a importância do tratamento minimamente invasivo neste contexto, torna-se de grande importância explorar pré-tratamentos e estratégias adesivas. Uma vez que se trata de um substrato altamente vulnerável a degradação precoce da camada híbrida, os tratamentos clínicos beneficiariam assim de um adesivo que reunisse características capazes de retardar ou inibir este processo, aumentando a longevidade de forma a atingir o sucesso da restauração. O adesivo Clearfil SE Protect demonstrou resultados semelhantes ao adesivo Clearfil SE Bond 2, no que toca à resistência adesiva – o *gold-standard* atual da dentina, com uma tendência

crecente promissora em dentina erodida, justificando o seu uso clínico. No que toca às propriedades nanomecânicas, ambos foram similares. Contudo, as subidas no módulo de elasticidade da camada híbrida do CFP, juntamente com o aumento da dureza da dentina neste adesivo, levam a crer que poderá ter existido um fenómeno de remineralização. Este é clinicamente relevante e necessário para um contexto erosivo, podendo proteger desafios acídicos futuros.

Os resultados promissores em relação a este adesivo a longo prazo e a possível proteção contra futura degradação e ambientes acídicos, permitem então que o Clearfil SE Protect seja considerado um adesivo funcional interessante para substratos erodidos.

VIII. Perspetivas Futuras

Tendo em conta o trabalho desenvolvido, em investigações futuras será relevante:

- Avaliar a resistência adesiva em dentina erodida do adesivo Clearfil SE Protect, após envelhecimento a longo prazo (1 a 5 anos em água) ou termociclagem simulando períodos > 5 anos, bem como as propriedades nanomecânicas;
- Avaliar a nanoinfiltração após envelhecimento do adesivo Clearfil SE Protect, comparando-o com outros adesivos funcionais que contêm partículas de flúor reativas, com recurso a microscopia de laser confocal e microscópio eletrónico de transmissão. Construção de imagens com recurso a *software* tipo ImageJ, que permitam a quantificação de microgaps, canais e espaços de água, para avaliação da integridade da camada híbrida;
- Simulação da criação de uma camada ABRZ num substrato previamente erodido e estudo químico das diferentes camadas formadas (por diferentes adesivos) com recurso a técnicas de espectroscopia vibracional, como a Espectroscopia de Infra-vermelhos por Transformada de Fourier (FTIR) ou Espectroscopia de Raman.
- Avaliação de outras propriedades mecânicas, medidas através de análise mecânica dinâmica (DMA), comparando o Clearfil SE Protect e a sua variação ao longo de períodos de envelhecimento com outros sistemas adesivos contemporâneos.

IX. Bibliografia

- Amsler, F., Peutzfeldt, A., Lussi, A., & Flury, S. (2015). Bond strength of resin composite to dentin with different adhesive systems: Influence of relative humidity and application time. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 17(3), 249–256. <https://doi.org/10.3290/j.jad.a34400>
- Armstrong, S., Breschi, L., Özcan, M., Pfefferkorn, F., Ferrari, M., & Van Meerbeek, B. (2017). 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*, 33(2), 133–143. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2016.11.015>
- Ayres, A. P. A., Tabchoury, C. P. M., Berger, S. B., Yamauti, M., Ambrosano, G. M. B., & Giannini, M. (2015). Effect of Fluoride-containing Restorative Materials on Dentin Adhesion and Demineralization of Hard Tissues Adjacent to Restorations. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 17(4), 337–345. <https://doi.org/10.3290/j.jad.a34555>
- Bartlett, D., & O'Toole, S. (2019). Tooth wear and aging. *Australian Dental Journal*, 64(S1), S59–S62. <https://doi.org/10.1111/adj.12681>
- Bartlett, J. D. (2013). Dental Enamel Development: Proteinases and Their Enamel Matrix Substrates. *ISRN Dentistry*, 2013, 1–24. <https://doi.org/10.1155/2013/684607>
- Belmar da Costa, M., Delgado, A. H. S., Pinheiro de Melo, T., Amorim, T., & Mano Azul, A. (2021). Analysis of laboratory adhesion studies in eroded enamel and dentin: a scoping review. *Biomaterial Investigations in Dentistry*, 8(1), 24–38. <https://doi.org/10.1080/26415275.2021.1884558>
- Brauer, D. S., Hilton, J. F., Marshall, G. W., & Marshall, S. J. (2011). Nano- and micromechanical properties of dentine: Investigation of differences with tooth side. *Journal of Biomechanics*, 44(8), 1626–1629. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2011.03.004>
- Breschi, L., Maravic, T., Comba, A., Cunha, S. R., Loguercio, A. D., Reis, A., Hass, V., Cadenaro, M., Mancuso, E., Mayer-Santos, E., Niu, L., Pashley, D. H., Tay, F. R., & Mazzoni, A. (2020). Chlorhexidine preserves the hybrid layer in vitro after 10-years aging. *Dental Materials*, 36(5), 672–680. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2020.03.009>
- Breschi, L., Maravic, T., Cunha, S. R., Comba, A., Cadenaro, M., Tjäderhane, L., Pashley, D. H., Tay, F. R., & Mazzoni, A. (2018). Dentin bonding systems: From dentin collagen structure to bond preservation and clinical applications. *Dental Materials*, 34(1), 78–96. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.11.005>
- Breschi, L., Mazzoni, A., Nato, F., Carrilho, M., Visintini, E., Tjäderhane, L., Ruggeri, A., Tay, F. R., Dorigo, E. D. S., & Pashley, D. H. (2010).

- Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: A 2-year in vitro study. *Dental Materials*, 26(4), 320–325. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2009.11.153>
- Buzalaf, M. A. R., Hannas, A. R., & Kato, M. T. (2012). Saliva and dental erosion. *Journal of Applied Oral Science*, 20(5), 493–502. <https://doi.org/10.1590/S1678-77572012000500001>
- Buzalaf, M. A. R., Kato, M. T., & Hannas, A. R. (2012). The Role of Matrix Metalloproteinases in Dental Erosion. *Advances in Dental Research*, 24(2), 72–76. <https://doi.org/10.1177/0022034512455029>
- Carrilho, M. R., Tay, F. R., Donnelly, A. M., Agee, K. A., Tjäderhane, L., Mazzoni, A., Breschi, L., Foulger, S., & Pashley, D. H. (2008). Host-derived loss of dentin matrix stiffness associated with solubilization of collagen. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 90B(1), 373–380. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31295>
- Carvalho, T. S., Colon, P., Ganss, C., Huysmans, M. C., Lussi, A., Schlueter, N., Schmalz, G., Shellis, R. P., Tveit, A. B., & Wiegand, A. (2015). Consensus report of the European Federation of Conservative Dentistry: erosive tooth wear—diagnosis and management. *Clinical Oral Investigations*, 19(7), 1557–1561. <https://doi.org/10.1007/s00784-015-1511-7>
- Chaussain-Miller, C., Fioretti, F., Goldberg, M., & Menashi, S. (2006). The Role of Matrix Metalloproteinases (MMPs) in Human Caries. *Journal of Dental Research*, 85(1), 22–32. <https://doi.org/10.1177/154405910608500104>
- Chun, K. J., & Lee, J. Y. (2014). Comparative study of mechanical properties of dental restorative materials and dental hard tissues in compressive loads. *Journal of Dental Biomechanics*, 5(0), 0–5. <https://doi.org/10.1177/1758736014555246>
- Costa, C. A. G. de, Passos, V. F., Neri, J. R., Mendonça, J. S., & Santiago, S. L. (2019). Effect of Metalloproteinase Inhibitors on Bond Strength of a Self-etching Adhesive on Erosively Demineralized Dentin. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 21(4), 337–344. <https://doi.org/10.3290/j.jad.a42930>
- Cuy, J. L., Mann, A. B., Livi, K. J., Teaford, M. F., & Weihs, T. P. (2002). Nanoindentation mapping of the mechanical properties of human molar tooth enamel. *Archives of Oral Biology*, 47(4), 281–291. [https://doi.org/10.1016/S0003-9969\(02\)00006-7](https://doi.org/10.1016/S0003-9969(02)00006-7)
- De Rossi, G. R. C., Ozcan, M., & Volpato, C. A. M. (2021). How to improve bond stability to eroded dentin: a comprehensive review. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 35(10), 1015–1034. <https://doi.org/10.1080/01694243.2020.1835266>

- De Siqueira, Fabiana Suelen Figueredo, Hilgemberg, B., Araujo, L. C. R., Hass, V., Bandeca, M. C., Gomes, J. C., Reis, A., Loguercio, A. D., & Cardenas, A. F. M. (2020). Improving bonding to eroded dentin by using collagen cross-linking agents: 2 years of water storage. *Clinical Oral Investigations*, 24(2), 809–822. <https://doi.org/10.1007/s00784-019-02918-9>
- Deari, S., Wegehaupt, F. J., Tauböck, T. T., & Attin, T. (2017). Influence of Different Pretreatments on the Microtensile Bond Strength to Eroded Dentin. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 19(2), 147–155. <https://doi.org/10.3290/j.jad.a38142>
- Ferracane, J. L. (2013). Resin-based composite performance: Are there some things we can't predict? *Dental Materials*, 29(1), 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2012.06.013>
- Flury, S., Koch, T., Peutzfeldt, A., Lussi, A., & Ganss, C. (2013). The effect of a tin-containing fluoride mouth rinse on the bond between resin composite and erosively demineralised dentin. *Clinical Oral Investigations*, 17(1), 217–225. <https://doi.org/10.1007/s00784-012-0697-1>
- Flury, S., Lussi, A., & Peutzfeldt, A. (2017). Long-Term Bond Strength of Two Benzalkonium Chloride-Modified Adhesive Systems to Eroded Dentin. *BioMed Research International*, 2017, 1207208. <https://doi.org/10.1155/2017/1207208>
- Francisconi-dos-Rios, L. F., Casas-Apayco, L. C., Calabria, M. P., Francisconi, P. A. S., Borges, A. F. S., & Wang, L. (2015). Role of chlorhexidine in bond strength to artificially eroded dentin over time. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 17(2), 133–139. <https://doi.org/10.3290/j.jad.a34059>
- François, P., Fouquet, V., Attal, J., & Dursun, E. (2020). Commercially Available Fluoride-Releasing Restorative Materials: A Review and a Proposal for Classification. *Materials*, 13(10), 2313. <https://doi.org/10.3390/ma13102313>
- Frassetto, A., Breschi, L., Turco, G., Marchesi, G., Di Lenarda, R., Tay, F. R., Pashley, D. H., & Cadenaro, M. (2016). Mechanisms of degradation of the hybrid layer in adhesive dentistry and therapeutic agents to improve bond durability—A literature review. *Dental Materials*, 32(2), e41–e53. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2015.11.007>
- Frattes, F. C., Augusto, M. G., Torres, C. R. G., Pucci, C. R., & Borgese, A. B. (2017). Bond strength to eroded enamel and dentin using a universal adhesive system. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 19(2), 121–127. <https://doi.org/10.3290/j.jad.a38099>
- Freitas, P. H., Giannini, M., França, R., Correr, A. B., Correr-Sobrinho, L., & Consani, S. (2017). Correlation between bond strength and nanomechanical properties of adhesive interface. *Clinical Oral*

- Investigations*, 21(4), 1055–1062. <https://doi.org/10.1007/s00784-016-1847-7>
- Fukegawa, D., Hayakawa, S., Yoshida, Y., Suzuki, K., Osaka, A., & Van Meerbeek, B. (2006). Chemical Interaction of Phosphoric Acid Ester with Hydroxyapatite. *Journal of Dental Research*, 85(10), 941–944. <https://doi.org/10.1177/154405910608501014>
- Fusayama, T. (1992). Total Etch Technique and Cavity Isolation. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 4(4), 105–109. <https://doi.org/10.1111/j.1708-8240.1992.tb00674.x>
- 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. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201302442>.
- Goldberg, M., Kulkarni, A. B., Young, M., & Boskey, A. (2011). *Dentin: structure, composition and mineralization*. 0. <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2010.02.001>
- Guedes, A. P. A., Moda, M. D., Suzuki, T. Y. U., Godas, A. G. de L., Sundfeld, R. H., Briso, A. L. F., & Santos, P. H. dos. (2016). Effect of Fluoride-Releasing Adhesive Systems on the Mechanical Properties of Eroded Dentin. *Brazilian Dental Journal*, 27(2), 153–159. <https://doi.org/10.1590/0103-644020160635>
- 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. *Journal of Dental Research*, 79(6), 1385–1391. <https://doi.org/10.1177/00220345000790060601>
- Hashimoto, Masanori, Hirose, N., Kitagawa, H., Yamaguchi, S., & Imazato, S. (2018). Improving the durability of resin-dentin bonds with an antibacterial monomer MDPB. *Dental Materials Journal*, 37(4), 620–627. <https://doi.org/10.4012/dmj.2017-209>
- Hashimoto, Masanori, Ohno, H., Sano, H., Kaga, M., & Oguchi, H. (2003). In vitro degradation of resin–dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. *Biomaterials*, 24(21), 3795–3803. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00262-X](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00262-X)
- Ilie, N., Hilton, T. J., Heintze, S. D., Hickel, R., Watts, D. C., Silikas, N., Stansbury, J. W., Cadenaro, M., & Ferracane, J. L. (2017). Academy of Dental Materials guidance—Resin composites: Part I—Mechanical properties. *Dental Materials*, 33(8), 880–894. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.04.013>
- Imazato, S., Kinomoto, Y., Tarumi, H., Torii, M., Russell, R. R. B., & McCabe, J. F. (1997). Incorporation of Antibacterial Monomer MDPB into Dentin

- Primer. *Journal of Dental Research*, 76(3), 768–772. <https://doi.org/10.1177/00220345970760030901>
- Imazato, S., Ehara, A., Torii, M., & Ebisu, S. (1998). Antibacterial activity of dentine primer containing MDPB after curing. *Journal of Dentistry*, 26(3), 267-271. [https://doi.org/10.1016/S0300-5712\(97\)00013-4](https://doi.org/10.1016/S0300-5712(97)00013-4)
- Imazato, Satoshi, Kuramoto, A., Takahashi, Y., Ebisu, S., & Peters, M. C. (2006). In vitro antibacterial effects of the dentin primer of Clearfil Protect Bond. *Dental Materials*, 22(6), 527–532. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2005.05.009>
- Inoue, G., Tsuchiya, S., Nikaido, T., Foxton, R. M., & Tagami, J. (2006). Morphological and Mechanical Characterization of the Acid-base Resistant Zone at the Adhesive-dentin Interface of Intact and Caries-affected Dentin. *Operative Dentistry*, 31(4), 466–472. <https://doi.org/10.2341/05-62>
- Inoue, S., Koshiro, K., Yoshida, Y., De Munck, J., Nagakane, K., Suzuki, K., Sano, H., & Van Meerbeek, B. (2005). Hydrolytic Stability of Self-etch Adhesives Bonded to Dentin. *Journal of Dental Research*, 84(12), 1160–1164. <https://doi.org/10.1177/154405910508401213>
- Kinney, J. H., Balooch, M., Marshall, S. J., Marshall, G. W., & Weihs, T. P. (1996). Hardness and young's modulus of human peritubular and intertubular dentine. *Archives of Oral Biology*, 41(1), 9–13. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(95\)00109-3](https://doi.org/10.1016/0003-9969(95)00109-3)
- Kuraray. (1999) “Clearfil SE Bond 2”. Retirado da página: <https://kuraraydental.com/clearfil> (Acesso no dia 15 de Junho de 2021).
- Kuraray. (2014) “Clearfil SE Protect”. Retirado da página: <https://kuraraydental.com/clearfil> (Acesso no dia 15 de Junho de 2021).
- Laske, M., Opdam, N. J. M., Bronkhorst, E. M., Braspenning, J. C. C., van der Sanden, W. J. M., Huysmans, M. C. D. N. J. M., & Bruers, J. J. (2019). Minimally Invasive Intervention for Primary Caries Lesions: Are Dentists Implementing This Concept? *Caries Research*, 53(2), 204–216. <https://doi.org/10.1159/000490626>
- Liu, Y., Tjäderhane, L., Breschi, L., Mazzoni, A., Li, N., Mao, J., Pashley, D. H., & Tay, F. R. (2011). Limitations in Bonding to Dentin and Experimental Strategies to Prevent Bond Degradation. *Journal of Dental Research*, 90(8), 953–968. <https://doi.org/10.1177/0022034510391799>
- Loomans, B., Opdam, N., Attin, T., Bartlett, D., Edelhoff, D., Frankenberger, R., Benic, G., Ramseyer, S., Wetselaar, P., Sterenborg, B., Hickel, R., Pallesen, U., Mehta, S., Banerji, S., Lussi, A., & Wilson, N. (2017). Severe tooth wear: European consensus statement on management guidelines. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 19(2), 111–119.

<https://doi.org/10.3290/j.jad.a38102>

- Low, I. M., Duraman, N., & Mahmood, U. (2008). Mapping the structure, composition and mechanical properties of human teeth. *Materials Science and Engineering: C*, 28(2), 243–247. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2006.12.013>
- Lussi, A., & Carvalho, T. S. (2014). Erosive tooth wear: A Multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. *Monographs in Oral Science*, 25, 1–15. <https://doi.org/10.1159/000360380>
- Matsui, N., Takagaki, T., Sadr, A., Ikeda, M., Ichinose, S., Nikaido, T., & Tagami, J. (2015). The role of MDP in a bonding resin of a two-step self-etching adhesive system. *Dental Materials Journal*, 34(2), 227–233. <https://doi.org/10.4012/dmj.2014-205>
- Moda, M. D., Fagundes, T. C., Briso, A. L. F., & dos Santos, P. H. (2018). Analysis of the bond interface between self-adhesive resin cement to eroded dentin in vitro. *PLOS ONE*, 13(11), e0208024. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208024>
- Montagner, A. F., Sarkis-Onofre, R., Pereira-Cenci, T., & Cenci, M. S. (2014). MMP Inhibitors on Dentin Stability. *Journal of Dental Research*, 93(8), 733–743. <https://doi.org/10.1177/0022034514538046>
- Muratovska, I., Kitagawa, H., Hirose, N., Kitagawa, R., & Imazato, S. (2018). Antibacterial activity and dentin bonding ability of combined use of Clearfil SE Protect and sodium hypochlorite. *Dental Materials Journal*, 37(3), 460–464. <https://doi.org/10.4012/dmj.2017-294>
- Nakabayashi, N., Kojima, K., Matsuhara, E. (1982). Promotion of adhesion by infiltration monomers into tooth substrates. *Journal of Biomedical Materials Research.*, 16, 265–273.
- Nakabayashi, N., Nakamura, M., & Yasuda, N. (1991). Hybrid Layer as a Dentin-Bonding Mechanism. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 3(4), 133–138. <https://doi.org/10.1111/j.1708-8240.1991.tb00985.x>
- Neel, A. E., Aljabo, A., Strange, A., Ibrahim, S., Coathup, M., Young, A., Bozec, L., & Mudera, V. (2016). Demineralization-remineralization dynamics in teeth and bone. *International Journal of Nanomedicine*, Volume 11, 4743–4763. <https://doi.org/10.2147/IJN.S107624>
- Nikaido, T., Ichikawa, C., Li, N., Takagaki, T., Sadr, A., Yoshida, Y., Suzuki, K., & Tagami, J. (2011). Effect of functional monomers in all-in-one adhesive systems on formation of enamel/dentin acid-base resistant zone. *Dental Materials Journal*, 30(5), 576–582. <https://doi.org/10.4012/dmj.2010-214>

- Nikaido, T., Takagaki, T., Sato, T., Burrow, M. F., & Tagami, J. (2021). Fluoride-Releasing Self-Etch Adhesives Create Thick ABRZ at the Interface. *Bio-Medical Research International*, 2021, 1–5. <https://doi.org/10.1155/2021/9731280>
- Nikaido, T., Weerasinghe, D. D. S., Waidyasekera, K., Inoue, G., Foxton, R. M., & Tagami, J. (2009). Assessment of the nanostructure of acid–base resistant zone by the application of all-in-one adhesive systems: Super dentin formation. *Bio-Medical Materials and Engineering*, 19(2–3), 163–171. <https://doi.org/10.3233/BME-2009-0576>
- Oliver, W. C., & Pharr, G. M. (1992). An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *Journal of Materials Research*, 7(6), 1564–1583. <https://doi.org/10.1557/JMR.1992.1564>
- Ozel, E., Say, E. C., Yurdaguvan, H., & Soyman, M. (2010). One-year clinical evaluation of a two-step self-etch adhesive with and without additional enamel etching technique in cervical lesions. *Australian Dental Journal*, 55(2), 156–161. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2010.01218.x>
- Pashley, David H., Tay, F. R., Breschi, L., Tjäderhane, L., Carvalho, R. M., Carrilho, M., & Tezvergil-Mutluay, A. (2011). State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dental Materials*, 27(1), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2010.10.016>
- Pashley, David H, Sano, H., Ciucchi, B., Yoshiyama, M., & Carvalho, R. M. (1995). Adhesion testing of dentin bonding agents: A review. *Dental Materials*, 11(2), 117–125. [https://doi.org/10.1016/0109-5641\(95\)80046-8](https://doi.org/10.1016/0109-5641(95)80046-8)
- Pena, C., Rodrigues, J., Ely, C., Giannini, M., & Reis, A. (2016). Two-year Randomized Clinical Trial of Self-etching Adhesives and Selective Enamel Etching. *Operative Dentistry*, 41(3), 249–257. <https://doi.org/10.2341/15-130-C>
- Peumans, M., De Munck, J., Mine, A., & Van Meerbeek, B. (2014). Clinical effectiveness of contemporary adhesives for the restoration of non-cariou cervical lesions. A systematic review. *Dental Materials*, 30(10), 1089–1103. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2014.07.007>
- Peumans, M., De Munck, J., Van Landuyt, K. L., Poitevin, A., Lambrechts, P., & Van Meerbeek, B. (2010). Eight-year clinical evaluation of a 2-step self-etch adhesive with and without selective enamel etching. *Dental Materials*, 26(12), 1176–1184. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2010.08.190>
- Peumans, M., Kanumilli, P., De Munck, J., Van Landuyt, K., Lambrechts, P., & Van Meerbeek, B. (2005). Clinical effectiveness of contemporary adhesives: A systematic review of current clinical trials. *Dental Materials*,

21(9), 864–881. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2005.02.003>

- Ramos, T. M., Ramos-Oliveira, T. M., de Freitas, P. M., Azambuja, N., Esteves-Oliveira, M., Gutknecht, N., & de Paula Eduardo, C. (2013). Effects of Er:YAG and Er,Cr:YSGG laser irradiation on the adhesion to eroded dentin. *Lasers in Medical Science*, 30(1), 17–26. <https://doi.org/10.1007/s10103-013-1321-6>
- Salz, U., Zimmermann, J., Zeuner, F., & Moszner, N. (2005). Hydrolytic stability of self-etching adhesive systems. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 7(2), 107–116. <https://doi.org/10.3290/j.jad.a10282>
- Sano, H., Chowdhury, A. F. M. A., Saikaew, P., Matsumoto, M., Hoshika, S., & Yamauti, M. (2020). The microtensile bond strength test: Its historical background and application to bond testing. *Japanese Dental Science Review*, 56(1), 24–31. <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2019.10.001>
- Sano, H., Shono, T., Sonoda, H., Takatsu, T., Ciucchi, B., Carvalho, R., & Pashley, D. H. (1994). Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength — Evaluation of a micro-tensile bond test. *Dental Materials*, 10(4), 236–240. [https://doi.org/10.1016/0109-5641\(94\)90067-1](https://doi.org/10.1016/0109-5641(94)90067-1)
- Scaffa, P. M. C., Vidal, C. M. P., Barros, N., Gesteira, T. F., Carmona, A. K., Breschi, L., Pashley, D. H., Tjäderhane, L., Tersariol, I. L. S., Nascimento, F. D., & Carrilho, M. R. (2012). Chlorhexidine Inhibits the Activity of Dental Cysteine Cathepsins. *Journal of Dental Research*, 91(4), 420–425. <https://doi.org/10.1177/0022034511435329>
- Shibuya, K., Ohara, N., Ono, S., Matsuzaki, K., & Yoshiyama, M. (2019). Influence of 10-MDP concentration on the adhesion and physical properties of self-adhesive resin cements. *Restorative Dentistry & Endodontics*, 44(4), 1–10. <https://doi.org/10.5395/rde.2019.44.e45>
- Shimada, Y., Ichinose, S., Sadr, A., Burrow, M., & Tagami, J. (2009). Localization of matrix metalloproteinases (MMPs-2, 8, 9 and 20) in normal and carious dentine. *Australian Dental Journal*, 54(4), 347–354. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2009.01161.x>
- Shinohara, M. S., Yamauti, M., Inoue, G., Nikaido, T., Tagami, J., Giannini, M., & De Goes, M. F. (2006). Evaluation of Antibacterial and Fluoride-releasing Adhesive System on Dentin-Microtensile Bond Strength and Acid-base Challenge. *Dental Materials Journal*, 25(3), 545–552. <https://doi.org/10.4012/dmj.25.545>
- Siqueira, F. S. F., Cardenas, A. M., Ocampo, J. B., Hass, V., Bandeca, M. C., Gomes, J. C., Reis, A., & Loguercio, A. D. (2018). Bonding performance of universal adhesives to eroded dentin. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 20(2), 121–132. <https://doi.org/10.3290/j.jad.a40300>
- Spencer, P., Ye, Q., Park, J., Topp, E. M., Misra, A., Marangos, O., Wang, Y.,

- Bohaty, B. S., Singh, V., Sene, F., Eslick, J., Camarda, K., & Katz, J. L. (2010). Adhesive/Dentin Interface: The Weak Link in the Composite Restoration. *Annals of Biomedical Engineering*, 38(6), 1989–2003. <https://doi.org/10.1007/s10439-010-9969-6>
- Takahashi, S., Zhou, J., Wurihan, Shimomura, N., Kataoka, Y., Watanabe, C., Shibata, Y., Funatsu, T., Gao, P., & Miyazaki, T. (2021). High-resolution mechanical mapping of the adhesive–dentin interface: The effect of comonomers in 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 117(February), 104389. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2021.104389>
- Taube, F., Ylmén, R., Shchukarev, A., Nietzsche, S., & Norén, J. G. (2010). Morphological and chemical characterization of tooth enamel exposed to alkaline agents. *Journal of Dentistry*, 38(1), 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2009.09.006>
- Tay, F. R., & Pashley, D. H. (2004). Resin bonding to cervical sclerotic dentin: A review. *Journal of Dentistry*, 32(3), 173–196. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2003.10.009>
- Tezvergil-Mutluay, A., Agee, K. A., Uchiyama, T., Imazato, S., Mutluay, M. M., Cadenaro, M., Breschi, L., Nishitani, Y., Tay, F. R., & Pashley, D. H. (2011). The Inhibitory Effects of Quaternary Ammonium Methacrylates on Soluble and Matrix-bound MMPs. *Journal of Dental Research*, 90(4), 535–540. <https://doi.org/10.1177/0022034510389472>
- Tezvergil-Mutluay, Arzu, Agee, K. A., Mazzoni, A., Carvalho, R. M., Carrilho, M., Tersariol, I. L., Nascimento, F. D., Imazato, S., Tjäderhane, L., Breschi, L., Tay, F. R., & Pashley, D. H. (2015). Can quaternary ammonium methacrylates inhibit matrix MMPs and cathepsins? *Dental Materials*, 31(2), e25–e32. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2014.10.006>
- Tian, F., Wang, X., Huang, Q., Niu, L., Mitchell, J., Zhang, Z., Pranank, C., Zhang, L., Chen, J., Breshi, L., Pashley, D. H., & Tay, F. R. (2016). Effect of nanolayering of calcium salts of phosphoric acid ester monomers on the durability of resin-dentin bonds. *Acta Biomaterialia*, 38, 190–200. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.04.034>
- Torabinejad, M., Alexander, A., Vahdati, S. A., Grandhi, A., Baylink, D., & Shabahang, S. (2018). Effect of Residual Dental Pulp Tissue on Regeneration of Dentin-pulp Complex: An In Vivo Investigation. *Journal of Endodontics*, 44(12), 1796–1801. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.09.005>
- Tsuchiya, S., Nikaido, T., Sonoda, H., Foxton, Richard, M., & Tagami, J. (2004). Ultrastructure of the Dentin-Adhesive Interface after acid-base challenge. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 6(3), 183–190. PMID: 15536847

- Van Landuyt, K.L., Yoshida, Y., Hirata, I., Snauwaert, J., De Munck, J., Okazaki, M., Suzuki, K., Lambrechts, P., & Van Meerbeek, B. (2008). Influence of the Chemical Structure of Functional Monomers on Their Adhesive Performance. *Journal of Dental Research*, 87(8), 757–761. <https://doi.org/10.1177/154405910808700804>
- Van Meerbeek, B., Willems, G., Celis, J.P., Roos, J.R., Braem, M., Lambrechts, P., and G. V. (1993). Assessment by Nano-indentation of the Hardness and Elasticity of the Resin-Dentin Bonding Area. *Journal of Dentistry*, 72(10). <https://doi.org/10.1177/00220345930720101401>
- Van Meerbeek, B., Peumans, M., Poitevin, A., Mine, A., Van Ende, A., Neves, A., & De Munck, J. (2010). Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dental Materials*, 26(2), e100–e121. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2009.11.148>
- Van Meerbeek, B., Yoshihara, K., Yoshida, Y., Mine, A., J., D. M., & K.L., V. L. (2011). State of the art of self-etch adhesives. *Dental Materials*, 27(1), 17–28. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2010.10.023>
- Van Meerbeek, B., Yoshihara, K., Van Landuyt, K., Yoshida, Y., & Peumans, M. (2020). From Buonocore’s Pioneering Acid-Etch Technique to Self-Adhering Restoratives. A Status Perspective of Rapidly Advancing Dental Adhesive Technology. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 22(1), 7–34. <https://doi.org/10.3290/j.jad.a43994>
- Viana, Í., Alania, Y., Feitosa, S., Borges, A., Braga, R., & Scaramucci, T. (2020). Bioactive Materials Subjected to Erosion/Abrasion and Their Influence on Dental Tissues. *Operative Dentistry*, 350. <https://doi.org/10.2341/19-102-1>
- Visse, R., & Nagase, H. (2003). Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases. *Circulation Research*, 92(8), 827–839. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000070112.80711.3D>
- Waidyasekera, K., Nikaido, T., Weerasinghe, D. S., Ichinose, S., & Tagami, J. (2009). Reinforcement of dentin in self-etch adhesive technology: A new concept. *Journal of Dentistry*, 37(8), 604–609. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2009.03.021>
- Wang, L., Casas-Apayco, L. C., Hipólito, A. C., Dreibi, V. M., Giacomini, M. C., Bim Junior, O., Rios, D., & Magalhães, A. C. (2014). Effect of simulated intraoral erosion and/or abrasion effects on etch-and-rinse bonding to enamel. *American Journal of Dentistry*, 27(1), 29–34.
- Wang, L., D’Alpino, P. H. P., Lopes, L. G., & Pereira, J. C. (2003). Mechanical properties of dental restorative materials: relative contribution of laboratory tests. *Journal of Applied Oral Science*, 11(3), 162–167. <https://doi.org/10.1590/s1678-77572003000300002>

- Yoshida, Y., Nagakane, K., Fukuda, R., Nakayama, Y., Okazaki, M., Shintani, H., Inoue, S., Tagawa, Y., Suzuki, K., De Munck, J., & Van Meerbeek, B. (2004). Comparative Study on Adhesive Performance of Functional Monomers. *Journal of Dental Research*, 83(6), 454–458. <https://doi.org/10.1177/154405910408300604>
- Yoshihara, K., Yoshida, Y., Hayakawa, S., Nagaoka, N., Irie, M., Ogawa, T., Van Landuyt, K. L., Osaka, A., Suzuki, K., Minagi, S., & Van Meerbeek, B. (2011). Nanolayering of phosphoric acid ester monomer on enamel and dentin. *Acta Biomaterialia*, 7(8), 3187–3195. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.04.026>
- Zhang, J., Guo, X., Zhang, X., Wang, H., Zhu, J., Shi, Z., Zhu, S., & Cui, Z. (2020). Hydrolysis-resistant and stress-buffering bifunctional polyurethane adhesive for durable dental composite restoration. *Royal Society Open Science*, 7(7), 200457. <https://doi.org/10.1098/rsos.200457>
- Zhou, Z., Ge, X., Bian, M., Xu, T., Li, N., Lu, J., & Yu, J. (2020). Remineralization of dentin slices using casein phosphopeptide–amorphous calcium phosphate combined with sodium tripolyphosphate. *BioMedical Engineering OnLine*, 19(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s12938-020-0756-9>
- Zimmerli, B., De Munck, J., Lussi, A., Lambrechts, P., & Van Meerbeek, B. (2012). Long-term bonding to eroded dentin requires superficial bur preparation. *Clinical Oral Investigations*, 16(5), 1451–1461. <https://doi.org/10.1007/s00784-011-0650-8>

ANEXOS

Anexo I

Comissão de Ética EGAS MONIZ



Proc. Interno nº 938

Ex.ma Senhora
Madalena Belmar da Costa

Monte de Caparica, 28 de janeiro de 2021.

Ex.ma Senhora,

Em resposta ao Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado "**Análise da interface adesiva formada entre dentina erodida e um sistema adesivo funcional, no imediato e após envelhecimento**", foi aprovado por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz

Profª. Doutora Maria Fernanda de Mesquita

Anexo II



EGAS MONIZ

Declaração da Direção Clínica para cedência de dentes do BDH para realização do trabalho de projeto final do Mestrado Integrado de Medicina Dentária

Código | IMP.CDEM.04_01

IDENTIFICAÇÃO DO ESTUDANTE: Madalena de Castro Monteiro Belmar da Costa

TÍTULO DO TRABALHO: Análise da interface adesiva formada entre dentina erodida e um sistema adesivo funcional, no imediato e após envelhecimento.

Excelentíssima Professora Doutora Fernanda de Mesquita – Presidente da Comissão de Ética,

O(a) aluno(a) Madalena de Castro Monteiro Belmar da Costa pode utilizar dentes molares hígidos permanentes do Banco de Dentes Humanos (BDH) da Clínica Dentária Egas Moniz (CDEM).

Aguardo a aprovação da Comissão Científica e da Comissão de Ética, para cedência dos dentes.

Atenciosamente, com os melhores cumprimentos

Monte da Caparica, 20 de Novembro de 2020

Direção Clínica

Anexo III



Autorização para realização de trabalho de projeto final do Mestrado Integrado em Medicina Dentária no Biomaterials Lab

Declara-se que o aluno **Madalena de Castro Monteiro Belmar da Costa**

pode utilizar o Biomaterials Lab para realização da investigação intitulada “Análise da interface adesiva formada entre dentina erodida e um sistema adesivo funcional, no imediato e após envelhecimento”.

A utilização do laboratório somente poderá ser efetuada dentro do horário a estipular para cada projeto.

Monte da Caparica, 16 de Novembro de 2020

O Diretor do Biomaterials Lab
(Prof. Doutor Mário Polido)

Assinado por : **MÁRIO HUMBERTO DOS SANTOS**
CRUZ POLIDO
Num. de Identificação: B1053292871
Data: 2020.11.20 09:30:03+00'00'



Anexo IV



**Autorização para realização de trabalho de projeto final do Mestrado
Integrado em Medicina Dentária no Centro de Engenharia Mecânica
Materiais e Processos (CEMMPRE)**

Declara-se que a aluna Madalena de Castro Monteiro Belmar da Costa

pode utilizar as instalações do CEMMPRE, no Departamento de Engenharia Mecânica da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, para realização da investigação intitulada "Análise da interface adesiva formada entre dentina erodida e um sistema adesivo funcional, no imediato e após envelhecimento".

Coimbra, 3 de setembro de 2021



O Presidente do CEMMPRE

(Prof. Doutor Albano Cavaleiro)

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Albano Cavaleiro", is written over the printed name.

Anexo V

