UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
DISCIPLINA DE DENTÍSTICA

ESTUDO SOBRE O PAPEL DOS SOLVENTES NA PRODUÇÃO DE UNIÃO À DENTINA

Fernanda Cristina Pimentel Garcia

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru, da
Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para
obtenção do título de doutor em Odontologia, na área de
Dentística.

(EDIÇÃO REVISADA)

BAURU
2005

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
DISCIPLINA DE DENTÍSTICA

ESTUDO SOBRE O PAPEL DOS SOLVENTES NA PRODUÇÃO DE UNIÃO À DENTINA

Fernanda Cristina Pimentel Garcia

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru, da
Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para
obtenção do título de doutor em Odontologia, na área de
Dentística.

(EDIÇÃO REVISADA)

ORIENTADOR: Prof. Dr. Ricardo Marins de Carvalho

BAURU
2005

Garcia, F. C. P.

G165e Estudo sobre o papel dos solventes na produção de união à
dentina./ Fernanda Cristina Pimentel Garcia – Bauru, 2005.

174p ; il. ; 30 cm.

Tese, (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru. USP.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Marins de Carvalho

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação/tese, por processos fotocopiadores e/ou meios eletrônicos.

Assinatura do autor: _____

Data: ____/____/____

Dados Curriculares

Fernanda Cristina Pimentel Garcia

Nascimento	6 de Março de 1974
Naturalidade	Manhuaçu- MG
1993-1996	Curso de Odontologia- Universidade Federal de Juiz de Fora- UFJF
1998-1999	Curso de Especialização em Dentística Restauradora- Fundação Bauruense de Estudos Odontológicos- FUNBEO- USP
1999-2001	Curso de Pós-Graduação em Dentística Restauradora, em nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Bauru- USP
2001-2005	Curso de Pós-Graduação em Dentística Restauradora, em nível de Doutorado, na Faculdade de Odontologia de Bauru- USP
Associações	<ul style="list-style-type: none">• ABO- Associação Brasileira de Odontologia• ADM-Academic of Dental Materials• GBPD- Grupo Brasileiro de Professores de Dentística• GBMD- Grupo Brasileiro de Professores de Materiais Dentários• SBPqO- Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica• IADR- International Association for Dental Research

*“Se eu pudesse deixar algum presente a você,
deixaria aceso o sentimento de amor à vida dos seres humanos.
A consciência de aprender tudo o que nos foi ensinado pelo tempo afora.
Lembraria os erros que foram cometidos, como sinais
para que não mais se repetissem.
A capacidade de escolher novos rumos.
Deixaria para você, se pudesse, o respeito àquilo que é indispensável:
além do pão, o trabalho e a ação.
E, quando tudo mais faltasse, para você eu deixaria, se pudesse, um segredo. O de buscar no
interior de si mesmo a resposta para encontrar a saída”*

Mahatma Ghandi

Dedico este trabalho

A Deus,

“Peço a Deus, forças para as minhas tarefas, ousadia para olhar de frente o caminho, alegria que me ajude a levar a cabo o que almejo e um íntimo prazer em tudo que veja ou faça”.H.V.Dick,

Aos meus queridos pais José e Lúcia...

Vocês são o meu aconchego, o meu porto seguro.....Vocês são o meu caminho, a minha referência de vida. Obrigada pelo apoio incondicional, pela vida dedicada a tornar possível as minhas aspirações, Pelo amor, pela minha formação pessoal, por terem me tornado o que sou, com os princípios morais herdados de vocês. Por terem sempre acreditado na minha capacidade, não terem duvidado de mim um minuto sequer, por terem me dado a oportunidade de construir etapa por etapa a minha vida profissional, por terem sido o meu alicerce. Obrigada pela sensação de paz, conforto e carinho que a presença de vocês me proporciona.

E ao meu querido irmão Fernando...

Por trilhar comigo essa vitória, por ser meu exemplo de caráter, determinação, humanismo, fé e amor....você é meu grande amigo, irmão para todas as horas, meu conselheiro, confidente.

Obrigada por me apoiar sempre, você torna minha existência muito mais feliz.

Obrigada por tudo, Eu Amo Vocês.

Ao meu querido Júlio,

Fonte de inspiração de todos os dias da minha vida...meu apoio constante, obrigada por suportar minha ausência durante esse tempo, por caminhar ao meu lado..Obrigada por partilhar meus sonhos, pois sem sonhos, a vida não tem brilho; por me fazer estabelecer metas, pois sem metas, o sonho não tem alicerce, e por tornar meu sonho prioridade e realidade.....

“Cada qual sabe amar a seu modo; o modo pouco importa; o essencial é que saiba amar.” Machado de Assis

A vocês com todo meu carinho e eterna gratidão

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

“Para ser grande, sê inteiro: nada teu exagera ou exclui. Sê todo em cada coisa. Põe quanto és no mínimo que fazes. Assim em cada lago a lua toda brilha, porque alta vive” Ricardo Reis

Em especial eu agradeço ao Prof. Dr. Ricardo Marins de Carvalho,

Com você eu aprendi o real significado da verdadeira sabedoria, da força de vontade, da humildade, da generosidade e do caráter irrefutável.

Sinto-me honrada por ter sido orientada por você, obrigada pelos momentos enriquecedores, por ter me guiado em busca do meu próprio conhecimento. Obrigada por tudo o que me ensinou, por ter sido tão amigo, tão presente e por ter confiado na minha capacidade Obrigada por tudo o que me proporcionou.....tenho que agradecer eternamente a dádiva de hoje considerar-me parte integrante da sua equipe.....Obrigada de coração.....

“Nada lhe posso dar que já não existam em você mesmo. Não posso abrir-lhe outro mundo de imagens, além daquele que há em sua própria alma. Nada lhe posso dar a não ser a oportunidade, o impulso, a chave. Eu o ajudarei a tornar visível o seu próprio mundo, e isso é tudo” Hermann Hesse

Ao prof. Dr. David H. Pashley,

Obrigada pelas valiosas contribuições aos trabalhos realizados.

À minha família de Bauru,

Aqui encontrei uma mãe e irmãs de coração: Rosa, Linda e Ana. As palavras se tornam escassas para expressar o meu sentimento de afeto e gratidão. Por terem sido meu porto seguro, por me aconselharem, por terem se doado tanto, por terem sido única e ternamente meu lar. Obrigada pela paciência em me escutar, por cuidarem de mim e por se fazerem sempre presente todos os dias da minha vida. Deus colocou vocês no meu caminho. Obrigada pelos momentos maravilhosos que compartilhei com vocês. Vocês são únicas e inesquecíveis. Todos aqueles que encontramos profundamente formam-nos, modificam-nos e constroem-nos.

“Sigo em frente, com uma pequena ajuda dos meus amigos. Posso voar alto, com uma pequena ajuda dos meus amigos. Volto a tentar, com uma pequena ajuda dos meus amigos”. John Lennon-Paul McCartney

À minha querida amiga prof^a Teresa,

Quão acolhedora você é....com certeza meus dias se tornaram mais doces convivendo com você ... Você abriu sua casa, sua família e seu coração para que eu me sentisse segura e feliz...Com certeza nossas conversas ora científicas, ora revestidas do mais fino humor, serão meu guia , pois você representa para mim o exemplo perfeito de uma profissional dedicada com um dom raro da sinceridade e da amizade desprestenciosa; não esquecerei jamais a experiência magnânima de ter te conhecido e posso dizer sem a menor sombra de dúvida: obrigada por ser minha amiga.

À casa do forno,

Só quem passou pela casa do forno, sabe explicar o sentimento de união personificado em um ambiente. A casa do forno, representou uma escola de vida, onde sonhos foram traçados, trabalhos desenvolvidos, envoltos em um clima de ajuda mútua, de companheirismo e muita dedicação. Eu

agradeço a você “casa do forno”, por ter sido o palco da minha formação, por tudo que eu ali aprendi com todas as pessoas que ali estiveram presentes..... e por ter me feito conhecer pessoas que se tornaram amigos de verdade, cada um de uma maneira particular....

Ao Luiz, exemplo de dedicação, inteligência, amizade e bondade. Obrigada pelos conselhos, pelo apoio constante, por nunca ter se negado a ajudar.....a sua contribuição foi inegável para que eu realizasse a minha tese... o meu muito obrigada.

À tríade de pessoas muito especiais,

Lúcia, obrigada por me receber tão calorosamente, por me ensinar, por ajudar sem nada em troca, pelo carinho, por me oferecer o colo, o abraço na hora certa, por ter sido você. Pelo seu sorriso, sua simpatia, sua capacidade de querer tudo e a todos bem, por ter feito da casa do forno um lugar em que eu pudesse sonhar.

Marcela, Cella querida, o melhor da amizade é a inspiração espiritual que vem quando você descobre que alguém acredita e confia em você. Obrigada por ter acreditado em mim. Hoje posso dizer que a vida nos aproximou, nos tornou muito mais próximas, trocamos sentimentos e experiências que nos fizeram enxergar a nossa própria alma.

Safira, AMIGA Sá, você foi um presente na minha vida. Pela delícia da sua companhia, pelo seu afeto, pelas experiências trocadas, por tudo o que me ensinou. Os ganhos geralmente chegam através dos nossos desejos e merecimentos, posso me considerar uma pessoa privilegiada, pois tive a dádiva de conhecer você e ser sua AMIGA. Você é especial. Com você consegui aprender que nenhum caminho é longo demais quando um amigo nos acompanha.

“Se nossa amizade depende de coisas como o espaço e o tempo, se superarmos o espaço, restar-nos-á apenas um Aqui. Se superarmos o tempo, restar-nos-á apenas um Agora. Entre o Aqui e o Agora, não

*acreditas que poderemos voltar a nos ver umas quantas vezes?” Richard
Bach*

Aos amigos da turma de Doutorado,

*Paulo, Linda, Lawrence, Fábio, Dani, Celiane, Juan e Cláudia, juntamente aos colegas de
Materiais Dentários Rosa, Dani e Luísa, verdadeiramente fomos amigos e companheiros durante
todo o curso, obrigada pela experiência profissional trocada.*

Ao amigo D'alps,

*Você é um grande amigo, a sua experiência, a sua capacidade profissional e seu caráter, o faz uma
pessoa verdadeira e muito especial. Eu agradeço pelo seu apoio, por me fazer acreditar na minha
capacidade;*

*À Nádia que se tornou uma amiga singular, que compartilhou e me ajudou em uma parte do meu
trabalho de tese.....*

*Às minhas amigas queridas que compartilharam o mesmo teto comigo e dividiram todas as minhas
conquistas e me apoiaram com todo o carinho: Paty, Maytinha e Ana Paula e Amanda.*

A todos os que se fizeram presentes em minha vida,

*Angélica, Amélia, Sandra, Claudinha, Lú, Dani Rios, Jú, Débora, Tici, Kioshi, Estevan, Pati,
Thiaguinho, Nelsinho, Fabrício, Tálita, Flávia, Terezinha, Anuradha, Renato, Léo, Diego.*

Ao Heitor, por me ajudar na formatação da tese, desculpe pela correria.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Bauru, na pessoa da diretora Prof. Dra. Maria Fidela de Lima Navarro, do vice-diretor Luis Fernando Pegoraro e do coordenador da Pós-Graduação Prof. Dr. José Carlos Pereira.

Aos professores do Departamento de Dentística e Materiais Dentários: Prof. Dr. Ricardo Marins de Carvalho, Prof.^a Dr.^a Maria Teresa Atta, Prof.^a Dr.^a Maria Fidela de Lima Navarro, Prof. Dr. Eduardo Batista Franco, Prof. Dr. José Carlos Pereira, Prof. Dr. Carlos Eduardo Francischone, Prof. Dr. Aquira IshiKiriama, Prof. Dr. José Mondelli, Prof. Dr. Rafael Francisco Lia Mondelli, Prof. Dr. Paulo Amarante de Araújo, Prof. Dr. Paulo Afonso Silveira Francischone e Prof. Dr. César Antunes de Freitas, pela transmissão do saber e por participarem da minha formação profissional e humana..

Ao Prof. Dr. Rafael Francisco Lia Mondelli, por ter contribuído para minha capacitação como Mestre e me incentivado a estudar cada vez mais.

Ao Prof. Dr. José Mondelli pela sua contribuição para o desenvolvimento da ciência e pelo seu dinamismo à frente da Odontologia.

A todos os funcionários da Fob, em especial: Karen, Elô, Rita, Valéria, Ângela, Seu Nelson, Seu Dito, Júnior, Ziley, Zuleica, Sandrinha, Lô, Alcides, Telma e Ovídio; obrigada pelo carinho, vocês foram fundamentais para que eu conseguisse alcançar meu objetivo final.

À Neuza, com certeza o seu apoio amigo, a sua fé, o seu carinho e o seu “cafezinho” tornaram o CIP um lar acolhedor, o meu muito obrigada.

Aos funcionários da Pós-Graduação: Aninha, Cleusinha, Giane, Meg, Letícia, Soninha e Débora, pelo apoio e profissionalismo.

Ao pessoal do Xerox, por sua imensa simplicidade, sempre prontos a cooperar.

À FAPESP, pelo apoio à ciência, por financiar meus estudos nas diversas etapas realizadas. Espero ter retribuído ao investimento recebido.

Sumário

LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE TABELAS.....	xvii
LISTA DE SIGLAS.....	xx
RESUMO.....	xxiii
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	09
3. PROPOSIÇÃO.....	53
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	55
5. RESULTADOS.....	86
6. DISCUSSÃO.....	111
7. CONCLUSÕES.....	144
ANEXOS.....	146
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	149
ABSTRACT.....	172

Lista de Figuras e Gráficos

Figura 2.1- Organização estrutural do colágeno. A- Cadeia de aminoácidos montada com uma hélice para esquerda. B- a mesma cadeia com uma conformação secundária em espiral na direção oposta, para formar uma hélice composta. C- Combinação de três hélices para conferir um arranjo de tripla-hélice.....28

Figura 2.2- Ilustração esquemática das alterações dimensionais sofridas pelas fibrilas de colágeno. A) secagem moderada: as moléculas de água remanescem mantendo as fibrilas expandidas, B) secagem severa: a água é perdida por evaporação, culminando em perda dos espaços interfibrilares, C) aplicação de 35%HEMA EM 65% de água: re-expansão parcial das fibrilas colapsadas, D) colapso parcial das fibrilas, E) evaporação dos solventes, manutenção das fibrilas expandidas ou F) contraídas.....45

Figura 4.3.1.1 (A)- Esquema ilustrativo da obtenção dos discos de dentina (0,7mm), da porção médio-coronal dos dentes, e obtenção dos palitos de dentina após os cortes seriados e suas dimensões.....62

Figura 4.3.1.2 (A)- Esquema ilustrando o molde de silicona, aplicação de uma 1ª camada de resina composta e posterior adaptação do palito de dentina sobre a resina. Em seguida, toda depressão do molde era preenchida com as camadas adicionais de resina composta. Obtenção final do espécime em forma de haltere.....63

Figura 4.3.1.3 (A)- Ilustração esquemática demonstrando os palitos de dentina com as extremidades protegidas pela resina composta e posterior descalcificação em EDTA, deixando um segmento central livre de 4mm.....65

Figura 4.3.1.4 (A)- Ilustração esquemática demonstrando como os espécimes em forma de haltere eram presos nas garras de dupla preensão da máquina de ensaio, deixando livre a porção central de 4,0 mm. Este conjunto espécime/béquero era imerso nos respectivos solventes para execução do ensaio mecânico.....67

Figura 4.2.1.3 (B)- Ilustração esquemática demonstrando como as soluções experimentais foram pesadas. Cada cilindro foi preenchido com (50µl) da solução experimental. Foram realizadas 3 leituras para obtenção da média final.....74

Figura 4.2.1.4(B)-Ilustração esquemática demonstrando o protocolo de obtenção dos cubos de dentina através dos discos obtidos da porção médio-coronal dos dentes. Após a descalcificação, cada cubo era individualmente imerso em respectiva solução (5 ml) e a perda de massa era monitorada por 10 min.....76

Figura 4.3.2.1 (C)- Esquema ilustrativo da exposição da dentina médio-coronal, lavagem e secagem da superfície por 30 s, aplicação dos *primers* experimentais, construção da "coroa" de resina composta e obtenção dos palitos para o ensaio mecânico.....84

Gráfico 5.1.3 (A)- Alterações nos valores médios de EMax (MPa) da matriz de dentina desmineralizada em função do tempo de imersão (min) em solventes puros. Água serviu como controle e não induziu alterações no E.....90

Gráfico 5.2.3 (A)- Curvas representativas do relaxamento das tensões (MPa) em função do tempo (s), a 3% de deformação, da matriz de dentina desmineralizada induzida por diferentes solventes.....94

Gráfico 5.2.4 (A)- Curvas representativas do relaxamento das tensões (MPa) em função do tempo (s), a 5% de deformação, da matriz de dentina desmineralizada induzida por diferentes solventes.....94

Gráfico 5.2.5 (A)- Curvas representativas do relaxamento das tensões (MPa) em função do tempo (s), a 10% de deformação, da matriz de dentina desmineralizada induzida por diferentes solventes95

Gráfico 5.1.2 (B)- Média da perda de massa (%) para todas as soluções experimentais em função do tempo (s) para superfície livre. Valores representam a média de 3 leituras. Inserido: Perda de massa aos 60s.....98

Gráfico 5.1.3 (B)- Média da perda de massa (%) para todas as soluções experimentais em função do tempo (s) para os cubos de dentina desmineralizada. Valores representam a média de 5 leituras. Inserido: Perda de massa aos 60s.....99

Gráfico 5.2.1(C)- Relação linear entre RU e (δ_d) para todos os *primers* experimentais no tempo controle (24 hs), com exceção da mistura HEMA/água.....107

Gráfico 5.2.2(C)- Relação linear entre RU e (δ_p) para todos os *primers* experimentais no tempo controle (24 hs), com exceção da mistura HEMA/água.....108

Gráfico 5.2.3(C)- Relação linear entre RU e (δ_h) para todos os *primers* experimentais no tempo controle (24 hs) , com exceção da mistura HEMA/água.....109

Gráfico 5.2.4(C)- Relação linear entre RU e (δ_t) para todos os *primers* experimentais no tempo controle (24 hs), com exceção da mistura HEMA/água.....110

Lista de Tabelas e Quadros

Quadro 4 (A) : Composição, número do lote e fabricante dos materiais utilizados.....59

Quadro 4 (B): Parâmetro de solubilidade de Hansen⁵⁴ (δh), peso molecular (PM), concentração molar (moles/L) de diferentes solventes e monômero.....60

Tabela 5.1.1 (A)- Módulo de elasticidade máximo aparente (E Max) obtido em ciclos representativos e taxa de enrijecimento (MPa/min) da dentina desmineralizada induzida por diferentes solventes.....88

Tabela 5.1.2 (A)- Significância entre os valores médios de Emax obtidos para todas as soluções do ciclo 2 ao 7(por coluna). $A > B > C$ com $p < 0,05$90

Tabela 5.2.1 (A)- Porcentagem de relaxamento das tensões pelo tempo (%
seg⁻¹) da matriz de dentina desmineralizada, após a imersão
em solventes, sob diferentes deformações.....91

Tabela 5.2.2 (A)- Tempo necessário (s) para ocorrer uma queda de 50% no
valor de tensão em relação ao seu valor máximo (T1/2 s).....92

Tabela 5.1.1(B) – Taxa de evaporação e perda de massa (%) para cada
solução experimental nas 2 superfícies avaliadas.....97

Tabela 5.1.1 (C)- Valores de média (MPa) e desvio-padrão da resistência de
união de acordo com o brilho de superfície obtida com os
primers experimentais.....101

Tabela 5.2.1 (C)- Relação (%) entre número de espécimes obtidos e número
de espécimes fraturados antes do ensaio mecânico para
cada condição experimental.....102

Tabela 5.2.2 (C)- Observação do modo de fratura em todos os espécimes
testados de acordo com o grupo experimental e tempo de
armazenagem.....103

Tabela 5.2.3 (C)- Média e desvio-padrão das áreas da secção transversa (mm ²) e número de espécimes testados (N) para cada grupo experimental de acordo com o tempo de armazenagem.....	104
---	-----

Tabela 5.2.4 (C)- Média (MPa) e desvio-padrão da resistência de união de acordo com o tempo de armazenagem e os grupos experimentais.....	104
---	-----

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

$\overline{A/M}$	fratura tipo adesiva/mista
α	significância
δ_h	parâmetro de solubilidade para ligações do tipo pontes de hidrogênio
δ_d	parâmetro de solubilidade para ligações do tipo dispersiva
δ_p	parâmetro de solubilidade para ligações do tipo polar
δ_t	parâmetro de solubilidade para ligações total
$^{\circ}\text{C}$	graus celsius
%	porcentagem
% seg^{-1}	porcentagem de relaxamento das tensões pelo tempo (s)
% /min	porcentagem por minuto
4-META	4-metacriloxi-etil-trimetilato-anidrido
Bis-GMA	bisfenol-glicidil-metacrilato
CD	fratura do tipo coesiva em dentina
CR	fratura do tipo coesiva em resina
cm^2	centímetro quadrado
DP	desvio-padrão

EDTA	ácido etileno diamino tetra-acético
EMax	módulo de elasticidade máximo aparente
F/T	relação entre espécimes fraturados (F) e número total de espécimes obtidos (T)
g	grama
h	hora
HEMA	hidróxi-etil-metacrilato
H/A	HEMA/água
H/P	HEMA/propanol
H/AC	HEMA/acetona
H/E	HEMA/etanol
H/M	HEMA/metanol
(J/cm ³)	Joule por centímetro cúbico
Kgf	quilograma-força
m	meses
min	minutos
mg	miligrama
ml	mililitros
MPa	megapascal
MPa/min	taxa de enrijecimento
MMps	metaloendoproteínases
mm	milímetro

mm ²	milímetro quadrado
Moles/L	moles por litro
mW/cm ²	miliWatts por centímetro ao quadrado
n	número de espécimes
pH	potencial hidrogeniônico
P-H	pontes de hidrogênio
rpm	rotações por minuto
RU	resistência de união
RT	relaxamento das tensões
S	segundos
SiC	carbeto de silício
TEGDMA	triétilenoglicol de dimetacrilato
T	total de espécimes
T1/2s	tempo necessário para uma queda de 50% do valor de EMax
TBBO	tributil-n-burano
UR	umidade relativa
μm	micrômetro
μl	microlitro
X	número de vezes

RESUMO

Resumo

ESTUDO SOBRE O PAPEL DOS SOLVENTES NA PRODUÇÃO DE UNIÃO À DENTINA

O presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito das interações moleculares entre solventes e monômeros com a matriz de dentina desmineralizada, nas alterações das propriedades mecânicas, na taxa de evaporação e na resistência de união (RU). As propriedades mecânicas da dentina desmineralizada foram determinadas através da análise do módulo de elasticidade máximo aparente (EMax) e do relaxamento das tensões (RT). Os resultados permitiram concluir que o Emax foi dependente do tipo de solvente utilizado e do tempo. A taxa de enrijecimento da matriz desmineralizada foi maior para acetona e etanol, intermediária para o ar, metanol e propanol, menor para o HEMA e praticamente nenhuma para água. Da mesma forma, o RT dependeu da solução em que os espécimes foram equilibrados, previamente ao ensaio mecânico, e do tipo de deformação induzida ao espécime. De uma maneira geral, a resposta da matriz desmineralizada (RT) foi maior quando equilibrada em acetona, propanol e etanol, intermediária para HEMA, butanol e metanol e menor para água. A tensão máxima gerada com o tempo foi maior quanto maior a deformação inicial induzida (3-5-10%). A taxa de evaporação e a perda de

massa total (%) de misturas experimentais à base de 35%HEMA/65%solventes foram determinadas através da medida de perda de massa em função do tempo, a partir de duas superfícies distintas (cubos de dentina desmineralizados x superfície livre). A taxa de evaporação e a perda de massa foi maior para HEMA/acetona (H/AC) e HEMA/metanol (H/M), intermediária para HEMA/etanol (H/E) e menor para HEMA/água (H/A), sendo esses valores superiores a partir dos cubos de dentina. A RU foi determinada pelo emprego do teste de microtração. Para verificar a influência do aspecto de brilho superficial, foram aplicadas 2 ou 3 camadas de misturas experimentais (35%HEMA/65%solventes) sobre a dentina previamente condicionada. Os maiores valores de RU foram obtidos com a manutenção do brilho superficial para todas as soluções testadas (ou seja, com a aplicação de 3 camadas). A durabilidade da RU obtida com o uso das soluções experimentais (35%HEMA/65%solventes) aplicadas sobre dentina desmineralizada seca foi avaliada após 24hs , 6 meses ou 1 ano de armazenagem em água deionizada. O valor de RU sofreu uma redução com a referida armazenagem para a maioria das soluções testadas. Os maiores valores de RU foram obtidos para H/M e H/E em todos os períodos avaliados. Este estudo desenvolveu uma linha de raciocínio que empregou a teoria dos parâmetros de solubilidade para descrever e analisar as interações moleculares que ocorrem durante a execução de um procedimento adesivo à dentina, procurando estabelecer as relações de causa e efeito.

INTRODUÇÃO

1. Introdução

O anseio pelo desenvolvimento de um sistema adesivo que promova uma adesão eficiente e estável à dentina tem sido a força motriz de inúmeras pesquisas nas últimas décadas¹⁹. A partir de uma análise do processo evolutivo dos sistemas adesivos, percebe-se que os mais significantes aprimoramentos estão estritamente ligados a um melhor entendimento das características do substrato dentinário e como este reage aos procedimentos adesivos¹⁰².

A adesão ao esmalte é entendida como um procedimento seguro, reproduzível e estável. A estrutura sólida e homogênea do esmalte, aliada ao seu baixo conteúdo de água, permite que sistemas adesivos hidrófobos possam fluir pelas microporosidades criadas pelo condicionamento ácido, possibilitando uma união efetiva¹⁰³. A adesão ao esmalte é um procedimento de resultados previsíveis, pouco influenciado pelas variações de técnica e das características do substrato¹⁹.

A adesão à dentina, por outro lado, é altamente dependente das variações morfofuncionais deste substrato. A dentina é um substrato naturalmente heterogêneo, composto de mineral, de elementos orgânicos, quase que exclusivamente colágeno do tipo I e de água, presente, principalmente, no interior dos túbulos dentinários⁸⁶. As diferenças regionais

na densidade dos túbulos, permeabilidade dentinária, concentração de cálcio, presença de dentina esclerótica, afetada por cárie, variações na espessura da *smear layer*, etc., são fatores que, de uma forma ou de outra, determinam potenciais e significantes diferenças na qualidade da adesão sobre esse substrato⁸¹. A seqüência de passos operatórios necessários para produzir adesão à dentina resulta em alterações na sua composição química e nas propriedades físicas da matriz, o que pode influenciar na qualidade, na resistência e na durabilidade do processo adesivo^{20,21,80,102,108,109,111,175}.

Na maioria dos sistemas adesivos atuais, a superfície dentinária é descalcificada para remover a *smear layer* e a porção mineral da dentina subjacente, expondo as fibrilas de colágeno da matriz dentinária. Posteriormente, os monômeros resinosos são aplicados e infiltram-se nos túbulos dentinários e nos espaços interfibrilares, envolvendo as fibrilas de colágeno e resultando na formação da camada híbrida^{88,89,104,199}. Durante os eventos de formação da camada híbrida, alguns fatores podem influenciar decisivamente na habilidade dos monômeros de se infiltrarem pela zona desmineralizada. Após a desmineralização pelo ácido, os espaços interfibrilares, antes ocupados pelos minerais, devem ser mantidos para permitir a infiltração do agente adesivo. A água proveniente da lavagem, após o condicionamento ácido, ocupa esses espaços e é a responsável pela manutenção das fibrilas de colágeno em uma condição expandida, preservando a porosidade necessária para a difusão dos monômeros

^{21,51,66,67,102,104}. A água é um solvente com alta capacidade de formar pontes de hidrogênio (P-H) e pequeno peso molecular (ca. 18 g/mol), o que lhe confere a possibilidade de atingir a mais alta concentração química do que qualquer outro solvente (55.6 moles/l). As moléculas de água se apresentam, geralmente, em forma de aglomerados, unidas entre si por pontes de hidrogênio. Quando está presente nos espaços interfibrilares, forma pontes de hidrogênio com qualquer molécula das fibrilas de colágeno, prevenindo assim a formação de P-H entre os peptídeos das fibrilas de colágeno⁷⁷. Se a dentina for vigorosamente seca com jatos de ar, a camada de dentina desmineralizada sofrerá uma contração pela remoção da água dos espaços²¹. Uma desidratação maior pode causar a perda de água dos espaços entre as microfibrilas e determinar uma contração adicional da própria fibrila de colágeno^{21,40}. Com a contração, as cadeias polipeptídeas do colágeno se aproximam e podem formar uma série de associações moleculares, que não eram possíveis na presença de água. Grupos capazes de formar P-H entre os peptídeos, evento que não ocorreria devido à formação preferencial de P-H com a água, podem, então, formar essas ligações entre si. As forças geradas pela atração molecular entre peptídeos estabilizam a estrutura da matriz de colágeno desidratada e aumentam o seu módulo de elasticidade^{46,80,111,165}. Se a dentina desmineralizada e desidratada for hidratada, a água irá romper as P-H formadas entre os peptídeos e reexpandir a matriz. Entretanto, se aplicarmos sobre a dentina desmineralizada

um solvente que seja menos capaz do que a água em se associar com o colágeno, esse solvente terá menos sucesso ao competir com as P-H formadas entre os peptídeos do colágeno e a matriz pode não re-expandir-se²² ou expandir-se parcialmente¹⁰⁹. A não expansão ou expansão parcial da matriz de dentina desmineralizada resulta em uma redução dos espaços interfibrilares, dificultando a penetração dos monômeros resinosos, ou *primers*, na superfície dentinária. Assim, o colapso (contração) ou expansão parcial da dentina desmineralizada interfere com a ideal infiltração do monômero adesivo^{21,93,108,143} e pode resultar em comprometimento da qualidade da união^{23,136}.

Embora existam diversas maneiras de categorizar os solventes em relação às suas capacidades de formar pontes de hidrogênio^{30,48}, o emprego dos valores de parâmetro de solubilidade para forças de formação de P-H oferece um método conveniente⁵⁴ para essa classificação. Todos os solventes e monômeros comumente empregados nos sistemas adesivos apresentam um parâmetro de solubilidade menor do que o da água^{5,9,83} portanto, espera-se que, quando empregados para substituir a água nos espaços interfibrilares, em uma técnica úmida de adesão, causem uma contração das fibrilas e dos espaços entre elas. Por outro lado, quando aplicados sobre uma dentina desmineralizada desidratada, somente produzirão re-expansão se seu parâmetro de solubilidade for maior do que o calculado para ligações intermoleculares entre os peptídeos das fibrilas de colágeno⁸³. Empregando

esses conceitos, PASHLEY *et al.*¹⁰⁹,2001, ranquearam diferentes solventes anidros em relação às suas capacidades de re-expandir a matriz de dentina desmineralizada e desidratada. Neste estudo, todos os solventes com parâmetro de solubilidade para formação de P-H superior a $19 \text{ (J/cm}^3\text{)}^{1/2}$ foram capazes de re-expandir a matriz. Dentre esses, aqueles com maiores valores de parâmetro de solubilidade, particularmente o etanol e o metanol, induziram uma re-expansão volumétrica semelhante à obtida pela água, embora em menor velocidade.

Considerando que um dos principais mecanismos de degradação de interfaces adesivas ao longo do tempo esteja relacionado com a ação hidrolítica dos fluidos orais sobre os monômeros resinosos hidrofílicos que compõem a camada híbrida^{4,14,17,18,24,32,52,55,57,58,59,60,122,130,132,137} a possibilidade de mantermos a matriz de dentina desmineralizada expandida por solventes anidros é interessante. Nessas condições, monômeros resinosos hidrofóbicos poderiam ser empregados para a formação da camada híbrida, conferindo a esta menor susceptibilidade à absorção de água e, conseqüentemente, maior probabilidade de resistir à ação hidrolítica no meio bucal. Como visto anteriormente, não somente a água é capaz de re-expandir as fibrilas de colágeno colapsadas após a secagem com ar, mas alguns solventes anidros têm se mostrado eficazes para re-expandir a matriz de dentina desmineralizada, a uma condição semelhante à obtida com a água^{25,35,110}.

Outro aspecto a ser considerado quando da utilização dos sistemas adesivos é a evaporação dos solventes nos *primers* e sua provável interação com a matriz de dentina desmineralizada ³⁵. Embora alguns solventes sejam capazes de re-expandir a dentina colapsada, ao evaporarem, podem provocar uma nova contração da matriz. Em decorrência disso, seria interessante que os *primers* à base de monômeros e solventes fossem capazes de expandir a matriz de dentina desmineralizada e, ao mesmo tempo, conseguissem mantê-la nesse estado expandido após a evaporação dos solventes. Assim, uma adequada combinação de solvente e monômero poderia re-expandir a matriz colapsada e enrijecê-la em uma condição expandida, a qual seria mantida mesmo após a evaporação do solvente.

Pelo exposto acima, fica evidente o papel que as interações moleculares entre os solventes e os polipeptídeos das fibrilas de colágeno desempenham na determinação das alterações dimensionais e, portanto, nas propriedades mecânicas da dentina desmineralizada. A questão que resta a ser esclarecida é qual a influência que tais eventos podem ter na qualidade final de adesão? O presente estudo é uma extensão dessa linha de investigação, no qual depositamos expectativas de poder melhor entender os fenômenos que regem os mecanismos de adesão à dentina, possibilitando a confecção de restaurações adesivas mais duradouras.

O presente delineamento experimental foi elaborado contendo muitas variáveis em estudo. Entretanto, todas essas variáveis focaram o objetivo de

investigar a ação de solventes, monômeros e misturas de ambos nas propriedades mecânicas e no estabelecimento de uniões à dentina. Portanto, os tópicos estabelecidos neste estudo foram compilados nos seguintes temas principais:

- Relação entre solventes e as propriedades mecânicas;
- Relação entre os solventes e taxa de evaporação;
- Relação entre os solventes e a resistência de união (RU).

REVISÃO

da Literatura

2. Revisão da Literatura

Este capítulo tem como objetivo oferecer subsídios para o entendimento do substrato dentinário como um tecido biologicamente ativo, com o potencial de interagir com praticamente todas as soluções empregadas durante um procedimento adesivo.

O entendimento do processo adesivo é caracterizado por uma interação entre os substratos dentários, o agente de união, o material restaurador e do próprio operador¹²⁹. Há uma grande diversidade de estudos na literatura que visam a uma melhor compreensão das características morfológicas e fisiológicas do substrato dentinário, de suas propriedades mecânicas e físicas, a fim de correlacioná-las com uma melhor performance dos sistemas adesivos²⁰. O conhecimento das peculiaridades apresentadas pela dentina permite novos avanços no desenvolvimento dos materiais, tornando-os mais compatíveis e deste modo, possibilitando a confecção de restaurações adesivas mais duradouras⁸¹.

Dessa forma, a revisão de literatura do presente estudo tem por finalidade sumarizar, em tópicos, os principais aspectos relacionados à dentina, bem como as interações dos solventes e monômeros com a matriz de dentina desmineralizada no que tange às propriedades mecânicas e a durabilidade da união.

1-Dentina:

Embora a técnica do condicionamento ácido preconizada por BUONOCORE¹², 1955, obteve êxito com os procedimentos adesivos em esmalte, a mesma performance, porém, não foi obtida em dentina. NAKABAYASHI, KOJIMA, MASUHARA⁸⁹, em 1982, foram os primeiros a reportar a obtenção de uma adesão favorável para o substrato dentinário, sendo que neste estudo estabeleceu-se uma evidência clara da existência de uma diferença na otimização do tempo de condicionamento ácido para os diferentes substratos. Este raciocínio nos demonstra que, entre outros fatores, as diferenças estruturais, morfológicas e fisiológicas entre o esmalte e a dentina desempenham um papel crucial na qualidade adesiva aos materiais resinosos. Por outro lado, a dificuldade de se obter uma efetiva adesão à dentina também remanesce ao longo do tempo, a despeito da evolução dos sistemas adesivos observada atualmente⁴⁴.

2 -Dentina: formação, composição, morfologia e propriedades mecânicas:

A dentina é formada por células denominadas odontoblastos, que se diferenciam a partir de células ectomesenquimais da papila dentária, sob a influência organizadora das células do epitélio dentário interno, durante a formação do germe dentário. Os odontoblastos produzem uma matriz orgânica extracelular que, uma vez mineralizada, passa a ser denominada

dentina. Essa matriz orgânica é basicamente formada por colágeno tipo I, que é apresentado de maneira fibrilar e praticamente insolúvel. Sua formação ocorre de maneira desorganizada, sem uma orientação pré-estabelecida. Muitos outros componentes orgânicos não colagênicos como fosforina, sialoproteína dentinária e glicosaminoglicanas também são encontrados, porém em menor concentração¹⁵³. A porção mineral da dentina é constituída de cristalitos de hidroxiapatita menores e com orientação menos sistemática do que aqueles encontrados em esmalte⁸¹.

Em relação à sua composição, a dentina é constituída por 70% de matéria inorgânica, 18% de matéria orgânica e 12% de água (em peso). Devido à alta densidade de sua constituição mineral, de 30 a 50 % do seu volume são ocupados por matéria orgânica, conferindo a água 20 % do volume total ocupado⁸⁶. Mais importante do que considerar os percentuais médios de composição é compreender que as características morfofuncionais da dentina variam grandemente de acordo com a região e o tratamento a que é submetida²⁰. Ao desmineralizarmos a dentina, a concentração de água aumenta significativamente cerca de 50 a 70% em volume e isso tem uma implicação direta nas suas propriedades mecânicas e no processo adesivo¹⁰³.

Morfologicamente a dentina é constituída por túbulos dentinários distribuídos de maneira radial a partir da câmara pulpar até a junção amelo-dentinária, com a forma de um cone. O diâmetro de cada túbulo varia entre 1-3 μm , reduzindo seu calibre em direção à junção amelo-dentinária, devido

ao tempo de permanência sob ação mineralizante dos odontoblastos. Esta dentina altamente mineralizada é denominada peritubular. Em média, são encontrados 30.000 túbulos por mm^2 , sendo este valor crescente em direção à polpa. Em condições normais, os túbulos dentinários encontram-se preenchidos por fluido tissular proveniente da polpa dentária e prolongamentos citoplasmáticos dos odontoblastos, responsáveis pelo mecanismo hidrodinâmico de transmissão de estímulos⁸⁸.

A dentina intertubular, localizada entre os túbulos dentinários, é constituída por abundante conteúdo orgânico. Quanto maior a proximidade da junção dentina-esmalte, menor será a quantidade de túbulos dentinários por área delimitada, resultando em uma maior superfície de dentina intertubular. A disposição e formato dos túbulos dentinários determina diferenças significantes entre as regiões da dentina. Na proximidade da polpa encontra-se uma dentina predominantemente peritubular, com grande percentual de túbulos. Já na superfície (de 3.1 a 3.5 mm da polpa), a dentina intertubular ocupa 96.2% da superfície^{42,88}. Esta arquitetura induz variações no tamanho e número dos túbulos bem como na quantidade de dentina intertubular, o que reflete na resistência coesiva da dentina, atuando como um fator determinante na qualidade da interface adesiva obtida com os sistemas adesivos^{102,166}.

A dentina pode ser classificada de acordo com a sua localização, estrutura, características da matriz e modificações que sofre em resposta a

diferentes estímulos. As variações morfológicas mais encontradas em dentina são: dentina esclerótica, dentina terciária reacional, dentina terciária reparativa e a dentina afetada por cárie. Todas essas variações regionais relacionadas à atividade fisiológica ou na presença de cárie refletem em um substrato com características complexas e individuais, de acordo com a constituição e disposição dos túbulos, o que pode determinar alterações significantes nas diversas propriedades desse substrato^{34,170}. As propriedades mecânicas da dentina têm sido atribuídas principalmente à densidade das partículas minerais⁸⁰, a quantidade de dentina intertubular e/ou densidade dos túbulos²⁵. Estimativas da densidade e orientação dos túbulos, espessura da dentina peritubular, dentina superficial profunda, quantidade de dentina intertubular, conteúdo mineral, dentre outros, e a sua relação nas propriedades mecânicas e na obtenção da hibridização do substrato dentinário com os materiais resinosos, têm sido correntemente estudadas na literatura^{25,47,71,97,101,166}. OGATA *et al.*⁹⁷, 2001, verificaram a influência da direção dos túbulos dentinários na resistência de união de sistemas adesivos simplificados à dentina. Neste estudo, os autores concluíram que a resistência de união foi maior quando os túbulos dentinários eram mantidos perpendiculares à interface adesiva em relação a sua manutenção paralela, sendo este achado ratificado por outros autores^{82,166}. Seguindo esta linha de raciocínio, CARVALHO *et al.*²⁵, 2001, verificaram a resistência máxima à tração de espécimes de dentina mineralizada de acordo com a direção da

aplicação da força de tração em relação aos túbulos dentinários e de acordo com a densidade dos mesmos. Os autores concluíram ser essa propriedade dependente da direção da força aplicada, mas não da densidade dos túbulos na área de fratura. Os autores atribuíram ao maior valor da resistência verificada, quando da aplicação da força perpendicular à orientação dos túbulos, a uma melhor dissipação do estresse de tensão originado durante o teste; indicando que diferentes métodos de aplicação das forças levam às diferenças na distribuição de estresse na interface adesiva. Estas, entre outras, são características que desempenham um papel fundamental no entendimento das propriedades mecânicas do substrato dentinário.

A dentina é considerada um exemplo de material visco-elástico, pois apresenta propriedades mecânicas que variam em função do tempo^{76,112}. Um bom exemplo deste fenômeno é o relaxamento que a dentina sofre quando mantida em tensão por um determinado tempo. SASAKI *et al.*¹³³, 1993, compararam a relação entre tensão e relaxamento de colágeno de osso e colágeno de dentina e observaram que o colágeno do osso apresentou um relaxamento acentuadamente maior que o da dentina. Por sua vez, o módulo de elasticidade de um material visco-elástico é geralmente determinado na porção mais linear da curva que representa a tensão em função da deformação. Essa relação contudo não é homogênea, e sim, apresenta a forma de uma curva em J¹⁶⁸. Isto indica que a proporcionalidade entre tensão e deformação é pequena no começo do esforço e aumenta, em

função de uma maior deformação, até atingir uma relação linear. Neste momento o material está em tensão máxima e corre-se o risco de se atingir o limite de proporcionalidade e, conseqüentemente, de se causar uma deformação permanente ou destruição do material.

O trabalho de CARVALHO *et al.*²³, 1999, chamou a atenção para o fato de que toda a variabilidade na composição da dentina determina diferenças regionais para obtenção de suas propriedades mecânicas. Uma maior ou menor concentração de colágeno, por exemplo, pode alterar não só o processo adesivo em si, mas também a sua estabilidade em função do tempo. Como conclusão, os autores sugerem que deveria ser dada uma maior ênfase ao estudo das propriedades mecânicas da dentina frente aos procedimentos restauradores adesivos. Isto contribuiria sobremaneira para o entendimento do processo adesivo em si e traria conhecimento para o desenvolvimento de novos materiais adesivos que fossem menos sensíveis às variações do substrato.

3-Permeabilidade e hibridização do substrato dentinário:

As características na composição da dentina se modificam quando submetida ao condicionamento ácido, típico dos procedimentos adesivos, implicando em alterações significantes da permeabilidade, a qual sempre se mostra aumentada após a desmineralização. Estas variações na

permeabilidade também se refletem diretamente na resultante adesão de sistemas adesivos à dentina ⁴⁷.

Ao levarmos em conta o raciocínio de que a dentina mineralizada sadia é uma estrutura que oferece resistência parcial à permeação de substâncias, o que significa pensar que sua permeabilidade está restrita, primordialmente, à presença dos túbulos dentinários. Um fator adicional que compromete a permeabilidade da dentina é a presença da camada de esfregaço dentinário ou *smear layer*, que é resultante de remanescentes do substrato seccionado, sangue, saliva, bactérias, fragmentos do abrasivo, óleo, que se ligam à dentina intertubular e penetram nos túbulos dentinários, formando os *smear plugs*. A espessura da *smear layer* pode variar de 1 a 5 µm. Camadas mais espessas são criadas quando o procedimento de corte/abrasão é realizado sem refrigeração com água, ou quando são utilizadas pontas de diamante ao invés de instrumentos rotatórios de aço ou carbeto de tungstênio¹⁰⁰.

Ao considerarmos apenas os fatores ligados ao substrato (morfologia, composição da dentina e presença de *smear layer*), já podemos prever a dificuldade de estabelecer uma área de união, com característica homogênea, entre material e dentina. A presença de *smear layer* reduz a permeabilidade e a capacidade de difusão dos monômeros presentes nos sistemas adesivos convencionais¹⁵⁵. Para uma hibridização adequada é necessário aumentar a porosidade da dentina intertubular, liberando os

espaços preenchidos por hidroxiapatita. Por muito tempo acreditou-se que a *smear layer* deveria ser mantida para evitar que os tecidos vitais do dente fossem protegidos da agressividade dos materiais¹². Porém, a adesão conseguida pelos sistemas adesivos à *smear layer* era baixa e a durabilidade da adesão era comprometida²⁸. Dessa forma, os estudos se focaram para o estabelecimento dos efeitos das substâncias sobre a dentina¹¹ e no estabelecimento da adesão direta a esse substrato com a técnica do condicionamento ácido total³⁹. Uma preocupação em relação às soluções ácidas aplicadas sobre a dentina residiu no fato de que o condicionamento ácido induz profundas mudanças na composição química da dentina e nas propriedades físicas da matriz desmineralizada, o que pode influenciar na qualidade da interface adesiva obtida, sua resistência e durabilidade¹⁰². Estas características resultam em alterações significantes no comportamento mecânico desse substrato. Nesse aspecto, existe uma preocupação com relação à possível desnaturação das proteínas colagênicas em decorrência do uso dos ácidos, o que poderia gerar uma imediata e a longo prazo modificação das propriedades do colágeno exposto¹²⁶. Entretanto, algumas das propriedades mecânicas originais da dentina podem ser recuperadas, ou mesmo melhoradas, se o componente mineral perdido durante o condicionamento ácido for repostado pela resina durante a formação da camada híbrida¹²⁸.

A técnica do condicionamento ácido para remoção da *smear layer* foi amplamente difundida e a partir da década de 80 tornou-se muito utilizada, pois, nessa época, o provável potencial agressivo dos ácidos sobre a dentina foi questionado¹⁴⁰. Para os sistemas adesivos dentinários convencionais (preconizam o condicionamento ácido prévio da dentina, lavagem da superfície, secagem e aplicação do *primer*/adesivo), a remoção da *smear layer* se faz concomitantemente ao condicionamento ácido⁸⁸. O condicionamento ácido, além de remover a *smear layer*, ao eliminar o conteúdo mineral da zona mais superficial (3 a 8 μm), reduzindo o conteúdo de hidroxiapatita das camadas subjacentes, amplia o diâmetro dos túbulos, aumentando a permeabilidade da dentina e expondo uma trama de fibrilas de colágeno. Porém, o diâmetro dos túbulos diminui durante períodos prolongados de desmineralização, o que levaria a uma diminuição da permeabilidade dentinária³.

Tais alterações da superfície dentinária resultam em uma estrutura com menor energia livre de superfície, ou seja, o substrato fica menos suscetível para interagir com os monômeros resinosos hidrofóbicos de alta tensão superficial. Para contornar essa situação indesejável, foram desenvolvidas soluções compostas por monômeros hidrofílicos que possibilitam uma maior interação entre as fibrilas de colágeno e a resina fluida hidrofóbica a ser aplicada^{87,88}.

Pelo exposto acima, poderia ser creditado somente ao aumento da permeabilidade dentinária, conseguida pela desmineralização, o estabelecimento de uma hibridização ideal. Porém, outros fatores estão diretamente envolvidos no processo adesivo. A umidade residual do substrato dentinário tem um papel imprescindível na infiltração dos monômeros resinosos na dentina condicionada. É fundamental que, após a desmineralização com ácido, as fibrilas de colágeno se mantenham expandidas, preservando os espaços interfibrilares necessários para a permeação dos monômeros resinosos presentes nos sistemas adesivos. A infiltração dos monômeros resinosos é otimizada através do uso da técnica úmida de adesão^{50,66,67}, que implica na permanência de certa quantidade de água previamente à aplicação do agente de união. Portanto, a água apresenta papel fundamental na manutenção das fibrilas de colágeno em uma condição expandida, pois é capaz de romper as pontes de Hidrogênio (P-H) formadas entre os polipeptídios das fibrilas^{21,104}.

Os sistemas adesivos podem se comportar de maneira diferente frente à umidade do substrato^{121,145}. Adesivos à base de acetona parecem ser mais sensíveis ao substrato seco dos aqueles à base de água⁶⁵. Entretanto, adesivos à base de água e álcool demonstraram ser menos sensíveis à variação da umidade¹¹⁹. Embora a presença de água seja fundamental para o estabelecimento da união, paradoxalmente sua permanência em excesso, ou *overwet*^{143,144,149}, durante a aplicação dos monômeros resinosos, pode

gerar uma competição física que pode comprometer a ideal infiltração dos monômeros resinosos nos espaços interfibrilares. Adicionalmente, a presença de água pode promover a diluição de alguns monômeros resinosos, provocando a emulsificação e separação dos seus componentes e resultando, ao final, em um selamento incompleto da dentina¹⁴⁴. Portanto, a forma como essa água é removida após o condicionamento ácido torna-se de interesse para vários estudos na literatura, demonstrando uma dificuldade em padronizar uma técnica capaz de manter a umidade ideal e uniforme em toda superfície condicionada. Uma das técnicas mais indicadas pelos fabricantes e mais referenciadas na literatura é o jato de ar⁶⁸. As bolinhas de algodão e filtros de papel absorvente quando usados segundo critérios sugeridos pelos autores são opções clínicas bastante viáveis na remoção do excesso de água de modo mais homogêneo e padronizado¹²⁰. Por outro lado, outro aspecto indesejado é a secagem excessiva da superfície desmineralizada, ou *overdry*^{143,148}, que implica em uma superfície desidratada, caracterizada por um colapso das fibrilas de colágeno e, por sua vez, pouco suscetível à infiltração dos monômeros resinosos na zona desmineralizada. A estrutura da dentina desmineralizada mantida seca é muito diferente quando hidratada, e essas características provocam mudanças estruturais que interferem na permeabilidade da matriz aos monômeros resinosos^{89,90,102}.

Para a otimização da técnica de adesão, o uso de *primers* associado ao emprego dos adesivos dentinários tem contribuído para promover um aumento na resistência de união e performance clínica dos materiais^{69,87}. NISHIYAMA *et al.*⁹⁴, 2003, sugerem que o principal mecanismo de adesão não se baseia somente num embricamento micromecânico da resina no interior das fibrilas expostas pelo condicionamento. Os autores consideram crucial a ação do *primer* no estabelecimento da adesão da resina à fibrila. Esta união pode ser explicada pela ligação do tipo P-H estabelecida pelo grupamento éster-carbonil presente no monômero HEMA e o grupamento ácido carboxílico, não dissociado, presente na fibrila de colágeno. Essa interação do HEMA com as fibrilas de colágeno também foi demonstrada previamente por Xu *et al.*¹⁶⁹.

Os *primers* apresentam em sua composição os solventes orgânicos, nos quais são adicionados monômeros hidrofílicos, que têm a função de deslocar a água presente entre as fibrilas de colágeno, permitindo a infiltração dos monômeros resinosos. A remoção da água se faz por um processo de desidratação química, liderada pelos solventes anidros contidos nos sistemas adesivos¹⁹. Quando aplicado sobre a superfície úmida da dentina, os solventes rapidamente se misturam com a água e carregam para a intimidade da matriz os monômeros hidrofílicos. Após a saturação da superfície, a mistura de solvente com água será perdida por evaporação, desde que lhe seja permitido o tempo necessário para que isso ocorra.

Basicamente três tipos de solventes são empregados na composição dos *primers*: etanol, acetona e água¹¹⁸. A escolha do tipo de solvente a ser empregado depende freqüentemente da solubilidade dos mesmos nos monômeros resinosos. Sistemas que empregam BPDM (bisfenil dimetacrilato) ou 4-META são solúveis em etanol e acetona, mas não em água. O monômero mais comumente empregado nos adesivos atuais é o HEMA (2-Hidroxi-etil-metacrilato) que é solúvel nos três solventes, embora seja mais freqüentemente misturado à água⁶⁹. Os solventes são responsáveis pelo deslocamento do fluido, penetram nas microporosidades criadas, participam na evaporação da água e deixam os monômeros hidrofílicos em contato com as fibrilas de colágeno. Quando há a polimerização dos monômeros, estes envolvem as fibrilas formando a camada híbrida ou zona de interdifusão resinosa⁸⁹.

Após a sua função de carrear os monômeros resinosos nos espaços interfibrilares, os solventes devem ser evaporados, pois a permanência de solventes residuais interfere com a ideal polimerização dos sistemas adesivos¹³¹. A taxa (velocidade) de evaporação de qualquer substância é determinada por uma propriedade dos líquidos denominada de pressão de vapor. Essa propriedade está diretamente relacionada com uma maior ou menor capacidade do solvente em deslocar a água presente entre as fibrilas de colágeno e de sua permanência na superfície dentinária. Para qualquer substância pura ou misturas, a taxa de evaporação será maior quanto maior

for sua pressão de vapor, assim, líquidos que evaporam mais rapidamente, ou seja, são mais voláteis, têm uma pressão de vapor maior. Vários são os fatores que podem alterar a taxa de evaporação de diferentes substâncias, entre eles, o mais comum é a temperatura. Em uma temperatura constante, substâncias simples mantêm sua taxa de evaporação e pressão de vapor constante ao longo do tempo necessário para a completa evaporação. Clinicamente, a mistura de diferentes soluções determinará um novo valor de pressão de vapor. Este é proporcional ao volume de cada agente. Um determinado volume d'água terá sua pressão de vapor elevada quando adicionado certa quantidade de um solvente com alto valor de pressão de vapor, favorecendo a evaporação da solução em um menor intervalo de tempo. Este fenômeno ocorre durante a aplicação de sistemas adesivos sobre a dentina úmida. Os solventes orgânicos se misturam à água e permitem uma maior evaporação nos períodos imediatos à sua aplicação. A concentração de monômeros resinosos aumenta de acordo com a redução do volume ocupado pela água, devido aos baixos valores de pressão de vapor dos primeiros. Entretanto, o aumento gradual da concentração dos monômeros reduz a pressão de vapor de toda a mistura, impedindo a evaporação total da água dentro do tempo clínico adequado, como demonstrado por PASHLEY *et al.*¹¹⁴. Independente do tipo de solvente, a taxa de evaporação é muito maior nos períodos iniciais, devido ao aumento da concentração proporcional de HEMA ou outros monômeros na mistura ao

longo do tempo. Um tempo apropriado para a máxima evaporação do solvente é de fundamental importância na qualidade final da adesão. Estudos recentes, entretanto, indicam que é praticamente impossível eliminar-se todo o solvente e água residuais dos sistemas adesivos nas condições clínicas de aplicação¹⁷³.

De acordo com o exposto acima, considerando os mecanismos de adesão conhecidos, pode-se estimar a contribuição para a adesão dos prolongamentos de resina dentro dos túbulos, formação da camada híbrida pela infiltração dos monômeros na dentina intertubular e adesão de superfície nas diferentes profundidades¹⁰⁵. Porém, este modelo teórico assume que todos os fenômenos ocorrem em perfeita sintonia, situação essa que é observada raramente durante os procedimentos clínicos. As relações estabelecidas, que interferem com o ideal processo de hibridização, serão enfocadas nos tópicos subsequentes.

4- O papel do colágeno no processo adesivo

Como ponto de partida, como uma maneira de conscientizar o leitor da importância do colágeno para o entendimento global deste estudo; serão abordados neste tópico: o mecanismo de biossíntese e secreção, bem como a sua função estrutural.

Os fibroblastos originam-se das células mesenquimais e são responsáveis por sintetizar e secretar uma vasta gama de moléculas extracelulares, como o colágeno, as elastinas, os proteoglicanos e as glicoproteínas. Os tecidos duros do corpo representados por osso, cemento e dentina são tecidos conjuntivos especializados, sendo o colágeno do tipo I mais representativo e o que desempenha um papel principal na determinação de suas estruturas. Sua principal função é prover resistência e manter a integridade estrutural de vários tecidos e órgãos. Mais de 70% do peso seco da pele e tendões é representado por colágeno e aproximadamente 23% do peso seco total do osso, entretanto, ele representa quase 90% de sua matriz orgânica⁴⁹. Em síntese, os tecidos mineralizados como a dentina, osso e cemento, consistem de uma matriz de fibrilas de colágeno, sobre a qual os cristais de apatita são depositados durante o processo de mineralização.

O colágeno é um tecido fibrilar insolúvel, constituído de moléculas helicoidais alongadas que estão unidas entre si por ligações cruzadas. As moléculas são inicialmente sintetizadas em cadeias de procolágeno específicos nos ribossomos associados ao retículo endoplasmático granular. A composição de cada molécula de colágeno é representada em 70% por uma sequência de aminoácidos como prolina, hidróxiprolina e glicina em toda terceira posição. Cada molécula do colágeno é representada por 3 cadeias de peptídeos denominadas cadeias alfa, contendo aproximadamente 1000

aminoácidos cada¹⁵³. O colágeno tipo I é representado por 2 cadeias alfa do tipo 1 e 1 cadeia alfa do tipo 2, o que confere a sua configuração típica em tripla hélice. As extremidades das cadeias contêm os grupamentos amina e carboxílicos, porém não apresentam a forma helicoidal uma vez que não possuem a sequência (glicina-prolina-hidróxiprolina). Após serem secretadas pelos ribossomos, três cadeias de procolágeno se unem formando a estrutura helicoidal da molécula de procolágeno. Quando as cadeias polipeptídicas são montadas em tripla hélice, as ligações intramoleculares, estabelecidas por meio pontes de hidrogênio, são responsáveis por fixar esse arranjo (Figura 2.1). No momento da extrusão da molécula de procolágeno, a enzima lisil-hidroxilase inicia a síntese das ligações cruzadas adicionais na molécula do colágeno. A estabilidade da fibrila ocorre à medida que pontes de hidrogênio são formadas entre os peptídeos (grupamentos amina e carboxílicos). Desta maneira, torna-se caracterizado o *cross-linking*, ou ligações cruzadas, o qual ocorre durante a fase de biossíntese e secreção do colágeno, que é o mecanismo pelo qual moléculas de colágeno posicionadas em proximidade se ligam através de ligações covalentes. Estas ligações tornam a fibrila quimicamente insolúvel. A quantidade de ligações cruzadas presente é um determinante das propriedades mecânicas das fibrilas de colágeno. Diferentes comportamentos da dentina frente a diversos tratamentos podem ser explicados pelo tipo e quantidade de *cross-linkings* presentes no colágeno. A alta resistência do colágeno da dentina a certas

enzimas, como por exemplo, sua resistência à digestão pela pepsina, sugere que uma forma incomum de *cross-linking* ("hélice com hélice") esteja presente⁴¹. Outro aspecto estrutural é a estabilidade das fibrilas de colágeno em relação às suas propriedades mecânicas frente aos desafios da armazenagem em longo prazo²⁴ ou ao contato com soluções ácidas ou alcalinas^{162,175} ou com solventes^{46,80,111}.

Figura 2.1- Organização estrutural do colágeno. A- Cadeia de aminoácidos montada com uma hélice para esquerda. B- a mesma cadeia com uma conformation secundária em espiral na direção oposta, para formar uma hélice composta. C- Combinação de três hélices para conferir um arranjo de tripla-hélice (Adaptado de TEN CATE¹⁵³, 2001).

A matriz de dentina desmineralizada é formada por fibrilas de colágeno que apresentam um diâmetro médio de 20 a 50 nm¹⁶ e são,

aparentemente, formadas por microfibrilas ainda de menor diâmetro^{145,159} que estão separadas por espaços preenchidos por água⁷. Em uma condição úmida, as moléculas de água estão presentes entre as fibrilas em forma de aglomerados, unidas por ligações do tipo P-H, o que confere ao colágeno sua característica visco-elástica¹³².

Para formação das fibrilas, as moléculas de colágeno interagem e agregam-se de uma maneira precisa. Cada molécula se sobrepõe à molécula vizinha em aproximadamente $\frac{1}{4}$ do seu comprimento, conferindo a esse arranjo características regulares de sobreposição, que são identificadas em microscopia de transmissão como bandas periódicas ou *cross-bandings*. As áreas sobrepostas contêm poros inter e intrafibrilares, os quais estão relacionados com o processo de deposição da hidroxiapatita durante a mineralização¹⁵³. Quando ocorre a desmineralização, esses espaços funcionam como vias de penetração dos monômeros resinosos²⁰. A característica de bandas confere a condição de integridade da fibrila, uma vez que estão firmemente unidas por ligações cruzadas. A não observação das bandas periódicas em algumas áreas da dentina condicionada pode ser causada pela agressividade da solução ácida empregada, visto que as fibrilas expostas pela desmineralização apresentam-se um estado desestabilizado, mas não desnaturado e suscetível à degradação proteolítica⁹⁸. A desmineralização da dentina causa alterações nas suas propriedades físicas^{21,126}. O efeito de soluções ácidas sobre a estrutura e propriedades

mecânicas da matriz de dentina desmineralizada sempre foi um assunto controverso na literatura. A preocupação com a aplicação de soluções ácidas sobre a dentina originou-se a partir das observações sobre os efeitos dos ácidos sobre a estrutura do colágeno de outros tecidos. O colágeno da dentina desmineralizada pode se manter estável dimensionalmente quando imerso em soluções ácidas, enquanto o colágeno da derme apresenta extenso inchamento, o que caracteriza a desnaturação causada pelos ácidos¹⁶². De fato, a durabilidade das fibrilas de colágeno em soluções ácidas ou proteolíticas é dependente de ambos o grau de *cross-linking* e extensão da desnaturação. Estas questões incitaram estudos para estabelecer o efeito das substâncias sobre as fibrilas, o que causaria desnaturação ou colapso das mesmas, e o que poderia interferir diretamente na integridade estrutural do colágeno. El FENINAT *et al.*³⁸, 2001 verificaram, com auxílio de microscopia de força atômica, que a secagem da dentina com ar, após o condicionamento ácido, provoca um colapso das fibrilas, mas não desnaturação. Paralelamente, o tratamento isolado da dentina com solução de ácido fosfórico a 37% também não causou desnaturação das fibrilas, indicando que são fenômenos distintos. Em um estudo prévio³⁷, os autores descreveram os fenômenos de desnaturação e colapso, sendo que a desnaturação pode ser considerada como perda de periodicidade e colapso como perda de espaço interfibrilar, ou seja, a desnaturação indica a perda da integridade morfológica e o colapso a perda de porosidade fibrilar. Com o

auxílio dessa técnica, através de uma análise estrutural da dentina, os autores puderam demonstrar que tanto o condicionamento ácido quanto a hidratação apresentam algum efeito sobre a estrutura do colágeno. Embora ainda remanesçam inquietações com relação ao potencial de desnaturação que os ácidos exercem sobre a estrutura das moléculas do colágeno, o fenômeno parece ser reversível³⁷, ou ainda não interferir com a qualidade de união de resinas adesivas à dentina.

Embora o estudo das propriedades mecânicas do colágeno de vários tecidos como pele, tendão e osso seja uma constante na literatura, o estudo destas mesmas propriedades no colágeno da dentina é de interesse recente. AKIMOTO², em 1991, foi o pioneiro no estudo da propriedade mecânica do colágeno dentinário. O autor mensurou a resistência à tração do colágeno proveniente de dentina bovina desmineralizada. A dentina desmineralizada não condicionada apresentou uma resistência à tração em torno de 28 MPa, por outro lado, quando o colágeno foi exposto a solução de ácido fosfórico a 37%, o valor caiu para 18 MPa. SANO *et al.*¹²⁶, em 1994, mensuraram a resistência à tração e o módulo de elasticidade da dentina mineralizada e desmineralizada de dentes humanos e bovinos, sendo que ambas as propriedades foram diminuídas com a desmineralização. Em uma extensão do trabalho anterior, SANO *et al.*¹²⁸, 1995, estudaram as mesmas propriedades da dentina desmineralizada e infiltrada com monômeros resinosos. Eles demonstraram que a infiltração de monômeros resinosos

(*primers* e adesivos) na dentina desmineralizada foi capaz de re-estabelecer as propriedades mecânicas originais da dentina aos valores medidos antes da desmineralização. Os autores especularam a possibilidade de que várias soluções de tratamento da dentina, durante o processo adesivo (monômeros e solventes), pudessem estar, individualmente, causando um efeito de enrijecimento no colágeno. Paralelamente, a importância do *cross-linking* das fibrilas para o estabelecimento das propriedades mecânicas varia em função da localização anatômica da dentina, do seu conteúdo mineral e/ou da ocorrência das proteínas não colagênicas⁸². A associação do colágeno com as proteínas não colagênicas e as glicosaminoglicanas pode ser considerado um hidrogel. Como um hidrogel, a dentina desmineralizada pode absorver grande quantidade de água, entretanto, permanece insolúvel devido às ligações cruzadas. Por sua vez, KINNEY *et al.*⁷¹, 2003 avaliaram a importância da mineralização intrafibrilar do colágeno no estabelecimento das propriedades mecânicas da dentina. O modelo proposto no referido estudo prediz que o módulo de elasticidade aumenta com o conteúdo mineral, implicando dizer que a característica elástica da fibrila de colágeno desmineralizada pode ser restabelecida através da remineralização.

Todas estas características interagem para a compreensão da importância da integridade estrutural do colágeno na resultante final de adesão.

GWINETT *et al.*⁵³, em 1996, ressaltaram que a quantidade de colágeno exposto após a desmineralização, por si só, não exerceria um papel fundamental na obtenção de uma interface adesiva otimizada, mas sim, a qualidade desta zona exposta. Dessa forma, fica claro que as características de integridade e estabilidade das fibrilas de colágeno são fundamentais para a formação da camada híbrida e, por sua vez, contribuem significativamente para a conformação estrutural da dentina¹⁵⁷.

Diante do exposto, fica claro entender que a porção orgânica da dentina, tendo o colágeno como protagonista principal, exerce um papel fundamental frente às alterações estruturais e propriedades induzidas durante o processo adesivo.

5- A relação entre as alterações dimensionais e as interações moleculares como fatores determinantes das propriedades mecânicas da matriz de dentina desmineralizada

As alterações dimensionais da matriz de dentina desmineralizada são regidas pelas interações moleculares entre as fibrilas de colágeno entre si e entre estas e as soluções que preenchem os espaços interfibrilares^{20,109}. Embora o papel da água nas alterações dimensionais e propriedades mecânicas da dentina desmineralizada seja, de certa forma, conhecido^{21,80}, pouco se sabe sobre os efeitos dos ácidos, solventes e monômeros sobre

essa estrutura^{22,80,175}. As alterações induzidas pelos sistemas adesivos à matriz de dentina desmineralizada infiltrada pelos monômeros resinosos ainda não tem sido exaustivamente estudada e compreendida¹¹⁷. Desta forma, ao conhecermos os solventes e respectivos monômeros que constituem os sistemas adesivos, podemos empregar a teoria dos parâmetros de solubilidade para estimar o grau de alteração dimensional que os mesmos poderão causar na dentina.

A insólita relação entre parâmetro de solubilidade e adesão em odontologia deriva de conceitos básicos de físico-química, os quais regem a relação entre diferentes líquidos e entre líquidos e sólidos. Sob um ponto de vista físico, a interpenetração descreve a habilidade da resina de solubilizar a superfície dentinária, sendo dependente do parâmetro de solubilidade dos adesivos. Em outras palavras, o parâmetro de solubilidade de um líquido é a medida da habilidade do líquido em solubilizar a superfície sólida. Isto implica em dizer que os agentes adesivos deveriam ter uma composição química correspondente a certo parâmetro de solubilidade para que o sistema adesivo tenha ótima eficácia, o que nos leva a estabelecer uma correlação direta entre o parâmetro de solubilidade da resina e resistência adesiva⁶. Baseado neste aspecto, a interação dos monômeros resinosos com a matriz desmineralizada está em acordo com a facilidade encontrada pela resina em permear as fibrilas de colágeno. A partir de então, a investigação da variedade existente de monômeros resinosos e solventes, presentes nos

sistemas adesivos, foi enfocada na tentativa de calcular o parâmetro de solubilidade de cada solvente, monômero ou mistura de ambos, relacionando os valores obtidos com a resistência adesiva. Uma vez que os parâmetros de solubilidade das diferentes soluções empregadas em odontologia adesiva se tornaram imprescindíveis na compreensão dos diversos experimentos incluídos neste estudo, a definição dessa relação molecular torna-se oportuna.

O parâmetro de solubilidade de uma substância está relacionado à densidade da energia coesiva (DEC) apresentada por este material. Em essência, a DEC de um líquido indica a sua energia de vaporização em cal.cm^{-3} , que é o reflexo direto do grau de forças de van der Waals que mantém as moléculas unidas. Em 1936, HILDEBRAND⁶¹ propôs que a raiz quadrada da DEC representasse a solvência de um determinado solvente. Posteriormente, o termo “parâmetro de solubilidade” foi aceito para definir este valor, sendo representado pela letra grega “ δ ”. A densidade de energia coesiva é freqüentemente expressa como a relação entre energia por unidade de volume, E/V em unidades (J/cm^3), que representa a quantidade de energia associada às interações moleculares em um volume específico de material. Devido a diferentes tipos de forças moleculares, a densidade de energia coesiva pode ser dividida em componentes de acordo com a contribuição das interações moleculares do tipo polar (δ_p), pontes de hidrogênio (δ_h), dispersiva (δ_d), total (δ_t) e ligações iônicas. Em resumo, os

valores de parâmetro de solubilidade permitem a estimativa da contribuição relativa das forças dispersivas, polares e de formação de P-H para a densidade de energia coesiva total de solventes polares^{10,54}. Dentre as interações polares, as resultantes de formação de pontes de hidrogênio são particularmente importantes nas interações entre solventes e entre estes e a estrutura molecular do colágeno, representando uma interação comparativamente muito mais forte do que qualquer outra interação de van der Waals.

De acordo com HANSEN⁵⁴, 1969, o parâmetro de solubilidade pode ser descrito como a raiz quadrada da densidade de energia coesiva, de acordo com as interações moleculares, a seguir:

$$\frac{E}{v} = \delta^2 = \delta_p^2 + \delta_h^2 + \delta_d^2$$

O parâmetro de solubilidade é calculado baseado na concentração percentual dos componentes em uma solução^{9,10}. Uma variedade de métodos tem sido descritos para o seu cálculo usando propriedades físicas das substâncias, tais como tensão de superfície ou calor de vaporização, através da constante de concentração molar, ou determinado experimentalmente através do teste de miscibilidade em uma série de solventes pré-determinados^{10,54}. Quando 2 líquidos diferentes apresentam interação molecular e parâmetros de solubilidade semelhantes, implica em

dizer que são miscíveis. No caso de um líquido e um sólido polimérico, quando apresentam parâmetros de solubilidade similares, o líquido pode penetrar no polímero levando a um intumescimento do mesmo. Nessa condição, as moléculas do polímero estão em contato íntimo com as moléculas do solvente. Caso as moléculas do solvente possibilitem uma polimerização dos monômeros após a infiltração no substrato, o resultado poderia ser uma adesão otimizada devido à formação de uma rede de interpenetração da fibrila com a resina⁸³. Desta forma, pode-se demonstrar que o método de parâmetro de solubilidade é aplicável à superfície de dentina desmineralizada e que este método pode ser útil para formulação de sistemas adesivos mais compatíveis com o substrato. Seguindo esta linha de raciocínio, PASHLEY *et al.*¹⁰⁹, 2001; PASHLEY *et al.*¹¹⁰, 2002, focalizaram em seus estudos sempre a relação entre as variáveis experimentais com o respectivo parâmetro de solubilidade representativo para formação de pontes de hidrogênio.

Os estudos sobre os efeitos dos procedimentos adesivos sobre as estruturas da dentina se iniciaram em 1996²¹. Naquele estudo, foram determinadas as alterações dimensionais sofridas pela matriz de dentina desmineralizada quando desidratada pela secagem com ar e re-hidratada com água. Os autores observaram, ainda, que a dentina desidratada e contraída não re-expandia quando imersa em 100% acetona ou HEMA. Na época, especulou-se, entre outros fatores, que a não expansão da dentina,

quando imersa nessas soluções, poderia ocorrer devido à formação de pontes de hidrogênio entre os peptídeos das fibrilas de colágeno, as quais se mantiveram estáveis com a utilização destas. Em um estudo concomitante, foi observado que a contração da matriz de dentina desmineralizada era um fenômeno de contração ativa, causado, provavelmente, por forças físicas secundárias de atração molecular entre os solventes e as fibrilas de colágeno²². De acordo com os resultados dos estudos expostos, estava se tornando claro que a desidratação da dentina desmineralizada, quer fosse fisicamente (ar), quer quimicamente (solventes ou monômeros), causava alterações na sua estrutura dimensional e física. Alguns estudos se seguiram^{80,175}, confirmando as hipóteses de que as soluções empregadas em um procedimento adesivo, ou seja, ácidos, solventes e monômeros, causavam modificações nas propriedades mecânicas da dentina desmineralizada.

Como visto anteriormente, a partir das informações obtidas dos estudos de KUZNETSOVA⁷⁷, ASMUSSEN, HANSEN, PEUTZDELT⁶ e MILLER *et al.*⁸³, os estudos se voltaram para a investigação da permeabilidade da dentina desmineralizada aos monômeros resinosos¹⁰⁸ e dos efeitos que os diferentes solventes e monômeros causam nas alterações dos espaços interfibrilares^{109,110}. Uma vez que essas soluções são aplicadas sobre a dentina que foi condicionada com ácidos e em seguida lavada com água, elas precisam remover a água da matriz de dentina e ocupar o seu espaço

para que haja adesão. Esse fenômeno pode ser classificado como desidratação química da dentina. Por outro lado, se secarmos a dentina com jatos de ar após a sua lavagem, isso resulta em uma desidratação física do substrato. Tanto a desidratação química, em solventes polares miscíveis em água, e física, pela secagem com ar, culmina em um enrijecimento da matriz de dentina desmineralizada⁸⁰. Tanto a aplicação dos ácidos quanto a desidratação das fibrilas de colágeno durante os procedimentos adesivos podem induzir alterações no substrato que eventualmente irão interferir na formação da camada híbrida e certamente na durabilidade da união.

A água presente entre os espaços interfibrilares após a desmineralização, quando evaporada previamente à infiltração dos monômeros, causa um colapso parcial das fibrilas de colágeno, resultando em um decréscimo de espaço interfibrilar com a perda da permeabilidade para os monômeros resinosos^{104,108}. Isto ocorre pela incapacidade da água em estabilizar a superfície das fibrilas de colágeno das forças físicas que ocorrem durante a sua evaporação dos espaços interfibrilares¹¹¹. A não infiltração dos monômeros culmina em uma redução nos valores de resistência de união⁵¹. Desta forma, a matriz orgânica, em especial o colágeno exposto pelo condicionamento ácido, sem a sustentação promovida pelos cristais de hidroxiapatita, colapsa na ausência de umidade. O colapso não permite uma adequada infiltração dos monômeros resinosos, comprometendo a formação da camada híbrida. A evaporação dos solventes

contidos nos *primers* também atua como um fator causal de tensões de contração na matriz de dentina desmineralizada. Caso o solvente utilizado não seja capaz de manter a matriz rígida, esta poderá contrair reduzindo os espaços interfibrilares, dificultando a infiltração do agente adesivo⁴⁶. A combinação dos fenômenos de colapso parcial da matriz e redução da pressão de vapor observados durante a aplicação dos sistemas adesivos demonstra que, quando estes são polimerizados no tempo clínico recomendado, existe uma probabilidade muito grande de que resíduos de solventes e água remanesçam na camada híbrida¹⁷³. Isso tem um efeito significativo na durabilidade da união, uma vez que os espaços ocupados pelos resíduos de solvente ou água representarão porosidades na interface e a presença deles poderá comprometer a polimerização adequada dos monômeros resinosos¹¹⁶. Da mesma maneira, durante a secagem excessiva com ar, a fase líquida do substrato é perdida por evaporação e reduz seu volume inicial em cerca de 2/3²¹. Aparentemente, as fibrilas de colágeno não resistem à tensão de estresse gerada durante o procedimento de secagem com o ar. As forças de tensão de superfície geradas são suficientes para que o arcabouço de sustentação das fibrilas de colágeno desmorone durante o processo de secagem. Quando a secagem é realizada com um ligeiro jato de ar, há somente o colapso das fibrilas no topo da zona desmineralizada, sendo que espaços interfibrilares podem ser ainda preservados abaixo dessa zona⁹⁰. Porém, se o processo de secagem continuar, poderá ocorrer uma

contração adicional da própria fibrila do colágeno⁴⁰. Com a saída de água, há maior interação molecular entre os peptídeos das fibrilas de colágeno, por meio de P-H, o que estabiliza a matriz em uma condição colapsada, conjugada ao baixo módulo de elasticidade deste substrato. Porém o colapso das fibrilas é um processo reversível, pelo simples umedecimento da superfície dentinária com água ou com soluções aquosas^{51,118}. De acordo com PERDIGÃO, FRANKENBERGER¹¹⁹, 2001, reumidificar a dentina restaura os valores de resistência de união ao mesmo patamar do que quando se utiliza a técnica úmida, sendo que é necessário um tempo adequado para que isso ocorra. A água tem a capacidade de permitir a re-expansão das fibrilas de colágeno colapsadas, permitindo a infiltração dos monômeros resinosos^{148,160}. De uma forma indireta, o estudo de CARVALHO, YOSHIYAMA, PASHLEY²¹, em 1996, sugere que a água é um agente promotor da quebra das ligações intermoleculares da matriz de colágeno e facilitador da sua própria ligação com estas moléculas. A razão é baseada no fato de que, em uma condição hidratada, o arranjo molecular das fibrilas de colágeno permite a ocorrência de espaços necessários à infiltração dos monômeros, o que não ocorre em uma condição desidratada¹³². Porém, há uma concentração crítica de água necessária¹¹⁸ para diminuir o módulo de elasticidade das fibrilas, permitindo a expansão do colágeno ao seu nível original⁸⁰. De forma que, mediante o exposto acima, os efeitos das soluções sobre as alterações dimensionais da matriz de dentina desmineralizada

dependem da condição inicial de umidade da matriz. Quando aplicadas sobre a matriz desidratada, as soluções induzem diferentes graus de re-expansão de acordo com o seu parâmetro de solubilidade(δ_h)¹⁰⁹.

A compreensão da relação entre os efeitos dos parâmetros de solubilidade e adesão à dentina é complexa e requer que a análise seja estendida para seus efeitos nas alterações dimensionais e no estabelecimento das propriedades mecânicas da dentina desmineralizada. No estudo de NAKAOKI *et al.*⁹³,2000, os autores avaliaram a taxa de expansão sofrida pela matriz de dentina desmineralizada mantida colapsada, com a utilização de soluções de 35% em peso de HEMA em água vs 100% de HEMA. De acordo com o experimento, verificou-se que o HEMA sozinho não foi capaz de re-expandir a matriz desmineralizada, o que ratifica a relação direta entre a capacidade de expansão associada a um maior valor de δ_h (Figura 2.2). NAKAJIMA *et al.*⁹²,2002, avaliaram as alterações dimensionais sofridas pela matriz de dentina desmineralizada úmida, durante a aplicação de sistemas adesivos de frasco único. Todos os adesivos utilizados induziram uma contração linear em torno de 30%, o que implicaria na redução em volume do espaço interfibrilar responsável pela permeação dos monômeros resinosos. PASHLEY *et al.*¹¹¹,2003, empregaram a teoria dos parâmetros de solubilidade para rever seus efeitos nas propriedades mecânicas da dentina desmineralizada submetida a vários solventes. Tanto as propriedades de módulo de elasticidade e resistência máxima à tração foram inversamente

correlacionadas com os respectivos δ_h dos solventes. Diante do exposto acima, deve ser entendido que as interações entre os solventes e monômeros aplicados sobre a dentina desmineralizada e seus efeitos nas alterações dimensionais e nas propriedades mecânicas é um processo dinâmico, que depende da concentração molar desses solutos nos espaços interfibrilares²⁰. Um pequeno volume de solvente aplicado sobre a dentina úmida não causará nenhum efeito sobre a matriz desmineralizada, devido à alta concentração molar da água e seu alto valor δ_h . Quando a concentração molar de um solvente ultrapassa a da água, dá-se início a uma competição pelos sítios de formação de P-H entre os peptídeos. Soluções ou soluto com alto valor de δ_h e próximo ao da água resultam em uma menor contração e menor enrijecimento da matriz^{109,110}.

Idealmente, os solventes utilizados para carrear os monômeros na dentina desmineralizada deveriam manter os espaços interpeptídeos, microfibrilares e interfibrilares expandidos. Para que isso ocorra, a expectativa é que eles previnam o desenvolvimento de ligações do tipo P-H interpeptídeos, para a ligação preferencial com as moléculas de água. Essa capacidade parece estar relacionada também com a mistura de comonômeros presentes nos sistemas adesivos. Porém, como, por exemplo, podemos expandir uma matriz de dentina numa condição ideal para infiltração dos monômeros?, e como infiltrar a resina enquanto o solvente evapora sem causar contração e colapso das fibrilas? Dessa forma, é

interessante raciocinar como a teoria dos parâmetros de solubilidade regula os mecanismos de adesão à dentina. Essa teoria pode explicar como as interações estabelecidas entre as diferentes soluções aplicadas sobre a dentina, durante o estabelecimento do processo adesivo, podem ter profundas conseqüências na durabilidade da adesão à dentina. Empregando os conceitos da teoria dos parâmetros de solubilidade, se as fibrilas de colágeno puderem ser mantidas rígidas em uma condição expandida com a utilização de solventes com alto valor de parâmetro de solubilidade ^{46,109,110}, os monômeros resinosos poderiam facilmente penetrar nos espaços interfibrilares preservados até uma zona desmineralizada mais profunda, possibilitando uma quantidade e volume suficiente de monômero para preencher os espaços interfibrilares, evitando a contração e o posterior colapso das mesmas¹⁰².

Figura 2.2- Ilustração esquemática das alterações dimensionais sofridas pelas fibrilas de colágeno. A) secagem moderada: as moléculas de água remanescem mantendo as fibrilas expandidas, B) secagem severa: a água é perdida por evaporação, culminando em perda dos espaços interfibrilares, C) aplicação de 35%HEMA EM 65% de água: re-expansão parcial das fibrilas colapsadas, D) colapso parcial das fibrilas, E) evaporação dos solventes, manutenção das fibrilas expandidas ou F) contraídas (Adaptado de NAKAOKI *et al.*⁹³, 2000).

6 – A qualidade da dentina hibridizada - deterioração ao longo do tempo

Os tópicos anteriores enfocaram a importância das interações moleculares estabelecidas entre os solutos e os solventes com a dentina desmineralizada durante as técnicas empregadas na formação da camada híbrida. Enquanto existirem limitações dos materiais e técnicas disponíveis, devemos nos conscientizar das implicações que os procedimentos clínicos possam determinar na qualidade final da adesão das resinas à dentina.

A durabilidade da união das restaurações adesivas é uma área de grande interesse na odontologia adesiva. Um estudo pioneiro da durabilidade da adesão entre a dentina bovina e resina foi inicialmente proposto por

KIYOMURA⁷⁴, em 1987. O autor demonstrou uma redução gradual da resistência de união com a resina 4-META/MMA-TBB no período de 5 anos, em dentes bovinos armazenados em água (de 18 para 10 MPa nos primeiros meses e de 10 para 4 MPa até o quinto ano). Através da análise da camada híbrida, por microscopia eletrônica de varredura e microscopia eletrônica de transmissão, o autor verificou a presença de falhas em toda sua extensão, bem como uma área amorfa, com deficiência na infiltração dos monômeros resinosos, mostrando uma considerável discrepância entre a área desmineralizada e a infiltrada pelos monômeros. A partir daí, vários estudos têm sido conduzidos para avaliar a integridade da interface adesiva ao longo do tempo^{32,55,58,122,136}. Resultados laboratoriais têm reportado queda na resistência de união depois de poucos meses de armazenagem, indicando que a interface adesiva degrada rapidamente ao longo do tempo¹⁷.

Considerando a hibridização⁸⁸ como mecanismo de união de materiais resinosos ao dente, espera-se que a infiltração dos monômeros na intimidade dos tecidos dentais proteja os elementos expostos pelos procedimentos adesivos e assegure a estabilidade da união. Porém, é de consenso na literatura que a zona de dentina desmineralizada não é completamente infiltrada pelos monômeros resinosos^{70,158}, o que permite que as fibrilas de colágeno expostas pela ação do ácido e não infiltradas permaneçam sob ação dos fluidos orais. Porém, até que ponto essa infiltração incompleta dos monômeros resinosos seria prejudicial à interface adesiva? O próprio estudo

de NAKABAYASHI, KOJIMA, MASUHARA⁹⁰, em 1982, foi enfático ao assinalar a importância da completa proteção das fibrilas expostas pelos monômeros resinosos, para que houvesse êxito na obtenção da camada híbrida. As razões para que essa infiltração incompleta ocorra são numerosas, mas os fatores primordiais se fundamentam na formação de uma camada híbrida porosa^{127,164} altamente permeável aos efeitos dos fluidos orais^{55,60,130}. Dessa forma, tem sido sugerido que a fibrila de colágeno exposta é suscetível à degradação hidrolítica ao longo do tempo, culminando na redução da resistência de união *in vivo*⁵⁵ e *in vitro*^{14,32,99,171}.

Por muitos anos, a preocupação constante em relação à durabilidade da união era baseada na fragilidade da estrutura dentinária desmineralizada e sua suscetibilidade à degradação por hidrólise. Dessa forma, diversos estudos foram impulsionados no intuito de se descobrir uma alternativa viável que não condenasse ao fracasso a durabilidade da união baseada na degradação por hidrólise do colágeno fragilizado. Pensou-se que a solução para contornar esse problema seria a utilização dos sistemas adesivos autocondicionantes. Teoricamente, para estes sistemas, a discrepância entre a profundidade de desmineralização e a infiltração dos monômeros é evitada, através da remoção da porção mineral simultaneamente à infiltração dos monômeros resinosos¹⁵¹. Porém, TAY, PASHLEY, YOSHIYAMA¹⁴⁷, em 2002, levantaram um questionamento ao constatarem que a camada híbrida formada por alguns sistemas autocondicionantes também apresentava

porosidades. Estas observações foram corroboradas por CARVALHO *et al.*²⁷, 2005, visto que, os autores demonstraram a existência de uma zona parcialmente desmineralizada e não infiltrada abaixo da camada híbrida para alguns sistemas autocondicionantes. Este resultado, de uma maneira indireta, serviu para mudar o consenso geral de que uma infiltração total dos monômeros resinosos em toda zona desmineralizada ocorre para todos os sistemas autocondicionantes, sugerindo outras hipóteses para a degradação da interface adesiva^{147,152}. As razões para essa performance inadequada dos sistemas simplificados são numerosas, mas as mais importantes são: 1) estes sistemas são altamente hidrofílicos e atuam como membranas semi-permeáveis, mesmo após a polimerização; 2) devido a alta concentração de solventes em sua composição, desta forma, torna-se impossível a obtenção de uma camada com espessura ideal e livre de resíduos de solvente; 3) durante a evaporação do solvente, poderá haver uma alteração na proporção monômero/água, resultando em uma separação de fase e formação de bolhas; 4) os componentes ácidos destes sistemas podem interagir de forma adversa com o agente iniciador do compósito, de maneira a enfraquecer a união formada³³.

Baseado nestes questionamentos, outra linha de raciocínio se estabeleceu para tentar elucidar o mecanismo de degradação. Atualmente, são fortes as evidências de que componentes resinosos da camada híbrida possam ser mais suscetíveis à degradação por hidrólise do que a matriz

desmineralizada propriamente dita¹⁸. Da mesma forma que a água desempenha um importante papel na manutenção de uma trama de colágeno expandida para a permeação dos monômeros resinosos^{50,66,67}, ela também estabelece situações que determinam mecanismos de degradação da interface adesiva. Talvez seja mais provável que a longevidade da interface esteja condicionada à resistência dos monômeros à degradação hidrolítica do que a hidrólise, propriamente dita, das fibrilas de colágeno expostas. Na presença de umidade superficial, é imperativo que os sistemas adesivos apresentem características hidrofílicas para penetrarem nos espaços interfibrilares repletos de água. Frente a essa necessidade e à tendência de simplificação das técnicas de aplicação, as formulações dos adesivos foram modificadas pela adição de monômeros hidrofílicos, partículas diminutas, ou nanopartículas¹⁴⁶, diluentes, solventes, etc., tornando-os altamente hidrófilos¹⁴¹ e, muitas vezes, incompatíveis com outros sistemas¹²⁴. O paradoxo se estabelece quando se observa que a alta hidrofília apresentada pelos sistemas adesivos atuais é, ao mesmo tempo, adequada para a aplicação no substrato úmido, porém, o fator limitante da durabilidade do adesivo e, conseqüentemente, da união²⁰. Os sistemas adesivos são nada além de polímeros produzidos em condições adversas de umidade, temperatura e tempo, as quais os tornam particularmente susceptíveis à degradação no ambiente bucal^{17,131}. Dessa forma, a redução da resistência adesiva está associada principalmente às características dos sistemas

adesivos, relacionadas à ação hidrolítica dos fluidos bucais sobre os monômeros resinosos e ao grau de polimerização¹⁷². Nenhum destes sistemas é 100% polimerizado, pois as restrições moleculares induzidas durante a polimerização impedem a flexibilidade necessária para que todos os monômeros reajam e se convertam em polímeros. A presença de água residual entre os espaços interfibrilares poderia resultar na diluição dos monômeros hidrofílicos. Esta resina com deficiência na polimerização absorverá mais água, prejudicando suas propriedades mecânicas e, conseqüentemente, afetando a durabilidade¹¹⁶.

Além do mecanismo de degradação dos polímeros, outro provável mecanismo que interfere na durabilidade da união estaria relacionado à degradação das fibrilas de colágeno expostas por enzimas presentes no próprio hospedeiro¹¹³. A degradação extracelular representada pelas MMPs, ou seja, pelas metaloendoproteínases de matriz, referem-se a um grupo de enzimas secretadas por células, incluindo os fibroblastos, que podem degradar colágeno e outras macromoléculas da matriz em pequenos peptídeos. A collagenase é a mais bem caracterizada dessas enzimas, representando um papel crucial na degradação do colágeno, uma vez que é a única enzima capaz de clivar a tripla hélice do colágeno em pH neutro. Entretanto, ela é responsável pela fragmentação inicial da fibrila, sendo que outras enzimas são requeridas para que ocorra a degradação final. Outro fator em questão que remanesce é o papel das proteínas não colagênicas na

durabilidade da adesão, visto que o seu papel na determinação das propriedades mecânicas da dentina é pouco relevante⁸⁸. É sabido que os solventes orgânicos presentes nos sistemas adesivos podem alterar irreversivelmente a estrutura dessas proteínas, porém a sua consequência para a durabilidade da adesão ainda não foi bem estabelecida¹⁰².

Os diferentes estudos que abordam a questão sobre a durabilidade da união ainda não são conclusivos. Um aspecto importante observado é que a utilização de sistemas adesivos atuais cada mais hidrofílicos pode induzir maior absorção de água, levando à deterioração na interface adesiva. Segundo De MUNCK *et al.*³³, em 2005, uma tendência futura seria o desenvolvimento de materiais bioativos que não necessitariam de um adesivo para se unir ao substrato. Uma alternativa seria a utilização de sistemas hidrofóbicos, mas para isso deveríamos eliminar a água presente entre as fibrilas sem causar o colapso das mesmas.

Pelo exposto nos diferentes tópicos deste capítulo, parece lícito afirmar que a compreensão dos fenômenos envolvidos no contexto prático do processo adesivo os torna indissociáveis do substrato dentinário e de fundamental importância para o desenvolvimento de sistemas adesivos com maior compatibilidade e durabilidade. A possibilidade de mantermos a matriz de dentina desmineralizada expandida por solventes anidros é interessante, baseado no principal mecanismo de degradação da interface adesiva, a ação hidrolítica dos fluídos bucais sobre a porção resinosa da camada híbrida.

Nessas condições, monômeros resinosos hidrofóbicos poderiam ser empregados para a formação da camada híbrida, conferindo a esta menor susceptibilidade à absorção de água e, conseqüentemente, maior probabilidade de resistir à ação hidrolítica no meio bucal.

A linha de pesquisa apresentada nesse estudo busca estabelecer e compreender os diferentes fenômenos envolvidos para obtenção de uma adesão favorável. Os diferentes experimentos realizados, que serão apresentados a seguir, corroboram achados prévios e sugerem o uso de uma combinação adequada de monômeros e solventes anidros que sejam capazes de interagir com o substrato de uma maneira eficaz, representando um parâmetro para o desenvolvimento de novos conhecimentos que contribuam para o aprimoramento dos sistemas adesivos.

PROPOSIÇÃO

3. Proposição

O objetivo geral do estudo proposto foi o de testar o efeito de solventes, monômero e misturas de ambos nas propriedades mecânicas da matriz de dentina desmineralizada e no estabelecimento de uniões à dentina.

Para facilitar a compreensão dos diferentes objetivos específicos, no capítulo de material e métodos serão abordadas as diferentes hipóteses nulas que foram testadas de acordo com os experimentos realizados em cada parte.

MATERIAL *e Métodos*

4. *Material e Métodos*

Como o intuito de melhor compreender os diferentes estudos realizados, o capítulo material e métodos foi dividido em 3 partes a seguir:

Parte A: refere-se ao método empregado para analisar as propriedades mecânicas da matriz de dentina desmineralizada, através da análise do efeito dos solventes no estágio inicial de enrijecimento e do relaxamento de tensão de espécimes submetidos a carregamento de tração após a imersão em solventes;

Parte B: refere-se ao método empregado para verificar a taxa de evaporação de soluções à base de HEMA/solventes a partir de superfície livre e de dentina desmineralizada;

Parte C: refere-se ao método empregado para testar a resistência de união à dentina, utilizando diferentes formulações experimentais à base de monômero e solventes (*primers* experimentais).

Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa (CEP) dessa instituição, Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo sob os protocolos de número 090/2002; 067/2002 (Anexos 1 e 2).

Uma introdução neste capítulo poderia parecer em primeiro momento redundante, mas por outro lado, tornar-se de extrema importância para que o leitor tenha uma visão ampla do estudo realizado. Dessa forma, visto que,

de uma maneira geral os materiais e alguma parte do método empregado são complementares, serão descritos inicialmente os tópicos comuns aos experimentos realizados. Também será descrito o valor do parâmetro de solubilidade para formação de P-H (δ_h) de Hansen⁵⁴, peso molecular (PM) e concentração molar (moles/L) para os solventes e o monômero utilizados neste estudo.

❖ Dentes utilizados

Para a realização dos experimentos foram utilizados dentes terceiros molares humanos, recém extraídos e livres de cárie, armazenados por um período não superior a 6 meses, sob refrigeração em solução aquosa de timol a 4% .

❖ Obtenção da superfície plana de dentina

O esmalte oclusal dos dentes foi totalmente removido através de um desgaste perpendicular ao seu longo eixo, empregando-se um disco de lixa de carbetto de silício de granulação 320 associado a uma politriz AROTEC APL-2 (Indústria e comércio, SA, Brasil), com irrigação abundante até obtenção de uma superfície plana de dentina. A verificação da não ocorrência de esmalte remanescente foi realizada com o auxílio de um microscópio óptico (Dimex MZM-250, Dimex, São Paulo, Brasil) em aumento de 40x. Para padronização da *smear layer* obtida da superfície dentinária

exposta, utilizou-se o disco de lixa de carbetto de silício de granulação nº 600, por 60 segundos.

❖ **Material utilizado**

Foram utilizados solventes puros, um monômero, um ácido, dois sistemas adesivos e duas resinas compostas, cujas especificações estão listadas no quadro A:

Quadro A: Composição, número do lote e fabricante dos materiais utilizados:

Material		Composição	Lote	Fabricante
Resinas compostas	Z100	Bis-GMA, TEGDMA, partículas de zircônia/sílica	20030113	3M/ESPE*
	Clearfil AP-X	Bis-GMA, TEGDMA, di-CQ, vidro de bário silanizado, sílica coloidal silanizada	9HA	KURARAY®
Sistemas Adesivos	Single Bond (SB)	Primer + Adesivo: Bis-GMA, HEMA, copolímero do ácido polialcenóico, água, etanol e fotoiniciadores	MN55144	3M/ESPE*
	Amalgambond-Plus	Catalisador universal TBBO: tri-n-butil-borano	ES12	PARKEL▲
		4-META: 4-Metacrilolilóxi etil trimelitato anidrido	EW1	
Ácido	Ácido	Ácido fosfórico a 35%	2YK	3M/ESPE*
Solventes	Metanol	puro 99,9%, com 0,04% de água	V02C08	QUIMISLABOR◆
	Etanol	puro 99,9% com 0,06% de água, acetona 0,001% e metanol < 0,1%	V568 V02D55	LABSYNHT*
	Acetona	puro 99,5%, com 0,5% de água	50352	MERCK, S.A◆
	Propanol	puro 99,9%, com 0,037% de água	3032 P39D51	LABSYNHT*
	Butanol	puro 99,4%, com 0,1% de água, 0,2% de éter butílico	50050	LABSYNHT*
Monômero	HEMA	puro, estabilizado com 300ppm de éter-monometil-hidroquinona	57H3495	SIGMA CHEMICAL CO❖
Solução desmineralizante	EDTA	Solução de ácido etileno di-amino tetra-acético	66H1180	SIGMA CHEMICAL CO❖

* 3M/ESPE, St. Paul, MN, USA

® KURARAY, Co, LTD, Japão

▲ PARKEL, Farmingdale, USA

◆ QUIMISLABOR, Marília, Brazil

● LABSYNHT, Diadema, Brazil

◆ MERCK, S.A., Rio de Janeiro, Brazil

❖ SIGMA CHEMICAL CO., St Louis, MO, USA

- ❖ Quadro B: Representativo do parâmetro de solubilidade de Hansen⁵⁴, peso molecular (PM), concentração molar (Moles/L) de diferentes solventes e monômero:

Solventes	Parâmetro de Solubilidade (J/cm ³) ^{1/2}				PM	Moles/L
	(δ_h)	(δ_d)	(δ_p)	(δ_t)		
Água	37.3	12.2	27.3	47.8	18	55.6
Metanol	22.3	15.1	12.3	29.6	32	24.7
Etanol	19.3	14.7	9.6	26.5	72	17.2
Propanol	17.4	16	6.8	24.5	60	13.4
Acetona	7.0	15.5	10.4	20.0	58	13.6
HEMA	16.1	16.7	9.8	25.2	130	7.9

- ❖ Manipulação dos *primers* experimentais

Os *primers* experimentais foram preparados a partir da mistura (V/V) do monômero puro HEMA com os diferentes solventes, na proporção de 35% HEMA + 65% solvente (etanol (H/E), metanol (H/M), acetona (H/AC), propanol (H/P) e água (H/AG) absolutos) (100 µl), em um béquer, sobre um misturador magnético à temperatura ambiente de 21° C e umidade relativa do ar de 50 a 60 %. Estrategicamente, os solventes foram escolhidos de acordo com a miscibilidade em HEMA. Os solventes e o monômero foram utilizados sem nenhum tratamento adicional.

PARTE A

4.1(A)- Detalhamento geral dos experimentos realizados

A matriz de dentina desmineralizada foi testada a fim de que fossem determinadas duas de suas propriedades mecânicas : módulo de elasticidade máximo aparente (EMax) e relaxamento das tensões induzidas (RT).

4.1.1 (A)- Objetivos específicos

Testar as seguintes hipóteses nulas:

1- de que não há influência dos solventes no estágio inicial de enrijecimento da matriz de dentina desmineralizada;

2-de que o relaxamento de tensão em espécimes submetidos a carregamento de tração não depende da deformação e do tipo de solvente utilizado.

4.2 (A)- Experimentos realizados

4.3.1(A)- **Efeito dos solventes no estágio inicial de enrijecimento da matriz de dentina desmineralizada**

a- Preparo dos espécimes

A extremidade radicular de cada dente foi fixada a uma placa de acrílico com o auxílio de cera pegajosa número 7 e acoplada a uma máquina

de corte IMPTECH PC 10 (Boksburg, Republic of USA). A seguir, foi realizado um corte perpendicular ao longo eixo do dente e paralelo à superfície dentinária, utilizando um disco de corte em baixa rpm (Labcut 1010, Extec, Enfield CT, USA) sob refrigeração, para obtenção de uma fatia (disco) da coroa dentária. Cada fatia tinha em média 0,7 mm de espessura. Posteriormente, foram realizados 2 cortes paralelos, no sentido vestibulo-lingual, em cada fatia, obtendo 1 espécime em forma de palito para cada fatia, medindo aproximadamente 0,8 X 0,7 X 8,0 mm, com área de seção transversa de 0, 56 mm². Foram utilizados 5 discos de dentina, totalizando 5 espécimes (Figura 4.3.1.1 (A)).

Figura 4.3.1.1 (A)- Esquema ilustrativo da obtenção dos discos de dentina (0,7mm), da porção médio-coronal dos dentes, e obtenção dos palitos de dentina após os cortes seriados e suas dimensões

As extremidades dos palitos foram hibridizadas com adesivo Single Bond (ácido fosfórico + adesivo) aplicado segundo as recomendações do fabricante. Em cada extremidade de uma matriz de silicone, com a impressão em forma de haltere, foi adicionada uma camada de resina composta Z100 (3M/ESPE, Dental Products, ST. Paul, MN, USA). Cada palito obtido foi acomodado sobre essa camada de resina. A resina composta foi foto-ativada por 40s com o aparelho 3M curing Light XL 3000. Camadas subsequentes de resina composta foram adicionadas à matriz e foto-ativadas, deixando livre um segmento central médio de 4,0 mm de extensão. O contorno dos espécimes foi ajustado com lixas de granulação fina. (Figura 4.3.1.2 (A)).

Figura 4.3.1.2 (A)- Esquema ilustrando o molde de silicone, aplicação de uma 1ª camada de resina composta e posterior adaptação do palito de dentina sobre a resina. Em seguida, toda depressão do molde era preenchida com as camadas adicionais de resina composta. Obtenção final do espécime em forma de haltere.

Os espécimes em forma de haltere foram colocados no interior de um béquer contendo 500 ml de solução de ácido etileno di-amino tetra-acético (EDTA) a 0,5M em pH 7.4. Esta solução foi mantida à temperatura ambiente, sob agitação constante, sendo substituída por uma solução nova ao terceiro dia. Ao prazo de 7 dias, a porção central de dentina exposta ao EDTA apresentava-se descalcificada, permanecendo intacta apenas a dentina que estava presente nas extremidades dos espécimes protegidas por resina composta (Figura 4.3.1.3 (A)). Este protocolo tem se mostrado efetivo para obtenção da completa desmineralização dos espécimes ^{21,111}. Após esta etapa, os espécimes foram lavados e mantidos em 500 ml de água deionizada por adicionais 24 horas sob agitação, até a realização dos testes.

O comprimento, largura e espessura da porção desmineralizada dos espécimes foram mensurados com a utilização de um paquímetro digital (Digimess, ShinKo Precision, China), com os espécimes imersos em água a temperatura ambiente, com o auxílio de um microscópio óptico (10X), para evitar desidratação e compressão durante a medida.

Figura 4.3.1.3 (A)- Ilustração esquemática demonstrando os palitos de dentina com as extremidades protegidas pela resina composta e posterior descalcificação em EDTA, deixando um segmento central livre de 4mm

b- Ensaio mecânico

Os espécimes em forma de haltere foram fixados por suas extremidades por meio de garras de preensão dupla à máquina de ensaio (Vitrodyne V-1000, Chatillon, Greensboro, NC, USA). Especial atenção foi dada no intuito de permitir que a distância entre as garras correspondesse à extensão da área central dos espécimes, ou seja, de 4,0 mm (Figura 4.3.1.4 (A)). Esse dispositivo possibilita a manutenção desta distância fixa durante o teste, permitindo que as tensões geradas sejam transmitidas à célula de

carga. O teste realizado foi do tipo não destrutivo, onde cada espécime serviu como seu próprio controle. Previamente aos testes, cada espécime foi distendido pelo controle manual da máquina, até que acusasse uma carga de inicial 10 g. Este procedimento foi realizado para eliminar o relaxamento natural da matriz desmineralizada e determinar a tensão inicial do teste. O espécime preso às garras foi imerso inicialmente em água e mantido sem perturbação por alguns minutos, para se estabelecer à condição de equilíbrio inicial de tensões, ou seja, um patamar gráfico das tensões geradas na célula de carga.

Figura 4.3.1.4 (A)- Ilustração esquemática demonstrando como os espécimes em forma de haltere eram presos nas garras de dupla preensão da máquina de ensaio, deixando livre a porção central de 4,0 mm. Este conjunto espécime/béquer era imerso nos respectivos solventes para execução do ensaio mecânico

A seguir, os espécimes eram submetidos a um carregamento cíclico de tração e relaxamento, a uma velocidade de 0.6 mm/min, até 5% de deformação (aproximadamente 200 μm), durante 20 minutos, totalizando 30 ciclos. Posteriormente, o béquer de água era substituído por outros contendo acetona, metanol, etanol, propanol ou HEMA puros, de forma aleatória e alternada. Em cada uma das soluções, o espécime era submetido ao mesmo protocolo de carregamento cíclico. As tensões geradas, em função do

carregamento ao longo do tempo, foram captadas por um computador acoplado à máquina. Os solventes e o monômero utilizados não receberam qualquer tratamento adicional, sendo que frascos novos foram utilizados a cada dia para prevenir contaminação com o ar atmosférico. Após o teste com cada solvente, cada espécime era lavado em 500 ml de água deionizada, sob agitação constante, por aproximadamente 160 minutos, até completar a série dos outros espécimes. Ao final deste protocolo, e após a lavagem com água, cada espécime era individualmente seco com papel absorvente e preso à máquina de ensaio, permanecendo os outros espécimes imersos em água. Após o ensaio realizado com todos os solventes e lavagem em água, os espécimes foram deixados secar em ar à temperatura ambiente ($23 \pm 1^\circ\text{C}$, 45% UR) e o mesmo carregamento cíclico de tração e relaxamento utilizado para os solventes a uma deformação de 5% por 20 min foi utilizado para cada um.

c- Propriedade Mecânica

Cada espécime tracionado a 5% de sua dimensão original determinava uma restrição a esse movimento que se traduziu em valores de carga registrados pela célula da máquina. Esses valores eram, posteriormente, calculados na relação de tensão-deformação. A tensão era obtida pela relação entre a força (Kg) pela área da seção transversal (cm^2) do espécime. A deformação do espécime, ou seja, sua elongação em

relação ao comprimento inicial, não foi medida com um extensômetro, mas somente inferida com o deslocamento da garra, portanto, o módulo resultante foi mais bem definido como módulo de elasticidade aparente (E). O valor de Emax foi calculado para ciclos representativos (do ciclo 1 ao 7, 15 e 30) para cada solvente e expresso em MPa. A taxa de enrijecimento (MPa/min) foi calculada através da relação entre a média do Emax (MPa) para cada solvente em relação ao tempo total do ensaio mecânico (20min).

d- Análise estatística

As variações de Emax em função do tempo de imersão nas respectivas soluções foram analisadas por regressão linear. A taxa de enrijecimento foi calculada em função das alterações do módulo por minuto. Curvas obtidas do Emax pelo tempo foram submetidas a análise de variância a 1 critério. O teste de Student-Newman-Keuls, para contraste das médias, foi utilizado quando o resultado da análise de variância detectou diferenças significantes entre os grupos. Todos os testes foram realizados ao nível de significância de $\alpha = 5\%$.

4.3.2(A)-Relaxamento de tensão em espécimes submetidos a carregamento de tração após o equilíbrio em solventes

a- Preparo dos espécimes

Foram utilizados 9 discos de dentina , totalizando 9 espécimes em forma de haltere, medindo aproximadamente 0,8 X 0,8 X 8,0 mm, com área de seção transversal de 0,64 mm². Os espécimes foram obtidos de acordo com o protocolo descrito no item anterior 4.3.1 (A)-a.

b- Ensaio Mecânico

Um patamar inicial do ensaio foi realizado com a imersão aleatória de cada espécime, previamente identificado, em um béquer contendo 500 ml de qualquer um dos solventes: água, propanol, butanol, acetona, etanol, metanol ou HEMA por 60 minutos. Após o estabelecimento desta condição inicial, os espécimes eram fixados por sua extremidade à máquina de ensaio de forma similar à descrita no item 4.3.1(A)-b. O teste realizado foi do tipo não destrutivo, onde cada espécime serviu como seu próprio controle.

Todos os espécimes eram submetidos a um carregamento de tração a uma velocidade de 0.6 mm/min até 3, 5 ou 10% de deformação (aproximadamente 120, 200 e 400 µm, respectivamente). Os espécimes eram mantidos nesta condição de deformação e os valores de tensão gerados foram registrados a cada 3 s durante 10 minutos. Cada espécime era testado e em seguida era trocado por outro espécime que havia sido equilibrado em outra solução e o mesmo carregamento era instituído. Após a realização de cada ensaio com uma solução, o espécime era mantido em

água deionizada (500 ml) por 4 hs antes de ser equilibrado novamente em uma nova solução.

c-Propriedade mecânica

Os valores de tensão foram calculados em função da carga gerada (Kg) pela área de seção transversal de cada espécime (cm^2). A porcentagem de tensão para cada espécime foi calculada pela relação entre a tensão correspondente em cada tempo (ciclo) pelo valor máximo de tensão gerado ao final do teste. Os dados obtidos foram normalizados em taxa de relaxamento de tensão no tempo total do ensaio ($\% \text{ seg}^{-1}$). O tempo necessário para que houvesse uma queda percentual de 50% no valor da tensão máxima foi calculado para cada solvente ($T_{1/2s}$).

d- Análise estatística

Os valores referentes à taxa de relaxamento da tensão pelo tempo, para cada deformação nas respectivas soluções, bem como os valores de $T_{1/2}$ s foram analisados pela análise de variância a 2 critérios (solvente X deformação). O teste de Student-Newman-Keuls para contraste das médias foi utilizado quando o resultado da análise de variância detectou diferenças significantes entre os grupos. Todos os testes foram realizados ao nível de significância de $\alpha = 5\%$.

PARTE B

4.1 (B)- Detalhamento geral do experimento realizado

A taxa de evaporação de misturas experimentais à base de HEMA/solventes foi monitorada, através da medida da perda de massa, a partir de 2 superfícies diferentes.

4.1.1 (B)- Objetivos específicos

Testar a seguinte hipótese nula:

1-de que não há influência do tipo de solvente e da superfície na taxa de evaporação de misturas experimentais à base de HEMA/solventes.

4.2 (B)- Experimento realizado

4.2.1 (B)- **Taxa de evaporação de soluções a base de HEMA/solventes a partir de superfície livre e de dentina desmineralizada**

4.2.1.2 (B)- Delineamento experimental

a- Protocolo experimental para superfície livre

Alíquotas de 50µl das misturas experimentais (35% HEMA/ 65% água, metanol, etanol ou acetona) foram dispensadas, utilizando uma micropipeta de precisão P100 (Gilson, S.A., Velliers-le-Bel, França), em um cilindro de vidro. A alíquota era suficiente para preencher todo o cilindro e, assim, permanecia com uma área de superfície exposta ao ar ambiente de 4,55 mm².

O conjunto cilindro/solução era pesado em uma balança digital (A&D Inc., Japan) à temperatura de 21°C e umidade relativa (UR) do ar de 51%. A massa inicial foi mensurada e as soluções foram deixadas evaporar livremente, enquanto as reduções de massa foram monitoradas por um período de 10 min. Foram realizadas três pesagens para cada mistura para obtenção da média. A figura 4.2.1.3 (C) ilustra a metodologia empregada.

Figura 4.2.1.3 (B)- Ilustração esquemática demonstrando como as soluções experimentais foram pesadas. Cada cilindro foi preenchido com (50 μ l) da solução experimental. Foram realizadas 3 leituras para obtenção da média final

b- Protocolo experimental para os cubos de dentina

Cinco cubos foram obtidos do disco de dentina da sua porção médio-coronal, com área de superfície de 24 mm², que foram identificados e pesados. Após a pesagem inicial, os cubos mineralizados, previamente individualizados, foram descalcificados em EDTA de acordo com o protocolo descrito na parte A. Ao final deste prazo, os cubos eram secos levemente com papel absorvente para remover o excesso de água e deixados em estufa a 37^o C por 24h para posterior pesagem. Cada cubo foi individualmente

imerso em um frasco contendo 5 ml de cada solução experimental por 5 min, e em seguida transferido para outro frasco contendo uma solução recém manipulada por 5 min adicionais. Dessa forma, todos os espécimes eram imersos nas soluções experimentais por 10 min previamente ao início das pesagens. Os cubos eram secos ligeiramente com papel absorvente e a pesagem seguiu o mesmo protocolo estabelecido para superfície livre (4.2.1.3(B)-a). A figura 4.2.1.4 (B) ilustra a metodologia empregada.

Figura 4.2.1.4(B)-Ilustração esquemática demonstrando o protocolo de obtenção dos cubos de dentina através dos discos obtidos da porção médio-coronal dos dentes. Após a descalcificação, cada cubo era individualmente imerso em respectiva solução (5 ml) e a perda de massa era monitorada por 10 min

c- Análise estatística

A taxa de evaporação (%/min) foi calculada através da relação entre a média de perda de massa em relação ao tempo (10min) em ambas as superfícies consideradas. A porcentagem de perda de massa, ao final do tempo do ensaio, foi obtida para ambas as condições experimentais. Os

dados obtidos foram submetidos à análise de variância a dois critérios (solução experimental X superfície). O teste de Student-Newman-Keuls foi utilizado para identificar em quais grupos a análise de variância detectou diferenças entre os fatores em estudo. Todos os testes foram realizados com nível de significância em $\alpha=5\%$.

PARTE C

4.1 (C)- Detalhamento geral dos experimentos realizados

O ensaio mecânico de tração foi utilizado para determinação da tensão máxima suportada pela união dentina/resina composta, que será de agora em diante denominado resistência de união (RU). Especificamente, esta propriedade foi avaliada em 2 experimentos de acordo com: o efeito do brilho superficial, ou número de camadas após a aplicação de *primers*; e a durabilidade da união à dentina obtida com os *primers* após períodos de armazenagem. Foram utilizadas misturas experimentais à base de HEMA/solventes para manipulação dos *primers*.

4.1.1 (C)-Objetivos específicos

Testar as seguintes hipóteses nulas:

1- de que o número de camadas aplicadas de *primers* experimentais (HEMA/solventes) não irá influenciar os valores de resistência de união à dentina;

2- de que o tipo de solvente e o tempo de armazenagem não irão influenciar nos valores de RU à dentina mediada por *primers* experimentais à base de HEMA/solventes.

4.2 (C)- Delineamento experimental

Nesta parte do estudo foi utilizado o sistema adesivo Amalgambond-Plus (Parkel, Farmingdale, USA) . Este sistema é um adesivo que compreende 3 passos de aplicação clínica. O primeiro passo é o tratamento da dentina com um condicionador ácido (solução 10-3, 10% ácido cítrico + 3% cloreto férrico). Os passos seguintes estão representados pela aplicação de duas soluções. A primeira solução (passo 2) é considerada o *primer* do produto. Essa solução é uma mistura de 35% HEMA e 65% água. Para a finalidade de nosso estudo essa solução foi considerada o *primer* controle, uma vez que as soluções experimentais foram compostas por uma mistura de 35% HEMA + 65% dos respectivos solventes em teste. A segunda solução (passo 3) é o adesivo do produto. É um adesivo a base de composição 4-META/TBBO (4-metacrilóxi-trimelitato anidro/ tri-butil borano), comum em alguns adesivos de origem japonesa, o qual se polimeriza por reação química após mistura. A conveniência do uso desse sistema se traduziu no fato de que o catalisador TBBO, além de promover a polimerização do monômero 4-META, induz a transformação do HEMA em

poli-HEMA, copolimerizando esse monômero do *primer* com o monômero do adesivo. A utilização deste sistema adesivo possibilitou o emprego do mesmo procedimento de condicionamento e aplicação do adesivo, permitindo variar a solução do *primer* com nossos produtos experimentais.

4.3 (C)- Experimentos realizados

4.3.1 (C)- Efeito do brilho de superfície na resistência adesiva de primers experimentais à dentina

a- Modo de aplicação dos *primers* experimentais

A superfície dentinária exposta foi condicionada com solução aquosa de ácido fosfórico a 35% (3M/ESPE) por 15 segundos, seguido de lavagem com água por 20 s. Em seguida, a superfície foi seca com jatos de ar comprimido por 30 s a uma distância de 10 cm da superfície. A técnica úmida é considerada hoje um procedimento universal, associada ao condicionamento ácido para obtenção de maiores valores de resistência de união^{50,66,67,68}. Porém, existe grande subjetividade na interpretação do quão úmido a dentina possa ficar. Como uma forma de padronização do substrato, optamos pela secagem da dentina após o condicionamento ácido. As soluções experimentais (35% HEMA/65% solventes: etanol, metanol ou acetona) (V/V) foram aplicadas sobre a dentina em 2 camadas (sem brilho

superficial) ou 3 camadas (com brilho superficial). A relação n° de camadas/brilho de superfície foi determinada em um teste piloto. A condição de brilho superficial determinou 2 grupos. Cada grupo era constituído por 3 dentes para cada *primer* experimental. O *primer* era deixado sobre a superfície sem perturbação por 30 s e, em seguida, o solvente era evaporado com a utilização de um jato de por 30s. Após este procedimento, os componentes do agente adesivo (4-META/TBBO) eram misturados e aplicados em duas camadas homogêneas com auxílio de um *microbrush* sobre a superfície dentinária. O adesivo era mantido por 60 segundos sem perturbação na superfície, de maneira a permitir a sua polimerização química. Com a resina composta do tipo micro-híbrida Clearfil AP-X (Kuraray Co, LTD, Japão) foi realizada a construção da “coroa” de resina. Foram utilizadas quatro camadas de resina composta (1mm cada), até atingir a altura de aproximadamente 4 mm. Cada camada foi foto-ativada por 40s empregando-se a unidade fotopolimerizadora Curing Light XL3000 (3M/ESPE), cuja densidade de potência foi verificada por radiômetro (Model 100, KERR Corporation, Orange, CA, USA) com um mínimo de 400 mW/cm².

b-Preparo dos espécimes para realização do ensaio mecânico

Os espécimes “restaurados” foram armazenados em água destilada a 37°C por 24 horas. Ao final desse período, cada dente foi fixado pela sua extremidade radicular a uma placa de acrílico e adaptado à máquina de

cortes seriados (Imptech PC 10 Pression Cutter). Este procedimento permitiu a realização de cortes seriados em planos transversais à interface dentina-resina composta nos sentidos méso-distal e vestibulo-lingual¹³⁷. Um último corte foi realizado em um plano paralelo à interface adesiva, transversalmente ao eixo longitudinal do dente na porção radicular distante de aproximadamente 8mm da interface. Dessa forma, eram obtidos diversos espécimes constituídos de resina composta e dentina, denominados palitos, unidos pela interface adesiva com área de seção transversal de aproximadamente 0,7 mm².

Os palitos foram individualmente fixados, pelas extremidades, ao dispositivo BENCOR da máquina de testes universal EMIC DL 500 BF com um adesivo à base de cianocrilato (Zapit, Dental Ventures of América, Anaheim, Corona, CA) e testados sob força de tração perpendicular à interface adesiva a uma velocidade de 0,5 mm/min até a ruptura do espécime. Após a fratura, os espécimes eram removidos do dispositivo de ensaio utilizando uma lâmina de bisturi nº 12. As superfícies fraturadas de ambos os segmentos foram analisadas com o auxílio de um microscópio ótico (DINEX, México) com 40x de aumento para determinação do padrão de fratura. A área de seção transversal foi medida com um paquímetro digital (Digimess, Panamba Industrial e Técnica S/A) até uma aproximação de 0,01 mm.

A tensão necessária para causar ruptura dos espécimes foi determinada pela razão entre a carga (Kgf) no momento da fratura e a área

da seção transversa do espécime em cm^2 . Os valores obtidos foram convertidos em MPa e, concomitantemente, passaram a se referir ao valor de resistência de união (RU) de cada espécime testado.

c- Análise Estatística

A partir dos dados originais foram calculados os valores de média da superfície de área transversa e da RU em função da condição experimental de cada grupo. As médias das áreas obtidas entre os grupos foram submetidas à análise de variância a um critério (área).

A condição de brilho superficial e sua relação com a RU, para cada primer experimental, foram determinadas pelo teste T de Student com limite de significância estatística em $\alpha = 5\%$.

4.3.2 (C)- **Avaliação da longevidade da resistência de união à dentina mediada por *primers* experimentais à base de HEMA/solventes**

a- Modo de aplicação dos *primers* experimentais :

A superfície dentinária foi condicionada com solução aquosa de ácido fosfórico a 35%, lavada e seca com jato de ar a uma distância de 10 cm da superfície por 30s (como no experimento descrito anteriormente). Os *primers* experimentais (HEMA/etanol, metanol, água, acetona ou propanol) foram aplicados em 3 camadas consecutivas sobre a dentina desmineralizada e a

superfície foi deixada sem perturbação por 30 segundos. Após esse período, procedeu-se à evaporação dos solventes por 30 segundos adicionais. Desta forma, cada grupo foi constituído por 9 dentes para cada *primer* experimental. Após este procedimento, as etapas seguiram o protocolo descrito no item anterior 4.3.1 (C)-a; com exceção de que foi utilizada a resina composta micro-híbrida Z100 (3M/ESPE) para construção da “coroa” de resina.

b-Preparo dos espécimes para realização do ensaio mecânico

O mesmo protocolo para obtenção dos espécimes foi adotado do estudo anterior (item 4.3.1 (B)-c). Algumas modificações foram adotadas e listadas a seguir. Os espécimes obtidos, apresentavam uma área de seção transversal de aproximadamente 0,8 mm².

Os espécimes eram individualmente fixados ao dispositivo próprio da máquina de ensaio Vitrodyne V-1000 com um adesivo à base de cianocrilato (Model Repair II Blue, Sankin Kogyo, K.K., Japan) e testados sob força de tração perpendicular à interface adesiva a uma velocidade de 0,6 mm/min até a ruptura do espécime.

A tensão necessária para causar ruptura dos espécimes foi determinada pela razão entre a carga (Kgf) no momento da fratura e a área da seção transversa do espécime em cm². Os valores obtidos foram

convertidos em MPa e concomitantemente passaram a se referir ao valor de resistência de união (RU) de cada espécime testado.

A figura 4.3.2.1 (C) ilustra a seqüência operatória utilizada para obtenção dos espécimes e o ensaio mecânico utilizado.

Figura 4.3.2.1 (C)- Esquema ilustrativo da exposição da dentina médio-coronal, lavagem e secagem da superfície por 30 s, aplicação dos *primers* experimentais, construção da “coroa” de resina composta e obtenção dos palitos para o ensaio mecânico

c- Armazenagem

Dentro de cada grupo experimental, o número total de palitos obtidos foi aleatoriamente distribuído em 3 tempos de armazenagem: 24 horas (grupo controle, testado imediatamente à obtenção dos palitos); 6 meses ou 1 ano (durante esses 2 tempos de armazenagem, os palitos eram mantidos imersos em água deionizada a 37°C).

d- Análise estatística

A partir dos dados originais foram calculados os valores de média da superfície da área transversal e da RU em função da condição de armazenagem. As medias das áreas obtidas para cada grupo foram submetidas à análise de variância a um critério (área).

Os dados obtidos da RU foram submetidos à análise de variância a dois critérios (*Primer* X tempo de armazenagem). O teste de Student-Newman-Keuls foi utilizado para identificar em quais grupos a análise de variância detectou diferenças entre os fatores em estudo. Todos os testes foram realizados com nível de significância em $\alpha=5\%$.

A análise por regressão linear foi utilizada para testar a correlação entre RU (24hs) com os parâmetros de solubilidade, (δ_d), (δ_p), (δ_h) (δ_t), dos *primers* experimentais.

RESULTADOS

5. Resultados

5- Resultados

Assim como em “Material e Métodos”, este capítulo foi dividido em 3 partes A, B e C, de acordo com os resultados obtidos de cada experimento. A parte A refere-se aos resultados obtidos das propriedades mecânicas da matriz de dentina desmineralizada. A parte B refere-se aos resultados obtidos da taxa de evaporação de soluções experimentais a partir de duas superfícies distintas. Na parte C foram descritos os dados obtidos do ensaio de tração, de acordo com a resistência de união de soluções experimentais à dentina, em relação à importância do brilho de superfície e a durabilidade da união.

PARTE A

5.1 (A)-Resultados do experimento relativo à taxa de enrijecimento da matriz de dentina desmineralizada.

Os efeitos dos solventes na taxa de enrijecimento da matriz de dentina desmineralizada e no módulo de elasticidade aparente (EMax) estão sumarizados na tabela 5.1.1(A) e no gráfico 5.1.3 (A).

Tabela 5.1.1 (A)- Módulo de elasticidade máximo aparente (E Max) obtido em ciclos representativos e taxa de enrijecimento (MPa/min) da dentina desmineralizada induzida por diferentes solventes

Solventes/ Monômero	Taxa de enrijecimento MPa/min	E Max (MPa) *		
		Ciclo 1	Ciclo 15	Ciclo 30
Água	-0.07 ± 0.03c	10.9 ± 2.5 ^a	10.0 ± 2.6a	9.4 ± 2.3a
HEMA	0.21 ± 0.15b	12.3 ± 8.3 ^a	13.4 ± 8.6ad	15.7 ± 11.0a
Propanol	0.54 ± 0.19a	18.9 ± 10.4a	24.6 ± 10.9bc	30.1 ± 13.1b
Metanol	0.59 ± 0.17a	21.3 ± 4.2 ^a	29.2 ± 6.8bc	33.3 ± 7.1b
Ar	0.68 ± 0.44a	16.4 ± 7.9 ^a	18.6 ± 7.9ac	28.7 ± 12.6b
Etanol	0.80 ± 0.27a	15.5 ± 5.8 ^a	24.8 ± 8.9bcd	31.7 ± 11.0b
Acetona	0.93 ± 0.24a	18.5 ± 3.4 ^a	28.4 ± 4.3bc	37.4 ± 6.1b

Valores de EMax estão expressos em MPa±DP

N=5 espécimes em cada grupo

Os valores de média designados com as mesmas letras não são estatisticamente significantes com $p < 0.05$ (análise por coluna)

* 5% de deformação.

A análise por regressão linear demonstrou que o módulo de elasticidade máximo aparente (EMax) aumentou significativamente com o

tempo para todos os solventes anidros ($R^2=0,8 - 0,99$, $p<0,05$). A taxa de enrijecimento foi maior para acetona e etanol, intermediária para ar, metanol, propanol, menor para o HEMA (tabela 5.1.1 (A)). No ciclo 1 (40s), não houve diferença estatística significativa entre os solventes em relação ao EMax ($p<0,05$). Após 10 min de teste (ciclo 15), espécimes imersos em acetona, etanol, metanol e propanol foram mais rígidos ($p<0,05$) do que aqueles imersos em água e HEMA, porém, sem diferenças do ar ($p<0,05$). Ao final do protocolo do ensaio, o Emax foi semelhante para todos os solventes, porém com diferença estatística significativa da água e HEMA (ciclo 30, 20 min, $p<0,05$). Curvas típicas representativas da relação do Emax/tempo estão demonstradas no gráfico 5.1.3 (A).

A tabela 5.1.2 (A) indica a significância entre os valores de Emax para todas as soluções do ciclo 2 ao 7 ($A>B>C$). Cada ciclo analisado corresponde a aproximadamente 40s. No ciclo 2 (80 s) e ciclo 3 (120s), não houve alteração significativa do Emax para todas as soluções ($p>0,05$), exceto para o metanol que causou um aumento significativo do Emax em relação à água. Nos ciclos 4 (160s) e 5 (200s) o EMax permaneceu semelhante para todas as soluções, exceto para acetona e metanol que foram diferentes da água. Ao final, nos ciclo 6 (240s) e ciclo 7 (280s), o EMax foi semelhante para todos os solventes, sendo que somente o HEMA e o ar não apresentaram diferença estatística significativa comparada à água ($p>0,05$).

Tabela 5.1.2 (A)- Significância entre os valores médios de Emax obtidos para todas as soluções do ciclo 2 ao 7 (por coluna). A > B > C com $p < 0,05$.

Solventes e monômero	Ciclo 2	Ciclo 3	Ciclo 4	Ciclo 5	Ciclo 6	Ciclo 7
Metanol	A	A	A	A	A	A
Acetona	AB	AB	AB	AB	A	A
Ar	AB	AB	ABC	ABC	AB	AB
Etanol	AB	AB	ABC	ABC	A	A
Propanol	AB	AB	ABC	ABC	A	A
HEMA	AB	AB	BC	BC	AB	AB
Água	B	B	C	C	B	B

No gráfico 5.1.3 (A) podem ser observadas curvas típicas de Emax/tempo.

Gráfico 5.1.3 (A)- Alterações nos valores médios de EMax (MPa) da matriz de dentina desmineralizada em função do tempo de imersão (min) em solventes puros. Água serviu como controle e não induziu alterações no E.

5.2 (A)-Resultado relativo ao experimento de relaxamento da tensão da dentina desmineralizada.

A percentagem de relaxamento da tensão da matriz de dentina desmineralizada com o tempo, submetida ao carregamento de tração, após imersão em diferentes solventes, está sumarizada nas tabelas 5.2.1(A) e 5.2.2 (A).

Tabela 5.2.1 (A)- Porcentagem de relaxamento das tensões pelo tempo (% seg^{-1}) da matriz de dentina desmineralizada, após a imersão em solventes, sob diferentes deformações.

Relaxamento das tensões (% seg^{-1})	3%	5%	10%
Água	$0.02 \pm 0.01\text{aA}$	$0.02 \pm 0.01\text{dA}$	$0.03 \pm 0.01\text{aA}$
Metanol	$0.05 \pm 0.02\text{abA}$	$0.10 \pm 0.05\text{cB}$	$0.14 \pm 0.04\text{bB}$
Butanol	$0.05 \pm 0.02\text{abA}$	$0.18 \pm 0.06\text{abB}$	$0.17 \pm 0.05\text{bB}$
HEMA	$0.08 \pm 0.03\text{abA}$	$0.20 \pm 0.04\text{abB}$	$0.15 \pm 0.05\text{bB}$
Etanol	$0.09 \pm 0.03\text{bcA}$	$0.13 \pm 0.03\text{bcB}$	$0.18 \pm 0.10\text{bB}$
Propanol	$0.10 \pm 0.05\text{bcA}$	$0.20 \pm 0.06\text{abB}$	$0.18 \pm 0.06\text{bB}$
Acetona	$0.12 \pm 0.07\text{cA}$	$0.22 \pm 0.09\text{aB}$	$0.16 \pm 0.09\text{bB}$

N=9 espécimes em cada grupo

Letras maiúsculas iguais: sem diferença estatística (análise por linha)

Letras minúsculas iguais: sem diferença estatística (análise por coluna) $p < 0,05$

Os espécimes previamente equilibrados nas soluções foram submetidos ao ensaio de tração, a uma velocidade de 0.6 mm/min a deformações de 3, 5 e 10%. A tensão gerada foi proporcional à respectiva deformação e dependente do solvente utilizado (gráficos 5.2.3 (A) a 5.2.5 (A)). Os dados obtidos foram normalizados para uma relação entre a diferença percentual entre a tensão máxima e a tensão mínima gerada pelo

tempo (10 min=600 s). O relaxamento das tensões (% seg⁻¹) foi calculado para cada solução em cada deformação (tabela 5.2.1 (A)). A 3% de deformação, a diferença entre a porcentagem da tensão máxima e a mínima gerada foi maior para acetona, propanol e etanol, sendo intermediária para HEMA, butanol e metanol. A 5% de deformação, os resultados foram semelhantes, sendo que a diferença entre os valores de tensão para o etanol foi intermediária e para o butanol foi maior do que o observado na deformação de 3%. A 10% de deformação, a tensão resultante (máxima - mínima) foi semelhante para todas as soluções, com exceção da água ($p < 0,05$) (tabela 5.2.1 (A)). A diferença entre tensão máxima e mínima para água foi inferior a todas as outras soluções e não dependeu da deformação inicial induzida à matriz de dentina ($p > 0,05$).

A tabela 5.2.2 ilustra o tempo necessário para que a tensão gerada pelo equilíbrio dos espécimes nas soluções, apresentasse uma queda de 50% do seu valor máximo (100%).

Tabela 5.2.2 (A)- Tempo necessário para ocorrer uma queda de 50% no valor de tensão em relação ao seu valor máximo (T1/2 s)

T 1/2 (s)	3%	5%	10%
Água	* 0 aA	7.5 ± 3.9 aB	16.5 ± 7.2 aB
Metanol	11.1 ± 8 bA	12.7 ± 3.9 bB	19.9 ± 3.2 bB
Butanol	11.5 ± 14.4 bcA	29 ± 4.2 bcB	33 ± 5.5 bcB
HEMA	18.9 ± 7.1bcA	24.3 ± 5.1bcB	25.7 ± 4.2 bcB
Etanol	18.6 ± 5.1 cA	22.7 ± 7.1cB	27.5 ± 10.1cB
Propanol	22.5 ± 4.7 bcA	22.3 ± 6.2 bcB	21 ± 6.7 bcB
Acetona	11.4 ± 4.6 bcA	12 ± 2.6abcB	15 ± 7.6 abcB

* A 3% de deformação: não correu T 1/2 s

Letras minúsculas iguais: sem diferença estatística (comparação por coluna)

Letras maiúsculas iguais: sem diferença estatística (comparação por linha) ($p < 0.05$)

O tempo necessário para que houvesse uma queda de 50% ($T_{1/2}(s)$) da tensão máxima gerada foi dependente da solução em que o espécime foi equilibrado e da porcentagem da deformação inicialmente induzida ($p < 0,05$). De uma maneira geral, quanto maior a deformação, maior o tempo necessário para uma queda da tensão máxima, sem diferença estatística significativa de 5 para 10% de deformação ($p > 0,05$). A 3% de deformação, a tensão gerada pela imersão em água foi praticamente inexistente, desta forma não ocorreu $T_{1/2}(s)$ ($p < 0,05$). Nas deformações de 5 e 10%, o tempo necessário de queda da tensão máxima foi semelhante para os solventes, sendo que o tempo foi menor para os espécimes equilibrados em água sem diferença estatística significativa da acetona ($p > 0,05$).

Curvas típicas representativas da relação entre tensão máxima/tempo podem ser visualizadas nos gráficos 5.2.3 (A), 5.2.4 (A) e 5.2.5 (A). Quanto maior a porcentagem de deformação (3-5-10%) inicial induzida para cada espécime, maior a tensão máxima gerada com tempo. Em uma mesma taxa de deformação, o grau de inclinação da curva foi diferente para cada solvente utilizado ($p < 0,05$).

Gráfico 5.2.3 (A)-Curvas representativas do relaxamento das tensões (MPa) em função do tempo (s), a 3% de deformação, da matriz de dentina desmineralizada induzida por diferentes solventes.

Gráfico 5.2.4 (A)- Curvas representativas do relaxamento das tensões (MPa) em função do tempo (s), a 5% de deformação, da matriz de dentina desmineralizada induzida por diferentes solventes.

Gráfico 5.2.5 (A)- Curvas representativas do relaxamento das tensões (MPa) em função do tempo (s), a 10% de deformação, da matriz de dentina desmineralizada induzida por diferentes solventes.

PARTE B

5.1 (B)- Resultado relativo ao experimento da taxa de evaporação de misturas à base de HEMA/solventes a partir de superfície livre e de dentina desmineralizada

Os cubos de dentina mineralizados (N=5) tiveram uma média de massa inicial de 0.0172 (0.0010) mg. Essa média diminuiu em cerca de 50% quando os mesmos foram descalcificados 0.0088 (0.0007) mg. Os cubos foram armazenados a seco em estufa a 37⁰ C e re-imersos em água

deionizada por adicionais 24hs. Ao final deste prazo, o valor médio da massa dos cubos foi semelhante à média observada inicialmente 0.0087 (0.0005) mg.

Ao final do ensaio, a taxa de evaporação e a perda de massa total (%) foram diferentes entre as soluções experimentais nas duas superfícies avaliadas ($p < 0,05$). Ambas as variáveis em estudo, tipo de solvente e tipo de superfície, exerceram influência na taxa de evaporação das soluções experimentais ($p < 0,05$). Em dentina, a taxa de evaporação das soluções foi mais rápida quando comparada à superfície livre ($p < 0,05$). Independente da superfície avaliada, a seqüência de evaporação das soluções experimentais foi similar: $H/AC = H/M \geq H/E = H/AG$. Os dados obtidos em relação à perda de massa total (%) e à taxa de evaporação para todas as soluções experimentais nas 2 condições avaliadas, podem ser visualizados na tabela 5.1.1 (B).

Tabela 5.1.1(B) – Taxa de evaporação e perda de massa (%) para cada solução experimental nas 2 superfícies avaliadas

Primer	Taxa de evaporação (%/ min)		Perda de massa total (%)	
	livre	Dentina	Livre	dentina
H/A	0.31 ± 0.03 aA	1.55 ± 1.02 aB	3.12 ± 0.25 aA	15.47 ± 10.17 aB
H/E	1.22 ± 0.14 abA	2.83 ± 1.19 abB	12.19 ± 1.40 abA	28.32 ± 11.88 abB
H/M	2.58 ± 0.65 bA	3.71 ± 1.74 bB	25.75 ± 6.45 bA	37.10 ± 17.39 bB
H/AC	3.30 ± 0.40 bA	3.13 ± 1.35 bB	32.98 ± 4.00 bA	31.33 ± 13.51 bB

Grupos identificados por letras diferentes são estatisticamente significantes (p<0,05)

Letras maiúsculas indicam análise por linha

Letras minúsculas indicam análise por coluna

A porcentagem de perda de massa foi expressa em termos relativos de acordo com a média de massa (%) pelo tempo (min) para cada solução. As curvas obtidas em ambas as superfícies tiveram praticamente duas inclinações diferentes, um maior declínio inicial o que correspondeu a uma rápida evaporação dos solventes, com um declínio menos pronunciado ao final do tempo de ensaio, devido a uma maior proporção do monômero HEMA em relação ao solvente (Gráficos 5.1.2 e 5.1.3 (B)). Para os cubos de dentina desmineralizada, observa-se uma maior tendência de perda de massa com o tempo (600s) (Tabela 5.1.1 (B)). Para a superfície livre, a evaporação foi homogênea no período inicial de avaliação (até 60s) (gráfico inserido no gráfico 5.1.2 (B)). Por outro lado, nos cubos de dentina, o padrão de evaporação, no mesmo período de avaliação, não demonstrou um comportamento homogêneo (gráfico inserido no gráfico 5.1.3 (B)). Os resultados obtidos demonstram que mínima evaporação ocorre dentro de

30s, com uma perda de massa aproximada de no máximo 4% para superfície livre e 12 % para os cubos de dentina.

Gráfico 5.1.2 (B)- Média da perda de massa (%) para todas as soluções experimentais em função do tempo (s) para superfície livre. Valores representam a média de 3 leituras. Inserido: Perda de massa aos 60s.

Gráfico 5.1.3 (B)- Média da perda de massa (%) para todas as soluções experimentais em função do tempo (s) para os cubos de dentina desmineralizada. Valores representam a média de 5 leituras. Inserido: Perda de massa aos 60s

PARTE C

5.1 (C)- Resultado relativo ao experimento da importância do brilho superficial obtido com a aplicação dos *primers* experimentais na RU à dentina

Para análise da RU, os valores médios das áreas de superfície da seção transversal dos espécimes foram submetidos à análise de variância a 1 critério e não foi detectada diferença estatística significativa entre as áreas ($p > 0.05$).

Os valores obtidos após o ensaio mecânico podem ser visualizados na tabela 5.1.1 (C). Os valores de RU foram maiores quando o brilho de superfície estava presente após a aplicação dos *primers* experimentais ($p < 0,05$). A manutenção do brilho de superfície, ou seja, um maior número de camadas, aumentou de maneira significativa a RU para todos os *primers* utilizados.

Os modos de fratura foram classificados em : misto e/ou adesivo (A/M), coesivo em resina (CR) ou coesivo em dentina (CD). A maior ocorrência de fraturas foi do tipo A/M para todas condições avaliadas.

Tabela 5.1.1 (C)- Valores de média (MPa) e desvio-padrão da resistência de união de acordo com o brilho de superfície obtida com os *primers* experimentais:

<i>Primers</i> Superfície	35%HEMA/ 65%Acetona	35%HEMA/ 65%Etanol	35%HEMA/ 65%Metanol
Sem brilho	10.70 ± 5.29 (N=30)a	15.20 ± 7.59 (N=52)a	13.95 ± 5.97 (N=39)a
Com brilho	22.53 ± 11.44 (N=38)b	24.28 ± 10.33 (N=42)b	21.01 ± 8.20 (N=48)b

* Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa com $p < 0,05$ (análise por coluna)

N= n° de espécimes

5.2 (C)- Resultado relativo ao experimento da durabilidade da RU à dentina utilizando *primers* experimentais

O número total de espécimes obtidos para cada *primer* experimental, em cada tempo de armazenagem, bem como o número de espécimes fraturados antes do teste está listado na tabela 5.2.1 (C).

Tabela 5.2.1 (C)- Relação (%) entre número de espécimes fraturados e número de espécimes obtidos antes do ensaio mecânico para cada condição experimental

Grupos	Tempo de armazenagem (água)		
	24 horas	6 meses	1 ano
H/M	16/54 (27,7%)	8/57 (14%)	7/56 (12,5%)
H/E	23/55 (41,8%)	12/44 (27,3%)	6/44 (13,6%)
H/AC	26/56 (46,4%)	20/41 (48,8 %)	13/42 (30,9%)
H/P	16/51 (31,1%)	10/41 (24,4%)	6/40 (15%)
H/AG	5/47 (10,6%)	4/39 (10,3%)	12/44 (27,3%)

Essa relação nos permite observar uma comparação entre os grupos no que tange à fragilidade da união apresentada por esses espécimes, a despeito de que os mesmos não foram utilizados no ensaio mecânico devido à fratura precoce. De uma maneira geral, as maiores porcentagens de perda prematuras dos espécimes ocorreram após o período de 24 hs e as menores perdas após 1 ano de armazenagem, como pode ser visto na tabela 5.2.1 (C). Os espécimes perdidos não foram considerados para obtenção dos valores de RU.

A observação qualitativa do modo de fratura para todos os espécimes testados dos grupos experimentais de acordo com o tempo de armazenagem, pode ser analisada na tabela 5.2.2 (C). Os modos de fratura foram classificados em: misto e/ou adesivo (A/M), coesivo em resina (CR) ou coesivo em dentina (CD).

Tabela 5.2.2 (C)- Observação do modo de fratura em todos os espécimes testados de acordo com o grupo experimental e tempo de armazenagem

Grupos	MODO DE FRATURA								
	24 horas			6 meses			1 ano		
	A/M	CR	CD	A/M	CR	CD	A/M	CR	CD
H/M	35	0	3	47	1	1	48	0	1
H/E	29	0	3	31	0	1	38	0	0
H/AC	30	0	0	21	0	0	29	0	0
H/P	35	0	0	31	0	0	34	0	0
H/AG	42	0	0	35	0	0	32	0	0

Em relação ao modo de fratura, pode ser observado que a maior ocorrência de falhas foi do tipo A/M, independente do grupo experimental e do tempo de armazenagem avaliado.

Para análise da RU, os valores médios das áreas de superfície da seção transversal dos espécimes foram submetidos à análise de variância a 1 critério e não foi detectada diferença estatística significativa entre as áreas ($p > 0.05$). Essa análise é imprescindível para comparação da RU entre grupos experimentais¹⁰⁶.

Tabela 5.2.3 (C)- Média e desvio-padrão das áreas da seção transversa (mm^2) e número de espécimes testados (N) para cada grupo experimental de acordo com o tempo de armazenagem

Grupos	ÁREA (mm^2) e (N)		
	24 horas	6 meses	1 ano
H/M	$0,82 \pm 0,01(44)$	$0,80 \pm 0,01(49)$	$0,78 \pm 0,01(49)$
H/E	$0,84 \pm 0,01(39)$	$0,81 \pm 0,01(32)$	$0,83 \pm 0,02(38)$
H/AC	$0,84 \pm 0,01(38)$	$0,80 \pm 0,02(21)$	$0,79 \pm 0,01(29)$
H/P	$0,85 \pm 0,01(36)$	$0,77 \pm 0,01(31)$	$0,76 \pm 0,02(34)$
H/AG	$0,79 \pm 0,01(42)$	$0,72 \pm 0,01(35)$	$0,74 \pm 0,01(32)$

Os valores de RU, em todos os períodos de armazenagem, para a dentina mantida seca e tratada com os diferentes *primers* experimentais podem ser visualizados através da análise da Tabela 5.2.4 (C).

Tabela 5.2.4 (C)- Efeito dos *primers* experimentais à base de HEMA/solventes na resistência de união de acordo com o tempo de armazenagem

Grupos	Armazenagem		
	24hs	6meses	1ano
H/M	$43.3 \pm 18.5(44)A,a$	$27.4 \pm 13.7(49)A,b$	$29.9 \pm 16.8(49)A,b$
H/E	$38.7 \pm 16.5(39)A,a$	$27.7 \pm 17.1(32)A,b$	$27.0 \pm 13.3(38)A,b$
H/AC	$22.4 \pm 10.1(38)B,a$	$7.4 \pm 4.6(21)B,b$	$7.1 \pm 3.9(29)B,b$
H/P	$14.8 \pm 4.7(36)C,a$	$10.7 \pm 6.9(31)B,a$	$10.1 \pm 6.4(34)B,a$
H/AG	$11.9 \pm 5.5(42)C,a$	$5.7 \pm 3.9(35)B,b$	$5.9 \pm 3.1(32)B,b$

N=número de espécimes

Grupos identificados por letras diferentes são estatisticamente significantes ($p < 0,05$)

Letras maiúsculas indicam análise por coluna

Letras minúsculas indicam análise por linha

Valores estão em $\text{MPa} \pm \text{DP} (n)$

Os menores valores de RU, no período controle (24hs), foi observado para HEMA/água (11.9 ± 5.5 MPa) e HEMA/propanol (14.8 ± 4.7 MPa). HEMA/acetona produziu valores intermediários de RU (22.4 ± 10.1 MPa) após 24 hs, enquanto HEMA/metanol e HEMA/etanol produziram os maiores valores de RU (43.3 ± 18.5 e 38.7 ± 16.5 MPa, respectivamente). Os maiores valores de RU foram obtidos para H/M e H/E em todos os períodos avaliados ($p > 0,05$). Independente do *primer* utilizado, a estocagem em água por 6 meses reduziu os valores de RU ($p < 0,05$). Por sua vez, essa redução na RU foi mantida após 1 ano de armazenagem, com exceção do H/P, que apresentou valores de RU semelhantes para todos os períodos avaliados ($p > 0,05$).

De uma maneira geral, os resultados sugerem que a armazenagem em água deionizada leva a significativa redução nos valores de RU, sendo que este efeito parece ser *primer*-dependente. As porcentagens de alteração na RU para todos os *primers* experimentais de acordo com o tempo de estocagem, estão demonstrados na tabela 5.2.5 (C).

Tabela 5.2.5 (C)- Efeito dos *primers* experimentais à base de HEMA/solventes na porcentagem (%) de redução na RU após 6 meses e 1 ano de armazenagem em água

<i>Primers</i>	Armazenagem (água deionizada)	Redução (%)
HEMA/água	6 meses	42%
HEMA/água	1 ano	47%
HEMA/acetona	6 meses	51%
HEMA/acetona	1 ano	65%
HEMA/propanol	6 meses	43%
HEMA/propanol	1 ano	30%
HEMA/etanol	6 meses	21%
HEMA/etanol	1 ano	30%
HEMA/metanol	6 meses	34%
HEMA/metanol	1 ano	30%

Os gráficos 5.2.1 a 5.2.4 demonstram a relação linear para os valores de RU (24hs) em função do parâmetro de solubilidade ($\delta_d, \delta_p, \delta_h, \delta_t$) para os *primers* experimentais.

Gráfico 5.2.1(C)- Relação linear entre RU e (δ_d) para todos os *primers* experimentais no tempo controle (24 hs), com exceção para mistura HEMA/água.

Gráfico 5.2.2(C)- Relação linear entre RU e (δ_p) para todos os *primers* experimentais no tempo controle (24 hs), com exceção da mistura HEMA/água

Gráfico 5.2.3(C)- Relação linear entre RU e (δ_h) para todos os *primers* experimentais no tempo controle (24 hs), com exceção da mistura HEMA/água

Gráfico 5.2.4(C)- Relação linear entre RU e (δ_t) para todos os *primers* experimentais no tempo controle (24 hs), com exceção da mistura HEMA/água

DISCUSSÃO

6. *Discussão*

Todas as variáveis em estudo, representativas dos diferentes experimentos realizados, estão interligadas e se prestaram a investigar um objetivo comum: analisar o comportamento do substrato dentinário desmineralizado frente à ação de solventes e monômero puros, ou mistura de ambos, e sua determinante para obtenção da união resina/dentina. Todas as inter-relações avaliadas se sobrepõem dinamicamente, sendo, muitas vezes, difícil conseguir a sua dissociação em tópicos para discussão dos assuntos separadamente. Entretanto, uma vez que os diferentes experimentos foram segmentados em 3 partes, penso que a discussão individual de cada parte possibilitará ao leitor um melhor entendimento dos resultados obtidos.

PARTE A

As alterações dimensionais da dentina desmineralizada frente à desidratação física ou química parece ser um fenômeno ativo, resultante das interações moleculares entre o meio e o colágeno e pelos polipeptídeos das fibrilas de colágeno entre si. Essas interações causam uma contração ativa

da matriz de dentina, cuja velocidade e magnitude dependem da habilidade dos solventes e monômeros de interagirem com as moléculas das fibrilas de colágeno. Considerando que as alterações da dentina desmineralizada causam interação ou repulsa entre as fibrilas e microfibrilas do colágeno, pode-se esperar que esses fenômenos possam, igualmente, afetar as propriedades mecânicas da matriz de dentina desmineralizada. As forças de interação entre as moléculas que compõem as fibrilas de colágeno, e entre estas e o fluido do meio, podem causar enrijecimento ou plastificação da estrutura fibrilar, alterando suas propriedades mecânicas.

Ao aplicarmos os adesivos em uma técnica úmida de adesão, a difusão dos monômeros é limitada a uma camada mais superficial da zona desmineralizada¹⁶⁴. A zona desmineralizada não infiltrada está sujeita às alterações dimensionais impostas pelas interações moleculares induzidas pelos próprios adesivos. Indubitavelmente, as interações estabelecidas entre solventes e monômeros e a zona desmineralizada são complexas e de extrema importância para o entendimento e determinação das propriedades mecânicas da dentina.

6.1 (A)- Discussão e análise do resultado do experimento relativo à taxa de enrijecimento da matriz de dentina desmineralizada

É de consenso geral que o mecanismo primário de adesão à dentina é obtido através da formação da camada híbrida^{104,156}. Muitos fatores, contudo, podem interferir com este evento. O condicionamento ácido remove o componente mineral da dentina e resulta em significantes alterações em suas propriedades mecânicas¹⁷⁵. Por exemplo, o módulo de elasticidade e a resistência máxima à tração do substrato dentinário apresentam uma redução significativa após a desmineralização¹²⁶. Contudo, tal redução drástica das propriedades mecânicas depende da condição de hidratação do substrato durante a execução dos testes mecânicos. Quando a matriz de dentina desmineralizada é submetida a um teste mecânico mantida sob hidratação, a água ocupa os espaços interfibrilares atuando como um agente plastificador, pois permite o deslizamento molecular diminuindo as propriedades mecânicas^{80,111,126}. Quando secamos a dentina desmineralizada, a água, que ocupa a posição dos minerais depois do condicionamento ácido, é rapidamente evaporada. Durante a evaporação, a tensão de superfície entre ar e água gera forças que atuam para colapsar as fibrilas de colágeno ao seu volume mínimo²¹. Desde que é permitida a aproximação fibrilar, são desenvolvidas interações moleculares, principalmente representadas por pontes de hidrogênio, que tendem a enrijecer a matriz desmineralizada em

um estado colapsado^{22,109,111}. Se a dentina desmineralizada encontra-se enrijecida em um estado colapsado, a ausência de espaços interfibrilares poderá interferir com a ideal infiltração dos monômeros resinosos para formação da camada híbrida^{104,109}.

A técnica úmida requer que solventes orgânicos sejam utilizados para solubilizar os co-monômeros presentes nos sistemas adesivos e, ao mesmo tempo, facilitar a sua infiltração nos espaços interfibrilares pela evaporação da água presente nos espaços interfibrilares. Entretanto, os solventes comumente utilizados na composição dos sistemas adesivos apresentam menor habilidade do que a água para formar P-H com os peptídeos das fibrilas. Por esta razão, eles determinam uma desidratação química da matriz, de forma que eles não são capazes de prevenir ligações interpeptídicas, conseqüentemente, permitindo que a matriz colapse parcialmente durante a aplicação do adesivo⁹². A desidratação da matriz desmineralizada induzida pelos solventes altera suas propriedades mecânicas^{80,111}. Idealmente, os solventes deveriam enrijecer a matriz desmineralizada mais rápido do que induzir o seu colapso, permitindo a manutenção dos espaços interfibrilares expandidos para infiltração dos monômeros com conseqüente aumento da resistência de união²⁶.

Os resultados do experimento proposto mostraram que todos os solventes exerceram um efeito gradual no enrijecimento da matriz desmineralizada, durante os 20 min, depois da troca da água pelos solventes

anidros. Adicionalmente, a taxa de enrijecimento foi diferente entre os solventes testados. Desta forma, isto requer a rejeição da hipótese nula proposta anteriormente, em que não há diferença entre a taxa de enrijecimento causada pelos solventes puros. Embora o enrijecimento da matriz tenha sido similar para todos os solventes e ar depois de 20 min, exceto no caso de HEMA e da água (tabela 5.1.1 (A)); o metanol e acetona produziram o mais rápido efeito nos primeiros minutos de imersão (tabela 5.1.2 (A)). Isto provavelmente se deveu ao baixo peso molecular e alta difusividade apresentada por estes solventes, o que permitiu uma rápida difusão nos espécimes com conseqüente deslocamento da água. Não foi observada diferença estatística para os solventes no enrijecimento nos primeiros 120s (3 ciclos) de teste, exceto para o metanol. Desta forma, este resultado poderia indicar que o colapso das fibrilas poderia ser evitado dentro de um tempo clínico viável de utilização do adesivo, porém, esta extrapolação deve ser realizada com cuidado, pois os espécimes utilizados neste experimento foram muito mais espessos (cerca de 700 μ m de espessura) do que a camada desmineralizada produzida em condições clínicas (cerca de 1-5 μ m). Caso as diferenças no tamanho dos espécimes pudessem ser desconsideradas, os resultados poderiam indicar que 120s não é um tempo suficiente para permitir um deslocamento de uma quantidade crítica de água que permitisse a atuação dos solventes nas fibrilas, exceto quando se utilizasse o metanol. Aparentemente, o metanol combina bem a

habilidade de manter os espaços interfibrilares em uma condição expandida enquanto induz a um enrijecimento da matriz. No estudo de CARVALHO *et al.*²⁶, em 2003, utilizando misturas experimentais à base de HEMA/solventes na resistência de união à dentina mantida seca; a utilização do *primer* à base de HEMA/metanol resultou em espaços interfibrilares mais amplos associado a um maior valor de RU. O alto valor de δ_h do metanol pode ser hábil para manter a estrutura do colágeno expandida, ao mesmo tempo em que causa o seu enrijecimento, prevenindo desta forma o colapso das fibrilas concomitante à evaporação do solvente.

No estágio inicial de troca de água pelo solvente, uma pequena quantidade de água residual permanece causando um efeito plastificador na matriz, por esta razão, previne o significativo enrijecimento. Somente quando o solvente remove a água abaixo de um nível crítico, as fibrilas de colágeno perdem sua elasticidade e tornam-se rígidas, sendo que este efeito somente foi observado após o tempo de 120 s (para acetona e metanol).

Como era esperado, a água não induziu alterações no Emax dos espécimes desmineralizados. Entre as soluções, o HEMA produziu uma taxa significativamente menor de enrijecimento e EMax ($p < 0,05$). Isto ocorreu provavelmente devido ao alto peso molecular do HEMA, que poderia dificultar sua difusão nos espaços interfibrilares preenchidos com água. Quando sistemas adesivos são aplicados à dentina mantida úmida, a difusão dos monômeros, como o HEMA, é limitada à camada desmineralizada mais

superficial¹⁶⁴. Embora não significativa, diferenças na taxa de enrijecimento, causadas pelos outros solventes, podem ser explicadas pela habilidade dos solventes em estabilizar as fibrilas de colágeno através de interações moleculares entre os peptídeos adjacentes e entre estes e os solventes (Van der Waals, interações iônicas, ligações hidrofóbicas)¹⁰⁹. Em outras palavras, a taxa de enrijecimento poderia estar relacionada a quão rápido os solventes removem a água permitindo o desenvolvimento das ligações interpeptídicas. Neste caso, um enrijecimento mais rápido não indicaria necessariamente que os espaços interfibrilares estão sendo preservados, mas sim que eles estão sendo rapidamente reduzidos. Em termos de alterações dimensionais, isto poderia causar uma contração inicial da matriz e a subsequente re-expansão estaria na dependência do δ_h de cada solvente para impedir o estabelecimento de ligações interfibrilares^{109,110}. Um estudo preliminar de CARVALHO (1995, comunicação pessoal) mostrou que a matriz de dentina desmineralizada desenvolve uma tensão de contração imediata quando a água é trocada pelos solventes. Um fenômeno similar tem sido observado quando a matriz de dentina desmineralizada é exposta aos ácidos¹⁰⁷. O grau de enrijecimento causado pela desidratação química dos solventes parece estar relacionado ao δ_h de cada solvente; isto é, quanto maior o δ_h , menor o grau de enrijecimento. Por esta razão, solventes com alto valor de δ_h interagem preferencialmente com os peptídeos das fibrilas, desta forma, previnem o estabelecimento de P-H entre os próprios peptídeos, o que

poderia gerar o maior grau de enrijecimento da matriz tal qual quando a mesma é seca pelo ar^{80,111}. A dependência do tempo, em relação a um maior grau de enrijecimento, foi provavelmente devido ao tempo necessário para que os solventes se difundissem na matriz de dentina desmineralizada e no interior das fibrilas, seguido pelo tempo necessário para o estabelecimento das ligações moleculares.

Neste estudo, o EMax da matriz de dentina desmineralizada variou de 10.9 MPa em água para 37.4 MPa em acetona, depois de 20 minutos de imersão. Os valores para água estão muito próximos aos observados em outro estudo¹¹¹, contudo os valores para os espécimes imersos em solventes ou deixados ao ar ambiente (28.7 MPa) foram significativamente menores do que previamente reportado⁸⁰. Isto é devido ao fato de que, neste estudo, os espécimes permaneceram imersos nos solventes por 20 min, enquanto em estudos prévios eles permaneceram equilibrados por 30 min⁸⁰ ou 60 min¹¹¹ antes da execução do teste. Isto indica que o grau de enrijecimento poderia aumentar caso os espécimes permanecessem imersos nos solventes por um tempo maior. O enrijecimento inicial é provavelmente causado pelo deslocamento da água, que se encontra de uma forma livre entre os espaços interfibrilares, ou seja, não forma ligações. E o enrijecimento posterior ocorre mais lentamente, devido ao deslocamento das moléculas de água que se encontram unidas às fibrilas de colágeno. Contrariamente ao que se esperava, os espécimes expostos ao ar não apresentaram maior valor de

EMax. É provável que a taxa lenta de evaporação da água, a 44% de UR do ambiente, não permitiu uma desidratação completa dos espécimes durante os 20 min do teste; permitindo a presença de água residual na matriz, desta forma impedindo o aumento do módulo de elasticidade. Adicionalmente, a projeção da curva do EMax em função do tempo (gráfico 5.1.3 (A)), indica que o módulo poderia aumentar se os espécimes permanecessem mais tempo imersos nos solventes ou expostos ao ar.

Em condições clínicas, misturas de solventes e monômeros são aplicadas na superfície dentinária por 20-30 s. Embora a distância para difusão dos monômeros em condições clínicas sejam muito menores (1-5 μm), o tempo de aplicação poderia permitir um grau de enrijecimento capaz de prevenir o colapso das fibrilas enquanto os solventes são evaporados ³⁵. Quando misturas experimentais à base de 35% de HEMA com 65% de metanol ou etanol foram aplicadas na superfície dentinária seca por 60s, a combinação de re-expansão e enrijecimento da matriz de colágeno foi provavelmente o suficiente para manter os espaços interfibrilares expandidos para permitir a infiltração dos monômeros, resultando em maior valor de RU²⁶. Diante do exposto, fica claro que se a matriz de dentina desmineralizada for desidratada quimicamente, ao mesmo tempo em que os espaços interfibrilares são preservados, solventes com alto valor de δ_h são desejados. Dentro das limitações inerentes a este experimento, podemos especular que o curto tempo clínico correntemente utilizado na obtenção da

união resina/dentina deve ser reavaliado para se obter uma otimização da união.

6.2 (A)- Discussão e análise do resultado relativo ao experimento de relaxamento das tensões da dentina desmineralizada

A literatura reporta que a RU obtida pelos sistemas adesivos à dentina pode ser alterada pela taxa de difusão dos monômeros na matriz de dentina desmineralizada⁹³. Desta forma, poderá existir uma zona desmineralizada que não é totalmente infiltrada pelos monômeros resinosos, culminando na existência de fibrilas de colágeno sem a devida proteção^{138,144}. Esta região, sem a presença do suporte mineral, possui um módulo de elasticidade inferior ao do substrato mineralizado, sendo suscetível à hidrólise pelos fluidos bucais e conseqüentemente, pode ser um caminho para que ocorra nanoinfiltração¹²⁷. As fibrilas não protegidas representam uma zona frágil, suscetível às tensões geradas pela contração de polimerização e pelas forças oclusais durante a mastigação, comprometendo a integridade da interface adesiva e, ultimamente, a restauração. Devemos nos ater à importância do conhecimento das propriedades elásticas da dentina, principalmente da sua porção orgânica, na determinante das suas propriedades mecânicas e como esse substrato reage aos efeitos dos procedimentos adesivos durante a confecção das restaurações estéticas. Os sistemas adesivos podem alterar

estas propriedades em um curto período de tempo. A literatura nos demonstra que a interação de HEMA, solventes e os polipeptídios das fibrilas de colágeno, interferem com as propriedades do substrato desmineralizado^{35,93,109}.

A dentina é caracterizada por ser um material visco-elástico^{76,154}, isto é, exibe propriedades elásticas dos sólidos e viscosidade dos líquidos. Estas propriedades podem ser qualificadas através de testes laboratoriais pela medida do *creep* e do relaxamento das tensões¹⁶⁷. No presente experimento, optou-se por determinar o relaxamento das tensões da matriz de dentina desmineralizada após o seu equilíbrio em soluções como o HEMA e solventes anidros. De acordo com os resultados obtidos, a resposta da matriz de dentina desmineralizada, com o relaxamento das tensões, foi dependente da solução em que foi equilibrada e da deformação induzida previamente. Desta forma, os resultados da tabela 5.2.1 (A), demonstram que, os solventes que apresentam baixo parâmetro de solubilidade para formação de P-H, tais como acetona, butanol, propanol ou HEMA, não impediriam o estabelecimento de ligações interpeptídicas das fibrilas, causando uma maior taxa de enrijecimento, com conseqüente aumento do módulo de elasticidade^{46,80,109,111}. Assim, depois de cessada a tensão, as fibrilas de colágeno enrijecidas apresentariam uma capacidade de dissipação das tensões em diferentes graus, de acordo com a capacidade de solvência das soluções¹¹⁰. Provavelmente, esta taxa de solvência depende do peso molecular dos

solventes (isto é, da sua difusividade ou permeabilidade) e do seu δ_h (isto é, da sua capacidade de interagir com as fibrilas de colágeno, diminuindo seu módulo de elasticidade). Paralelamente, pôde ser observado que a dissipação das tensões da matriz desmineralizada equilibrada em água, etanol ou metanol, ocorreu em menor escala. A tensão máxima induzida por estes solventes à matriz foi inferior e, conseqüentemente, houve uma menor dissipação das tensões. A 3% de deformação induzida, possivelmente não ocorreu uma aproximação entre as fibrilas de colágeno o suficiente para permitir o estabelecimento das interações entre os peptídeos e os solventes, ou entre os peptídeos das próprias fibrilas, de forma que de uma maneira geral, a taxa de relaxamento da matriz ocorreu em menor grau. A 5% de deformação permitida, a diferença entre a tensão máxima e a mínima induzida à matriz pelos solventes foi maior quando comparado a 3% ($p < 0,05$). Quando os espécimes foram estirados a uma deformação de 10 % (400 μm), provavelmente tenha ocorrido uma deformação permanente da matriz de dentina, com conseqüente alteração das suas propriedades. Este raciocínio é baseado no fato de que as propriedades mecânicas da matriz de dentina são determinadas pelas ligações cruzadas entre as fibrilas de colágeno⁷⁵ e pelo seu entrelaçamento molecular. Isto é, quando as fibrilas de colágeno são estiradas à fratura elas podem não quebrar, todavia podem desfibrilar ou desagregar¹⁵⁰. Estas mudanças estruturais poderiam incluir o colapso dos túbulos dentinários e o deslocamento das fibrilas de colágeno.

Três principais eventos moleculares estão associados ao alongamento das fibrilas de colágeno, sob a ação de uma força. Eles incluem o estiramento molecular da tripla hélice da fibrila (isto é, um ligeiro alongamento entre as ligações de P-H; um aumento no tamanho das fendas localizado contíguo às moléculas no eixo longitudinal da fibrila, e um relativo deslizamento lateral das moléculas contíguo ao eixo central da fibrila^{133,134}. Os dois primeiros eventos permitem uma recuperação elástica se o alongamento não for excessivo, porém, o evento que se refere ao deslizamento molecular poderá alterar a fibrila de forma permanente¹¹². Esta provável alteração pode ter sido exacerbada pela prévia exposição dos espécimes aos solventes anidros. Adicionalmente, 60 min é tempo suficiente para que a água, presente nos espaços interfibrilares da matriz, possa ser trocada pelos solventes, com conseqüente aumento do módulo de elasticidade da matriz de dentina (de acordo com os dados obtidos do experimento anterior). Apesar de comparações diretas entre este experimento e o estudo proposto por TENGRAVE, CARTER, HOOD¹⁵⁴, em 1995, os autores concluíram que o relaxamento da tensão da dentina humana pode ser alterado pela secagem com ar e por exposição a uma força de compressão a uma deformação constante de alta magnitude. CARRILHO *et al.*¹⁷, 2004, demonstraram que espécimes desmineralizados em EDTA tiveram suas propriedades mecânicas alteradas após 1 ano armazenados em óleo mineral. Os autores especulam que o óleo mineral possa ter danificado a estrutura da fibrila de colágeno

durante o período de armazenagem. Desta forma, pode-se especular que sob um alto valor de deformação constante, a resposta da matriz com o tempo, em relação à liberação das tensões⁷¹ pode ser independente da condição de imersão inicial a que foi sujeita os espécimes. Para os autores, ocorreu uma exceção quando a água foi utilizada, o que está de acordo com o efeito plastificador da água sobre as fibrilas de colágeno^{80,112}.

A análise da tabela 5.2.2 (A), demonstra que o tempo necessário para que houvesse uma queda de 50% do valor total da tensão máxima induzida aos espécimes pelos respectivos solventes foi proporcional à deformação permitida e ao tipo de solvente. O T1/2 variou de 0s para água (3% de deformação) para 33s para o butanol (10% de deformação). De acordo com os resultados, a resposta da matriz desmineralizada com o relaxamento das tensões tendeu a aumentar com uma maior deformação (3 para 5%). Provavelmente, a uma maior deformação ocorre um maior estiramento com conseqüente aproximação das fibrilas, o que gera uma maior competição intermolecular para estabelecimento ou impedimento das ligações interpeptídicas. Esta propriedade estaria na dependência direta do δ_h de cada solvente ou monômero, ou seja, da sua capacidade de estabelecer ou impedir o desenvolvimento das ligações interpeptídicas (cujo valor médio é de $18 \text{ (J/cm}^3)^{1/2}$). Estes achados não são corroborados pelo estudo de PASHLEY *et al.*¹¹², 2003, em que o relaxamento das tensões não dependeu da porcentagem de deformação permitida para os espécimes. Contudo, os

espécimes eram mantidos imersos somente em água durante a execução dos testes, o que poderia explicar a diferença entre os resultados e demonstrar que, se o meio de imersão causar alguma alteração na estrutura do colágeno, esta será refletida em suas propriedades e será dependente das interações moleculares permitidas pela solução do meio.

Diante do exposto acima, de uma maneira geral, a taxa de relaxamento das tensões, induzida pelo enrijecimento das fibrilas de colágeno, parece estar relacionada com os respectivos δ_h das soluções empregadas, uma vez que o módulo de elasticidade do colágeno é inversamente proporcional ao seu conteúdo de água⁹⁵ e a capacidade de desidratação dos solventes está relacionada com seus respectivos δ_h . A resposta da matriz aos álcoois alifáticos é interessante. Enquanto a saturação das fibrilas com água, metanol ou etanol poderia prevenir o estabelecimento de ligações interpeptídicas, a imersão em solventes como acetona, propanol, butanol ou HEMA não poderia prevenir o estabelecimento destas interações moleculares. Esta relação parece ser responsável pela reposta da matriz, em termos de relaxamento das tensões pelo tempo, ao enrijecimento causado pelas soluções com baixo valor de parâmetro de solubilidade.

PARTE B

Os sistemas adesivos são compostos por monômeros resinosos e solventes orgânicos que possuem δ_h menores do que a água, portanto, quando aplicados sobre a dentina úmida causam uma contração imediata da matriz de colágeno⁹², prejudicando não somente a difusão do próprio adesivo para os espaços interfibrilares, mas também dificultando a evaporação da mistura solvente/água. Os solventes, ao carrearem a água presente entre os espaços interfibrilares, deveriam induzir a um enrijecimento da matriz, o que suportaria as tensões de contração durante a evaporação dos solventes, permitindo que mais monômero remanesça entre esses espaços. Paralelamente, quando a água evapora do adesivo, a relação entre água/monômero é alterada, com conseqüente diminuição da pressão de vapor da água, dificultando a sua evaporação total. Idealmente, todos os solventes e água deveriam ser completamente eliminados da camada do adesivo, para garantir uma eficiente difusão dos monômeros, também para que não tenham um efeito adverso na polimerização do adesivo^{64,131}. Assim, pelo exposto acima, fica claro que dois fenômenos se contrapõem à completa evaporação da mistura solvente/água: colapso parcial da matriz desmineralizada causado pelos solventes e monômeros, e redução da pressão de vapor da água causada pelo aumento da concentração de monômero.

A ampla variedade na composição e nos métodos de aplicação de sistemas adesivos presentes no mercado torna difícil a comparação entre os grupos. Assim, neste estudo foram preparadas formulações experimentais com quantidades fixas de monômero (HEMA) e solventes, possibilitando uma comparação direta entre os grupos. Uma forma de elucidar a provável interferência das alterações dimensionais das fibrilas de colágeno na evaporação dos solventes foi a utilização de cubos de dentina desmineralizados comparados a uma superfície livre. A razão estabelecida foi que diferentes solventes, com diferentes pressões de vapor, poderiam se comportar de maneira distinta em diferentes superfícies, e que isso influenciaria na taxa final de evaporação.

6.2 (B)- Discussão e análise do resultado relativo ao experimento da taxa de evaporação de misturas à base de HEMA/solventes a partir de superfície livre e de dentina desmineralizada

Os sistemas adesivos atuais são geralmente formulados com monômeros resinosos dissolvidos em solventes tais como acetona, etanol e água puros ou combinados⁹⁶. Na maioria das soluções, o solvente é representado por um líquido, freqüentemente a água, e o soluto pode ser um sólido, gás ou líquido. Quando dois líquidos estão presentes, por exemplo, água e etanol, que são miscíveis em qualquer proporção, o solvente é considerado o líquido em maior quantidade. Desta maneira, os

solventes em maior concentração no presente estudo foram representados pela água, metanol, etanol ou acetona.

De acordo com os resultados, a diferença na taxa de evaporação das misturas HEMA/solventes pode ser explicada pela pressão de vapor de cada solvente e da área disponível para que a evaporação ocorresse. De maneira que, era esperado que as interações moleculares, estabelecidas entre as fibrilas de colágeno e os solventes, pudessem atuar como um fator limitante na taxa de evaporação dos solventes. Ao contrário do esperado, a taxa de evaporação e a perda total de massa (%), nos cubos de dentina desmineralizados, foram maiores do que em superfície livre. Desta forma, uma evaporação mais rápida pode não indicar necessariamente que os espaços interfibrilares estão sendo mantidos, ou que eles estão sendo rapidamente reduzidos pela formação de ligações entre os peptídeos das fibrilas por meio de interações do tipo van der Waals ou interações iônicas^{109,110}. De acordo com EDDLESTON *et al.*³⁵, 2003, os autores afirmam que a diferença entre a capacidade de expansão e a de contração durante a evaporação dos solventes, determina quanto de HEMA remanesce nos espaços interfibrilares antes da polimerização do adesivo. Isto representa um passo crucial no mecanismo de adesão, em que a presença física do monômero impede a aproximação fibrilar, com a manutenção das fibrilas expandidas para subsequente difusão dos monômeros. Paralelamente, a área disponível entre as superfícies foi diferente, de 24 mm² para os cubos de

dentina e $4,55 \text{ mm}^2$ para os cilindros de vidro, o que poderia explicar a diferença na taxa de evaporação.

Independente da superfície avaliada, a menor taxa de evaporação e perda de massa total (%) ocorreu para mistura HEMA/água, embora sem diferença estatística da mistura HEMA/etanol. Quando a água evapora de misturas à base de HEMA/água, a concentração de HEMA aumenta devido ao fato desse monômero ser praticamente não volátil, dificultando a remoção dos traços residuais de água pela redução da pressão de vapor da mistura¹¹⁴. A taxa de evaporação da água, da superfície livre neste estudo, foi de encontro do reportado previamente por PASHLEY *et al.*¹¹⁴. Esta diferença nos valores pode ser atribuída à maior temperatura do ar do referido estudo (37°C) quando comparado a este experimento (21°C)⁴⁵. Entre os solventes anidros não houve diferença significativa na taxa de evaporação e perda de massa ao final do prolongado tempo permitido para evaporação (10 min). Este achado é consistente com um estudo prévio¹, embora em nosso experimento tenham sido utilizadas misturas experimentais. Neste estudo, os autores não verificaram diferenças na perda de massa entre sistemas adesivos à base de acetona e etanol após 75 dias de estocagem, com diferença para água. Apesar do comportamento entre os solventes anidros não ter sido diferente, houve uma tendência de maior perda de massa associada a um maior valor de pressão de vapor do solvente. As misturas compostas de HEMA/acetona e HEMA/metanol, apresentaram uma

maior tendência de perda de massa devido ao fato destes solventes apresentarem pressão de vapor de 185mmHg e 120mmHg. Entre o etanol e água, a menor porcentagem de perda de massa poderia ser atribuída aos menores valores de pressão de vapor (54mmHg e 23mmHg, respectivamente).

Conforme os solventes se evaporam da superfície, a concentração de monômeros resinosos aumenta proporcionalmente à quantidade de solvente que se evapora. Os monômeros resinosos possuem uma pressão de vapor muito baixa (praticamente não se evaporam) e o aumento gradativo de sua concentração causa uma redução significativa da pressão de vapor da mistura²⁰. Desta forma, é mais difícil remover os traços finais de solvente, mesmo em um tempo prolongado permitido para evaporação (gráficos 5.1.2 e 5.1.3 (B)). Apesar das limitações do presente delineamento, ao extrapolarmos o presente resultado para um tempo clínico indicado para evaporação do solvente, pode-se especular que 30s não seria um tempo viável para correta evaporação dos solventes. YIU *et al.*¹⁷³, 2005, demonstraram que cerca de 30% de solvente e água remanescem sem evaporar após a secagem de adesivos pelo tempo de 30 a 120s. Deve-se, portanto, adequar a técnica de secagem e aplicação do adesivo para maximizar a evaporação desses elementos voláteis de maneira a otimizar a adesão³⁶. Quanto maior o tempo permitido para evaporação, até certo

ponto, maior quantidade de solvente e água irá evaporar e melhor será a qualidade da união¹¹⁶.

A presença de solvente e água residual no adesivo pode comprometer de maneira severa a integridade da camada híbrida formada⁸⁵. Haja vista que, no estudo de CHO, DICKENS²⁹, 2004, um aumento na concentração de acetona em sistemas adesivos de frasco único diminuiu os valores de RU, com a presença de fendas e fraturas ao longo da interface adesiva obtida. A água interfere com a obtenção de um polímero adequado, determinando a formação de um hidrogel potencialmente instável (poli-HEMA), que é suscetível à degradação enzimática ou hidrolítica pelos fluidos bucais^{59,164}. De tal forma que, a incorporação de uma porcentagem de somente 9% de água em formulações de adesivos contribuiu para o detrimento das suas propriedades mecânicas¹¹⁶.

Experimentos futuros, utilizando uma camada de dentina desmineralizada com dimensões clinicamente compatíveis, deveriam ser realizados para quantificar a habilidade de evaporação dos solventes nesta superfície.

PARTE C

Considerando a possibilidade de que não somente a desidratação por ar pode causar alterações dimensionais da dentina desmineralizada, mas

também os solventes e monômeros que compõem os sistemas adesivos^{35,80,109}, o objetivo geral destes experimentos foi o de investigar se essas alterações dimensionais podem exercer influência na qualidade final de adesão. A influência dos parâmetros de solubilidade de solventes puros ou com misturas à base de HEMA/solventes, nas propriedades mecânicas e na RU da interface dentina/resina, tem sido reportada na literatura^{26,35,80,109,111}.

Se a longevidade das restaurações adesivas estiver realmente na dependência da quantidade de resina que se infiltra nos espaços interfibrilares, as alterações dimensionais do substrato (contração das fibrilas de colágeno), causadas pelos próprios sistemas adesivos, podem comprometer a qualidade da união.

Em estudos laboratoriais que investigam o comportamento da interface adesiva, o emprego do teste de microtração tem sido amplamente utilizado⁴³. Outrossim, tem possibilitado a investigação de condições altamente relevantes na clínica, as quais não poderiam ser testadas com os testes convencionais de tração e cisalhamento. Segundo PASHLEY *et al.*¹⁰⁵, 1995, uma das principais vantagens do teste de microtração é a possibilidade de determinação do local de falhas quase que exclusivamente adesivas na interface, permitindo uma análise da real resistência de união entre o material e a estrutura dentária. Entre outras vantagens, podemos citar a possibilidade de obtenção de vários espécimes de um único dente, permitindo comparações intra e inter-dentes¹³⁵; possibilidade de avaliação da

resistência adesiva em áreas diminutas¹²⁵, o que favorece a mensuração da resistência adesiva em substratos clinicamente relevantes como dentina afetada por cárie⁹¹ ou dentina esclerótica^{143,176}. Nesta parte do experimento, o método de microtração foi empregado com a finalidade de avaliar o efeito das interações dos adesivos experimentais com a dentina, com relação à resistência de união.

6.1 (C)- Discussão e análise do resultado relativo ao experimento da importância do brilho superficial com a aplicação dos *primers* experimentais na RU à dentina

A hibridização, caracterizada pela infiltração dos monômeros resinosos nos espaços interfibrilares, tem sido demonstrada como um mecanismo básico para obtenção de uma união efetiva ao substrato dentinário⁸⁹. Para manter a integridade estrutural das fibrilas de colágeno, exposta pelo condicionamento ácido, é recomendada a utilização dos *primers* dentinários para otimizar os valores de RU¹⁵⁶. Entretanto, o aspecto de brilho superficial, obtido com a aplicação do *primer*, também influenciaria a resultante final da adesão? Esse questionamento impulsionou o delineamento experimental proposto. De fato, baseado nos resultados do presente experimento, a hipótese nula proposta foi rejeitada. Um maior número de camadas, ou seja, a manutenção do brilho de superfície, após a aplicação dos *primers* sobre a dentina, aumentou de maneira significativa os valores de RU para todos os

primers experimentais utilizados. Nossos resultados sugerem que a manutenção do brilho superficial caracterizou-se por uma adequada evaporação do solvente da superfície dentinária e permeação eficiente dos monômeros resinosos no interior das fibrilas de colágeno. Embora não existam parâmetros confiáveis que assegurem que o processo de adesão microscópico se desenvolveu de maneira satisfatória, o brilho de superfície, presente após a aplicação do *primer*, poderia ser adotado como um parâmetro que assegure um maior valor de RU. Porém, é importante salientar que a aplicação em excesso do adesivo certamente levará a uma condição de brilho superficial, mas devido à grande quantidade de material presente. Assim, nessas condições, o brilho não será indicio de que houve uma correta aplicação do adesivo. Está claro, portanto, que a condição ideal para a obtenção da camada híbrida deve conciliar a máxima permeabilidade dentinária à alta difusividade dos monômeros resinosos ⁸⁸. Cabe salientar que a variação do número de camadas aplicadas, para se conseguir o brilho de superfície empregado neste estudo, foi específica para as soluções experimentais desenvolvidas.

Paralelamente, os melhores valores de RU associados a um maior número de camadas de *primer*, provavelmente se deveu ao fato de que uma camada mais espessa determina a formação de uma "lâmina" efetiva de adesivo sobre a dentina, minimizando os efeitos causados pela presença de oxigênio. A necessidade de uma espessura mínima de adesivo é suportada

por vários fatores. Na presença de oxigênio, este se difunde rapidamente pela camada do adesivo e compromete sua polimerização, portanto, uma camada muito fina pode simplesmente não ser polimerizada pela presença do oxigênio, comprometendo significativamente a união¹²³. A problemática em torno da espessura da camada de adesivo pode parecer controversa se pensarmos que, uma camada bem fina, ou seja, o suficiente para preencher os espaços interfibrilares, seria a espessura de camada ideal. Vários estudos demonstram que camadas únicas, ou pouco espessas de adesivo, resultam em menores valores de RU^{60,62, 115}, porém este aspecto parece ser dependente do sistema adesivo utilizado¹⁷⁶.

A despeito da utilização de soluções experimentais, os solventes utilizados para obtenção das misturas são encontrados nos sistemas adesivos disponíveis na clínica, como por exemplo, o etanol, presente no sistema Single Bond (3M/ESPE), e a acetona encontrada no adesivo Prime & Bond 2.1 (Dentsply). O metanol, apesar de não ser comercialmente encontrado, foi aqui utilizado por apresentar valores de RU satisfatórios em outros trabalhos já realizados, os quais fazem parte dessa linha de investigação^{26,109}. Esse efeito potencial na RU parece estar relacionado com o tipo de solvente empregado na composição do *primer*, sua concentração e o tempo de aplicação sobre a superfície dentinária^{65,118}.

Como pôde ser notada, a responsabilidade por uma série de aspectos complicadores ao alcance da união satisfatória está na dependência da técnica adesiva e da composição dos sistemas adesivos disponíveis.

6.2 (C)- Discussão e análise do resultado relativo ao experimento da RU à dentina utilizando *primers* experimentais

Os resultados deste estudo mostraram que o tipo de solvente, empregado na composição das soluções experimentais à base de 35%HEMA/solventes, afetou de maneira significativa os valores de RU da interface dentina/resina. A armazenagem em água levou a uma redução na RU para a maioria dos *primers* empregados. Isto requer a rejeição da hipótese nula proposta anteriormente. A RU, obtida no prazo de 24 horas, pode ser explicada pela habilidade dos solventes em re-expandir a matriz desmineralizada que foi mantida seca. A estrutura em tripla hélice da matriz de colágeno é mantida pela formação de ligações por meio de P-H entre os peptídeos das moléculas vizinhas^{78,79}. Quando imerso em água, os peptídeos das moléculas do colágeno formam preferencialmente ligações com as moléculas de água, devido ao seu alto valor de parâmetro de solubilidade para formação de P-H (δ_h) de $37.3 \text{ (J/cm}^3)^{1/2}$, que é muito maior que o valor estimado para atração molecular interpeptídeos ($18 \text{ (J/cm}^3)^{1/2}$)¹⁰⁹. Em sistemas adesivos que empregam o condicionamento ácido, a lavagem da superfície dentinária com água permite que os espaços interfibrilares se

mantenham em uma condição expandida^{21,108,109}. De acordo com NAKAOKI *et al.*⁹³, 2000, quando a superfície dentinária é seca com jatos de ar por 30 s, a maior parte da água localizada nos espaços interfibrilares é removida por evaporação, permitindo uma aproximação interfibrilar. Desta forma, devido à ausência de água com concomitante formação das ligações interpeptídicas por meio de P-H, a matriz desmineralizada permanece estabilizada em uma condição rígida, porém contraída^{46,80}. De maneira que a difusão dos monômeros resinosos é dificultada pela redução dos espaços interfibrilares^{51,104}. Uma forma de contornar este problema, com a conseqüente re-expansão dos espaços, seria a utilização de *primers* que contenham solventes com alto valor de δ_h , que seja maior do que o dos peptídeos das fibrilas²⁶; desde que o HEMA sozinho não é capaz de re-expandir a matriz colapsada^{21,93}. Em um estudo prévio, CARVALHO *et al.*²⁶, 2003, utilizaram solventes em soluções experimentais de acordo com a capacidade destes de induzir à re-expansão da matriz colapsada¹⁰⁹. Baseando-se neste raciocínio, seria provável que a mistura HEMA/água induziria a um maior grau de expansão em uma velocidade mais rápida¹¹⁰. Entretanto, a RU obtida com o uso deste *primer* foi a de menor valor. Provavelmente, isto tenha ocorrido em virtude do efeito plastificador da água sobre o colágeno, desde que o colágeno apresenta um baixo módulo de elasticidade, entre 5-10 MPa. Quando a matriz desmineralizada infiltrada por HEMA/água é seca para evaporar a água, a matriz não se apresenta

enrijecida o suficiente para suportar tensões diminutas de contração que ocorrem durante a evaporação, de maneira que retorna à condição de colapso, com a permanência do HEMA entre os espaços interfibrilares²⁶. Outro aspecto estaria associado à permanência de água residual entre as fibrilas, que poderia interferir com a polimerização adequada do 4-META-TBBO. A resultante de menor valor de RU, em decorrência da redução dos espaços interfibrilares, é corroborada pelos valores das misturas de 35%HEMA em acetona e propanol²⁶. Solventes com menores valores de δ_h são incapazes de re-expandir a matriz colapsada¹⁰⁹, dificultando a permeação dos monômeros. Desta forma, a obtenção de uma adesão otimizada não somente depende da capacidade de re-expansão da matriz desmineralizada, mas também da manutenção da sua condição de expansão durante os procedimentos adesivos; principalmente no passo operatório que envolve a evaporação dos solventes^{26,35}.

Quando o metanol e etanol foram utilizados como solventes nas soluções experimentais, ocorreu uma re-expansão da matriz em menor escala comparado à água, entretanto, esta expansão foi mantida devido à capacidade de enrijecimento destes solventes em uma velocidade relativamente rápida^{35,80,110}. Neste estudo, a manutenção dos *primers* experimentais sobre a superfície dentinária foi de 30s, ao invés de 60s²⁶. Enquanto essa redução no tempo parece não ter afetado a capacidade de re-expansão e, particularmente, na taxa de evaporação do metanol e etanol,

pode ter, contudo, comprometido a evaporação de água, resultando em um menor valor de RU quando comparado ao estudo anterior²⁶. Apesar da alta taxa de evaporação da acetona (185mmHg) e do propanol (41mmHg), o menor valor de RU obtido com estes solventes se deveu à sua incapacidade de re-expandir a matriz previamente contraída pela secagem.

Baseado na literatura atual^{32,33,55,136}, reduções nos valores RU são esperados quando se armazena os espécimes em água. A água tem a capacidade de degradar tanto o polímero obtido quanto a fibrila de colágeno que permanece sem a proteção dos monômeros resinosos¹⁷. Neste estudo, torna-se claro que ambos os mecanismos estiveram envolvidos na redução da RU ao prazo de 6 meses e 1 ano. Relativamente, maior decréscimo neste valor foi observado para misturas à base de água e acetona (Tabela 5.2.5 (C)). Para o grupo que utilizou o primer à base de acetona, a fibrila de colágeno permaneceu contraída e exposta à água durante a armazenagem. Desde que a fibrila de colágeno exposta não foi infiltrada pelos monômeros resinosos, a matriz permaneceu suscetível à degradação pelas metaloproteinases, que são enzimas presentes no próprio hospedeiro¹¹³. No grupo à base de HEMA/água, é provável que a presença de água residual tenha comprometido a polimerização do adesivo com a formação de um hidrogel, tornando-o suscetível à degradação pela água durante a armazenagem^{17,18,131}. Desta forma, pode-se considerar a possibilidade de que ambos os mecanismos de degradação estiveram presentes, haja vista

que o uso de sistemas adesivos à base de água não necessariamente implica na formação de uma camada híbrida totalmente infiltrada pelos monômeros resinosos¹⁶⁴. De acordo com este raciocínio, o propanol, apesar de não ter capacidade de re-expandir a matriz, apresenta uma maior taxa de evaporação (41mmHg) quando comparada à água (23mmHg), o que resultou em uma permanência de menor quantidade de solvente residual. Para os grupos à base de HEMA/etanol e HEMA/metanol, a RU foi reduzida durante o período de armazenagem, porém em menor taxa. A manutenção dos espaços interfibrilares expandidos com o uso destes solventes permitiu uma maior difusão dos monômeros resinosos, com conseqüente proteção das fibrilas de colágeno. Adicionalmente, a maior taxa de evaporação do metanol (120mmHg) e etanol (54mmHg) em relação ao propanol e a água pode ter permitido uma melhor polimerização do adesivo. A estabilidade nos valores de RU, de 6 meses para 1 ano, provavelmente ocorreu devido ao protocolo de armazenagem adotado para este experimento. Durante o prazo de armazenagem avaliado, os espécimes permaneceram imersos em água deionizada, a qual não foi trocada em nenhum período de estocagem. Desta forma, é possível que tenha ocorrido um equilíbrio entre a transferência de íons cálcio entre a dentina e a solução de armazenagem, visto que a maior queda no valor de RU foi observada para o período compreendido entre 24 horas e 6 meses. É possível que uma maior redução na resistência pudesse

ter ocorrido se a solução fosse trocada regularmente durante o período de armazenagem⁷³.

Este estudo corrobora achados prévios e sugere que a utilização de uma combinação adequada de monômeros resinosos e solventes anidros, que sejam capazes de re-expandir a matriz de dentina desmineralizada seca, poderia ser uma alternativa viável para minimizar os malefícios da presença da água durante o procedimento adesivo à dentina.

Considerações finais

A teoria dos parâmetros de solubilidade favorece a compreensão da relação entre as alterações dimensionais, permeabilidade e propriedades mecânicas da matriz de dentina desmineralizada. O conhecimento originado destes experimentos permite que meditemos sobre como a obtenção da união é diretamente relacionada ao conhecimento do substrato dentário. De forma que, diante de todo o fundamento exposto, sem que pareça uma atitude precipitada, poderia ser sugerido o uso do metanol para substituir a água em uma técnica úmida de adesão. O metanol possui capacidade semelhante da água em manter os espaços interfibrilares expandidos, associado a uma alta taxa de evaporação, sem que cause uma contração das fibrilas após ser evaporado. Adicionalmente, os monômeros resinosos comumente empregados nos sistemas adesivos são altamente solúveis em

metanol, permitindo que se infiltrem na matriz de dentina preenchida por este solvente. Estas novas teorias podem servir de base para o desenvolvimento de novos materiais que visem a uma melhora na qualidade da união.

CONCLUSÕES

7. Conclusões

Baseado nas hipóteses propostas no presente experimento, é lícito concluir que:

- 1- A água (controle) não induziu a um enrijecimento da matriz de dentina desmineralizada. A taxa de enrijecimento da matriz de dentina desmineralizada é, ambos, tempo e solvente dependente;
- 2- O relaxamento das tensões da matriz de dentina desmineralizada foi dependente do tipo de solvente e da deformação permitida;
- 3- A taxa de evaporação de misturas experimentais à base de HEMA/solventes foi influenciada por ambos, os tipos de solvente e de superfície;
- 4- O brilho superficial, obtido com a aplicação de um número maior de camadas dos *primers* experimentais, aumentou os valores de RU para todas as soluções;
- 5- Maiores valores de RU foram obtidos com misturas à base de etanol e metanol, independente do período de armazenagem. A armazenagem em água reduziu os valores de RU para a maioria das soluções experimentais avaliadas.

Diante do exposto, todas as hipóteses nulas anteriormente propostas foram rejeitadas.

ANEXOS

Anexo 1

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)235-8000 – FAX (0XX14)223-4679

Comitê de Ética em Pesquisa

Processo nº/067/2002

Bauru, 19 de agosto de 2002

Senhor Professor,

Informamos que após o envio da documentação pendente, o projeto de pesquisa encaminhado a este Comitê denominado ***“Avaliação das propriedades mecânicas da dentina desmineralizada tratada com solventes anidros”***, de autoria de *Fernanda Cristina Pimentel Garcia*, que será desenvolvido sob a sua orientação, foi **APROVADO**.

Comunicamos que após o envio do trabalho concluído, este Comitê enviará o parecer final, que será utilizado para a publicação do trabalho.

Atenciosamente,

Profª Drª Ana Lúcia Alvares Capellozza
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos

Ilmo Sr. **Prof. Dr. Ricardo Marins de Carvalho**
DD. Docente do Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários

Fernanda Cristina Pimentel Garcia

Anexo 2

Universidade de São Paulo Faculdade de Odontologia de Bauru

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)235-8000 – FAX (0XX14)223-4679

Comitê de Ética em Pesquisa

Processo nº090/2002

Bauru, 18 de setembro de 2002

Senhor Professor,

Informamos que após o envio da documentação pendente, o projeto de pesquisa encaminhado a este Comitê denominado "**Avaliação da influência da umidade na resistência adesiva de resinas compostas à dentina, tratada com adesivos hidrofóbicos à base de solventes anidros**", de autoria de Fernanda Cristina Pimentel, que será desenvolvido sob a sua orientação, foi **APROVADO**.

Comunicamos que após o envio do trabalho concluído, este Comitê enviará o parecer final, que será utilizado para a publicação do trabalho.

Atenciosamente,

Profª Drª Ana Lúcia Alvares Capelozza
Coordenadora

Ilmº Sr. Prof. Dr. Ricardo Marins de Carvalho
DD. Docente do Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários
(Dentística)

Fernanda Cristina Pimentel Garcia

REFERÊNCIAS

Bibliográficas

Referências Bibliográficas[☆]

1. ABATE, P.F.; RODRIGUEZ,V.I.; MACCHI, R.L. Evaporation of solvent in one-bottle adhesives. **J. Dent.**, v.28,n.6,p.437-40, Aug. 2000.
2. AKIMOTO, T. Study on adhesion of MMA-TBBO resin dentin. **J Jap Soc Dent Mater & devices**, v.10, n., p.42-54, 1991.
3. ARENDS, J. et al. The diameter of dentinal tubules in human coronal dentine after demineralization and air drying. A combined light microscopy and SEM study. **Caries Res**, v.29, n.2, p. 118-21, 1995.
4. ARMSTRONG, S.R. et al. Hydrolytic degradation of the dentin-resin composite bonded joint. **J Dent Res**, v.79, p.453, Special issue. 2002.
/Abstract n. 2476/
5. ASMUSSEN, E.; UNO,S. Solubility parameters, fractional polarities, and bond strengths of some intermediary resins used in dentin bonding. **J Dent Res**, v.72, n.3,p.558-65,Mar.1993.
6. ASMUSSEN, E.; HANSEN, E.K.; PEUTZDELDT, A. Influence of the solubility parameter of intermediary resin on the effectiveness of the gluma bonding system. **J Dent Res**, v. 70,n.9, p. 1290-93,Sept. 1991.
7. ATTAL, J.P.; ASMUSSEN, E.; DEGRANGE, M. Effects of surface treatment on the free-energy of dentin. **Dent Mater**, v. 10,n.4, p. 259-64,July1994.

[☆] Normas recomendadas para uso no âmbito da Universidade de São Paulo, com base no documento "Referências Bibliográficas: exemplos", emanado do Conselho Supervisor do Sistema Integrado de Bibliotecas da USP, em reunião de 20 de setembro de 1990.

8. BALOOCH, M. et al. Viscoelastic properties of demineralized human dentin measured in water with atomic force microscope (AFM)-based indentation. **J. Biomed. mater. Res.**, v. 40, n.4, p.539-44, June 1998.
9. BARTON, A F.M. Solubility parameters. **Chem Rev**, v. 75, p.731-53, 1975.
10. BARTON A.F.M. **CRC handbook of solubility parameters and other cohesive parameters**. USA, CRC Press, Boca Raton, 1991.
11. BOWEN, R.L. Adhesives bonding of various materials to hard tissue-solubility of dentinal smear layer in dilute acid buffers. **In Dent J**, v.28, n.2, p. 97-107, Jun. 1978.
12. BRÄNNSTRÖM, M.; VOJINOVIC, O. Response of the dental pulp to invasion of bacteria around three filling materials. **ASDC J Dent Child**, v.43,n.2, p.83-9,Mar./Apr. 1976.
13. BUONOCORE, M.G. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces **J. dent. Res.**, v.34, n.6, p.849-53, Dec. 1955.
14. BURROW, M.F.; SATOH, M.; TAGAMI, J. Dentin bond durability after three years using a dentin bonding agent with and without priming. **Dent. Mat.**, v.12, n.5,p. 302-07, Sept.1996.
15. BURROW, M.F.; INOKOSHI, S.; TAGAMI, J. Water sorption of several bonding resins. **Am J Dent**, v.12, n.6, p.295-8, Dec. 1999.

16. BUTLER, W.T. Dentin collagen: chemical structure and role in mineralization. In : **Dentin and dentinogenesis**, A.Linde, 1984, p.37-53.
17. CARRILHO, M.R.O. et al. Effects of storage media on mechanical properties of adhesive systems. **Amer J Dent**, v. 17, n.2, p.104-8. Apr. 2004.
18. CARRILHO, M.R.O. et al. Mechanical stability of resin-dentin bonding components. **Dent Mater**, v.21, n.3, p.232-41, Mar. 2005.
19. CARVALHO, R.M. Adesivos dentinários fundamentos para aplicação clínica. **RDR**, v.1, n.2, p.62-96, abr./jun. 1998.
20. CARVALHO, R.M. **As relações entre alterações dimensionais, permeabilidade e propriedades mecânicas da matriz de dentina desmineralizada. Estudos sob a óptica da teoria dos parâmetros de solubilidade**. Bauru, 2002. 92f. Tese (Livre Docência)-Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo.
21. CARVALHO, R. M.; YOSHIYAMA, M.; PASHLEY, D.H. In vitro study on the dimensional changes of human dentine after demineralization. **Arch Oral Biol**, v.41, n.4, p.369-77, Apr. 1996.
22. CARVALHO, R. M. et al. Effects of dehydration on the modulus of elasticity of demineralized human dentin. **Rev. Fac.Odontol. Bauru**, v.4, n.1/2, p. 1-7, jan./jun., 1996.

23. CARVALHO, R.M. et al. Resin diffusion through demineralized dentin matrix. **Rev. Odontol. USP**, v.13, n.4,p. 417-24, out./dez., 1999.
24. CARVALHO, R.M. et al. Long-term mechanical properties of EDTA-demineralized dentin matrix. **J. Adhes. Dent.**,v.2,n.3,p. 193-9,Autumm 2000.
25. CARVALHO, R.M. et al. Tensile strength of human dentin as a function of tubule orientation and density. **J Adhes Dent**, v. 3, n.4, p.309-14, 2001.
26. CARVALHO, R. M. et al. Effects of HEMA/solvents combinations on bond strength to dentin. **J Dent Res**. v. 82, n.8, p.597-600. Aug. 2003.
27. CARVALHO, R. M. et al. A challenge to the conventional wisdom that simultaneous etching and resin infiltration always occurs in self-etch adhesives. **Biomaterials**, v.26, n.9, p. 1035-42, Mar. 2005.
28. CHAPPEL, R.P. et al. Shear bond strength and scanning electron microscopic observation of four dentinal adhesives. **Quintessence Int**, v.21, n.4, p.303-10, Apr. 1990.
29. CHO, B-H.; DICKENS, S.H. Effects of the acetone content of single solution dentin bonding agents on the adhesive layer thickness and the microtensile bond strength. **Dent Mater**, v.20, n.2, p.107-15, 2004.
30. CRAVER, J.K. A classification of hydrogen-bonding solvents by sonic velocity measurements. *J. Appl Polym. Sci.* v. 14, p. 1755-1762, 1970.

31. DARVEL, B.W. **Materials science for dentistry**. 6.ed. Hong Kong, B W Darvel, 2000.
32. De MUNCK, J. et al. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. **J. Dent. Res.**, v. 82, n.2,p.136-40, Feb. 2003.
33. De MUNCK, J. et al. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. **J Dent Res**, v.84,n.2,p.118-32, Feb. 2005 .
34. DUKE, E.S.; LINDEMUTH, J. Variability of clinical dentin substrates. **Am J Dent**, v.4, n.5, p.241-6, Oct. 1991.
35. EDDLESTON, C.L. et al. Dimensional changes in acid-demineralized dentin matrices following the use of HEMA-water versus HEMA-alcohol primers. **J Biomed Mater Res A** v.67, n.3, p.900-7, 2003.
36. El-Din, A.K.; ABD EL-MOHSEN, M.M. Effect of changing application times on adhesive systems bond strength. **Amer J Dent**, v.15, n.5, p. 321-24, Oct.2002.
37. El FENINAT, F. et al. Moisture-dependent renaturation of collagen in phosphoric acid etched human dentin. **Biomed Mater Res**, v.15, n.42,p.549-53,Dec. 1998

38. EL FENINAT, F, et al. A tapping mode AFM study of collapse and denaturation in dentinal collagen. **Dent Mater**, v.17,n.4, p.284-8, July 2001 .
39. FUSAYAMA, T. Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. **J Dent Res**,v.58,n.4,p.1364-70, Apr. 1979.
40. FRATZ, P.; DAXTER, A. Structural transformation of collagen fibrils in corneal stroma during drying. An X-Ray scattering study. **Biophys J**, v.64, p.1210-4, 1993.
41. GAGE, J.P. **Collagen and dental matrices**. London, C &S, 1989.
42. GARBEROGLIO, R.; BRANNSTRÖM, M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. **Arch Oral Biol**, v.21, n.6, p.355-62, 1976.
43. GARCIA, F.C.P. et al. Testes mecânicos para avaliação da união resina-dente. **Rev. Fac.Odontol. Bauru** , v.10, n.3, p.118-27, Jul./Set. 2002.
44. GARCIA, F.C.P. et al. O paradoxo da evolução dos sistemas adesivos, v.57, n.6, nov./dez. 2003.
45. GARCIA, F.C.P. et al. Effects of the drying time and temperature on the bond strength of simplified adhesive systems to dentin. **Academy of Dental Materials**, v.18, p. 191, Transactions 2004. /Abstract n.P42/

46. GARCIA, F. C. P. et al. Effects of solvents on the early stage stiffening rate of demineralized dentin matrix. **J. Dent**, 2005, *in press*.
47. GIANNINI, M. et al. The influence of tubule density and area of solid dentin on bond strength of two adhesive systems to dentin. **J Adhes Dent**, v.3, n.4, p.315-24, 2001.
48. GORDY, W.; STANFORD, S.C. III. Spectroscopic evidence for hydrogen bonds: comparison of proton-attracting properties of liquids. **J Chem Phys**, v.9, p.204-11, 1941
49. GRANT, M.E.; PROCKOP, D.J. The biosynthesis of collagen. **The New Eng J Med**, v.286, p. 194-99 a 291-300, 1972.
50. GWINETT, A.J. Moist versus dry dentin: its effect on shear bond strength. **Amer J Dent**, v.5, n.3, p.127-9, Jun. 1992.
51. GWINETT, A.J. Dentine bond strength after air drying and rewetting. **Amer. J. Dent.**, v.7, n.3, p.144-48, Jun. 1994.
52. GWINNETT, A.J.; YU, S. Effect of long-term water storage on dentin bonding. **Amer J Dent**, v. 7, n.2, p. 109-111, Apr. 1994
53. GWINNETT, A.J. et al. Quantitative contribution of the collagen network in dentin hybridization. **Amer J Dent**, v.9, n.4, p.140-4, Aug. 1996.
54. HANSEN, C.M. The universality of the solubility parameter. **Industrial and Engineering Chemical Product Research and Development**, v. 8, p. 2-11, 1969.

55. HASHIMOTO, M. et al. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. **J Dent Res**, v.79,n.6,p.1385-91,Jun. 2000
56. HASHIMOTO, M. et al. Resin-tooth adhesive interface after long-term function. **Amer J Dent**, v. 14, n.4, p. 211-15, Aug.2001.
57. HASHIMOTO, M. et al. Degradation pattern of different adhesive and bonding procedures. **J Biomed Mater Res**, v.66B, n.1, p.324-30, 2003.
58. HASHIMOTO, M. et al. In vitro degradation of resin-dentin bonds analysed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. **Biomaterials**, v.24, n.21, p.3795-3803, 2003.
59. HASHIMOTO, M. et al. SEM and TEM analysis of water degradation of human dentinal collagen. **J Biomed Mater Res**, v.66B, n.1, p.287-98, 2003.
60. HASHIMOTO, M. et al. In vitro effect of nanoleakage expression on resin-dentin bond strengths analyzed by microtensile bond test, SEM/EDX and TEM. **Biomaterials**, v.25, n.25, p.5565-74, 2004.
61. HILDEBRAND, J.H. **The solubility of non-electrolytes**. New York, USA,1936.
62. HILTON, T.J.; SCHWARTZ, R.S. The effect of air thinning on dentin adhesive bond strength. **Oper Dent**,v. 20,n.4,p. 133-37, July/Aug.1995.

63. HITMI, L.; BOUTER, D.; DEGRANGE, M. Influence of drying and HEMA treatment on dentin wettability. **Dent Mater**, v.18, n. 7 ,p. 503-11, 2002.
64. JACOBSEN, T.; SÖDERHOLM, K.J. Some effects of water on dentin bonding. **Dent Mater**, v.11, n.2, p.132-6, Mar. 1995.
65. JACOBSEN, T.; SÖDERHOLM, K.J. Effect of primer solvent, primer agitation, and dentin dryness on shear bond strength to dentin. **Amer J Dent**, v.11, p.225-8, 1998.
66. KANCA, J. Improved bond strength through acid etching of dentin and bonding to wet dentin surfaces, **J Americ Dent Assoc**, v. 123, n.9, p. 35-43, Sep. 1992.
67. KANCA, J. Resin bonding to wet substrate. I. Bonding to dentin. **Quintessence Int**, v.23, n.1, p.39-41, Jan.1992.
68. KANCA, J.; SANDRIK, J. Bonding to dentin. Clues to mechanism of adhesion **Amer J Dent**, v. 11, n.4, p. 154-9, Aug. 1998.
69. KANCA III, J. Effect of primer dwell time on dentin bond strength. **Gen Dent**, v.46, n.6, p. 608-12, Nov./Dec.1998.
70. KATO, G. ; NAKABAYASHI, N. The durability of adhesion to phosphoric acid etched, wet dentin substrates. **Dent Mater**, v.14, n.5, p.347-52, 1998.

71. KINNEY, J.H.; MARSHALL, S.J.; MARSHALL, G.W. The mechanical properties of human dentin: a critical review and re-evaluation of the dental literature. **Crit Rev Oral Biol Med**, v.14, n.1, 2003.
72. KINNEY, J.H. et al. A micromechanics model of the elastic properties of human dentin. **Arch oral Biol**, v.44, n.10, p. 813-22, Oct. 1999.
73. KITASAKO, Y. et al. The influence of storage solution on dentin bond durability of resin cement. **Dent Mater**, v.16, n.1, p.1-6, Jan.2000.
74. KIYOMURA, M. Bonding strength to bovine dentin with 4-META/-TBB resin. Long-term stability and influence of water. **J Jpn Dent Mater**, v. 6, p. 860-872, 1987.
75. KNOTT, L.; BAILEY, A. J. collagen cross-linking in mineralizing tissues: a review of their chemistry, function and clinical relevance. **Bone**, v.22, p. 181-7, 1988.
76. KOROSTOFF. E.; POLLACK, S.R.; DUNCANSON, M.G. Viscoelastic properties of human dentin. **J biomed Mater Res**, v. 9, n.6,p.661-74., Nov. 1975.
77. KUZNETSOVA, N. et al. Solvent hydrogen-bond network in protein self-assembly: Solvation of collagen triple helices in nonaqueous solvents. **Biophys J**, v.72, n.1, p. 353-362, Jan.1997.
78. LASAREV, Y.A. et al. Bound water in the collagen-like triple-helical structure. **Biopolymers**, v.32, n.2,p.189-195, Feb.1992.

79. LEE, S. Water content in type I collagen tissues calculated from the generalized packing model. **Int J Macromol**, v.8, p.66-69,1986.
80. MACIEL, K. T. et al. The effects of acetone, ethanol, HEMA, and air on the stiffness of human decalcified dentin matrix. **J Dent Res**, v.75, n.11,p. 1851-8, Nov.1996.
81. MARSHALL, G.W. et al. The dentin substrate structure and properties related to bond. **J Dent**, v.25,n.6, p. 441-58, Nov.1997.
82. MIGUEZ, P.A. et al. Collagen cross-linking and ultimate tensile strength in dentin. **J Dent Res**, v.83, n.10, p.807-10, 2004.
83. MILLER, R.G. et al. Application of solubility parameter theory to dentin-bonding systems and adhesive strength correlations. **J Biomed Mater Res**, v.41, n.1, p.237-43, 1998.
84. MIYASAKI, M. et al. Influence of dentin primer application methods on dentin bond strength. **Oper Dent**, v. 21, n.4, p.167-72, July/Aug. 1996.
85. MIYAZAKI, M. et al. Influence of self-etching primer drying time on enamel bond strength of resin composites. **J Dent**, v.27, n.3,p. 203-7, Mar.1999.
86. MJÖR, I.A. Histology of the human tooth. In: MJÖR, I.A.; PINDBORG, J.J. **Dentin and Pulp**. Copenhagen: Scandinavian University Books Ed. Munksgaard, Denmark, p. 45-76,1973.

87. NAKABAYASHI, N.; TAKARADA, K. Effect of HEMA on bonding to dentin. **Dent Mater**, v. 8, n.2,p. 125-30, Mar.1992.
88. NAKABAYASHI, N.; PASHLEY, D.H. **Hybridization of dental hard tissues**. Tokyo, Quintessence,1998. 129p.
89. NAKABAYASHI, N.; KOJIMA, K.; MASUHARA, E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. **J. biomed Mater Res**, v.16, n.3, p.265-73, May 1982.
90. NAKAJIMA, M.; TAGAMI, J.; PASHLEY D.H. Bond strengths to demineralized dentin under wet vs. dry surface condition. In: MOMOI, Y., AKIMOTO, N.; KOHNO, A. **Moderns trends in adhesive dentistry**. Osaka, Japan: Kuraray Co, 1999.p. 134-9.
91. NAKAJIMA, M. et al. Tensile bond strength and SEM evaluation of caries-effected dentin using adhesives. **J Dent Res**, v.74, n.10, p.1679-88, 1995.
92. NAKAJIMA, M. et al. Dimensional changes and ultimate tensile strength of wet decalcified dentin applied with one-bottle adhesives. **Dent Mater**, v.18, n.8, p.603-8, Dec. 2002.
93. NAKAOKI, Y. et al. Dimensional changes of demineralized dentin treated with HEMA primers. **Dent Mater**, v.16, n., p.441-6, 2000.
94. NISHIYAMA, N. Dissociation states of collagen functional groups and their effects on the priming efficacy of HEMA bonded to collagen. **J Dent Res**, v.82, n.4, p. 257-61, Apr.2003.

95. NOMURA, S. Interaction of water with native collagen. **Biopolymers**, v.16, n.2, p. 231-46, Feb.1977.
96. NUNES, M.F.; SWIFT, E.J.; PERDIGÃO, J. Effects of adhesive composition on microtensile bond strength to human dentin. **Amer J Dent**, v.14, n.6, p.340-3, 2001.
97. OGATA, M .et al. Influence of the direction of tubules on bond strength to dentin. **Oper Dent**, v.26, n.1, Jan./Feb. 2001.
98. OKAMOTO, Y. et al. Effects of phosphoric acid and tannic acid on dentine collagen. **J oral Rehabil**, v.18,n.6, p. 507-12, 1991.
99. OKUDA, M. et al. Long-term durability of resin dentin interface: nanoleakage vs microtensile bond strength. **Oper Dent**, v.27, n.3, p.289-96, 2002.
100. PASHLEY, D.H. Smear layer: physiological considerations. **Oper Dent**, v.3, p.13-29, 1984. Suplemento.
101. PASHLEY, D.H. Dentin: a dynamic substrate in dentistry. **Scan Microsc**, n.3, p.161-76, 1989.
102. PASHLEY, D.H.; CARVALHO, R.M. Dentine permeability and dentine adhesion. **J Dent** v.25, n.5, p.355-72, 1997.
103. PASHLEY, D.H.; CIUCCHI, B.; SANO, H. Dentin as a bonding substrate. **Dtsch Zhnärztl Z**; v.49, p. 1-4, 1994.
104. PASHLEY, D.H. et al. Permeability of dentin to adhesive agents. **Quintessence Int**, v.24,n.9, p.618-31, Sep.1993.

105. PASHLEY, D.H. et al. Bond strength versus dentine structure: a modelling approach. **Arch oral Biol**, v.40, n.12, p.1109-18, Dec.1995.
106. PASHLEY, D.H. et al. The microtensile bond test: a review. **J Adhes Dent**, v.1, n.4, p.299-309, 1999.
107. PASHLEY, D.H. et al. H⁺- induced tension development in demineralized dentin matrix. **J Dent Res**, v.79,n.8, p.1579-83,Aug.2000.
108. PASHLEY, D.H. et al. Permeability of demineralized dentin to HEMA. **Dent Mater**, v.16, n.1, p.7-14. 2000.
109. PASHLEY, D.H. et al. Solvent-induced dimensional changes in EDTA-demineralized dentin matrix. **J Biomed Mater Res**, v.56, n.2, p.273-81, 2001.
110. PASHLEY, D.H. et al. Solvation of dried dentin matrix by water and onther polar solvents. **Amer J Dent**, v.15, n.2, p.97-102, 2002.
111. PASHLEY, D.H. et al. Effects of water and water-free polar solvents on the tensile properties of demineralized dentin. **Dent Mater**, v.19, n.5, p.347-52, 2003.
112. PASHLEY, D.H. et al. Viscoelastic properties of demineralized dentin matrix. **Dent Mater**,v. 19, n.8,p. 700-6, Dec.2003.
113. PASHLEY, D.H. et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. **J Dent Res**, v.83, n.3, p.216-21, Mar. 2004.
114. PASHLEY, E.L. et al. Effects of HEMA on water evaporation from water-HEMA mixtures. **Dent Mater**, v.14, n.1, p.6-10, 1998.

115. PASHLEY, E.L. et al. Effects of one versus two applications of an unfilled, all-in-one adhesive on dentine bonding. **J Dent**, v.30, n.2-3, p.83-90, Feb./Mar. 2002.
116. PAUL, S.J. et al. Effect of water content on physical properties of model dentine primer and bonding resins. **J Dent**, v.27, n.3, p.209-14, 1999.
117. PERDIGÃO, J.; LOPES, M. Dentin bonding – Questions for the new millennium. **J Adhes Dent**, v.1, n.3, p.191-209, Autumn 1999.
118. PERDIGÃO, J.; FRANKERBERGER, R. Effect of solvent and rewetting time on dentin adhesion. **Quintessence Int**, v.32,, n.5, p. 385-90, May 2001.
119. PERDIGÃO, J. et al. In vivo influence of residual moisture on microtensile bond strengths of one-bottle adhesives. **J Esthet Dent**, v.14, n.1, p. 31-38, 2002.
120. PEREIRA, G.D.S. et al. How wet should dentin be? Comparison of methods to remove excess water during moist bonding, **J Adhes Dent**, v.3, n.3, p. 257-64, Fall, 2001.
121. REIS, A. et al. Moisture spectrum of demineralized dentin for adhesive systems with different solvent bases. **J Adhes Dent**, v.5, n.3, p.183-92, 2003.

122. REIS, A. et al. Durability of resin dentin interfaces: effects of surface moisture and adhesive solvent component. **Dent Mater**, v.20, n.7, p.669-76, 2004.
123. RUEGGEBERG, F.A.; MARGESON, D.H. The effect of oxygen inhibition on an unfilled/filled composite system. **J Dent Res**, v.69, n.10, p.1652-8, Oct.1990.
124. SANARES, A.M. et al. Adverse surface interactions between one-bottle light-cured adhesives and chemical-cured composites. **Dent Mater**, v.17, n.6, p.542-56, Nov.2001.
125. SANO, H., et al. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength – Evaluation of a micro-tensile bond test. **Dent Mater**, v.10, n.4, p.236-40, July 1994.
126. SANO H., et al. Tensile properties of mineralized and demineralized human and bovine dentin. **J Dent Res**, v.73, n.6, p.1205-11, Jun.1994.
127. SANO, H. et al. Comparative SEM and TEM observations of nanoleakage within the hybrid layer. **Oper Dent**, v.20, n.4, p.160-7, 1995.
128. SANO, H. et al. Tensile properties of resin-infiltrated demineralized human dentin. **J Dent Res**, v.74, n.4, p. 1093-102, 1995.
129. SANO, H. et al. Effect of operator variability on dentin adhesion: students vs. dentists. **Dent Mater J**, v.17, n.1, p. 51-8, Mar. 1998.

130. SANO, H. et al. Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. **J Dent Res**, v.78, n.4, p.906-11, Apr., 1999.
131. SANTERRE, J.P.; SHAJII, L.; LEUNG, B.W. Relation of dental composite formulations to their degradation and the release of hydrolyzed polymeric-resin-derived products. **Crit Rev Oral Biol Med**, v.12, n.2, p.136-51, 2001.
132. SASAKI, N.; ODAJIMA, S. Stress-strain curve and Young modulus of a collagen molecule as determined by the X-ray diffraction technique. **J Biomechanics** v.29, n.5, p. 655-58, May 1996.
133. SASAKI, N., et al. Stress relaxation function of bone and collagen. **J Biomechanics**, v.26, n.12, p.1369-76, Dec. 1993.
134. SASAKI, N. et al. Time-resolved X-ray diffraction from tendon collagen during creep using synchrotron radiation. **J Biomechanics**, v.32, n.3, p.285-92, Mar. 1999.
135. SHONO, Y. et al. Effects of cross-sectional area on resin-enamel tensile bond strength. **Dent Mater**, v.13, n.5, p.290-6, 1997.
136. SHONO, Y. et al. Durability of resin-dentin bonds. **J Adhes Dent** v.1, n.3, 1999.
137. SHONO, Y. et al. Regional measurement of resin-dentin bonding as an array. **J Dent Res**, v.78, n.2, p.699-705, 1999.
138. SPENCER, P.; SWAFFORD, JR. Unprotected protein at the dentin-adhesive interface. **Quintessence Int**, v.30, n.7, p.501-7, July 1999.

139. SPENCER, P.; WANG, Y. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions. **J Biomed Mater Res**, v.62, n.3, p.447-456, 2002.
140. SWIFT Jr., E.J.; PERDIGÃO, J.; HEYMANN, H.O. Bonding to enamel and dentin: a brief history and state of the art. **Quintessence Int**, v.26, n.2, p. 95-110, Feb. 1995.
141. TAY, F.R.; PASHLEY, D.H. Have dentin adhesives become too hydrophilic? **J Can Dent Assoc**, v.69, n.11, p.726-31, Dec.2003.
142. TAY, F.R.; PASHLEY, D.H. Resin bonding to cervical sclerotic dentin: A review. **J Dent**, v.32, n.3, p.173-96, Mar. 2004.
143. TAY, F.R.; GWINNETT, J.A.; WEI, H.Y. Micromorphological spectrum from overdrying to overwetting acid-conditioned dentin in water-free, acetone-based, single-bottle primer/adhesives. **Dent Mater**, v.12, n.4, p.236-44, 1996.
144. TAY, F.R.; GWINNETT, J.A.; WEI, H.Y. The overwet phenomenon: an optical, micromorphological study of surface moisture in the acid-conditioned, resin-dentin interface. **Amer J Dent**, v.9, n.1, p.43-8, 1996.
145. TAY, F.R.; GWINNETT, J.A.; WEI, H.Y. Relation between water content in acetone/alcohol-based primer and interfacial ultrastructure. **J Dent**, v.26, n.2, p.147-56, 1998.

146. TAY, F.R.; MOULDING, K.M.; PASHLEY, D.H. Distribution of nanofillers from a simplified-step adhesive in acid-conditioned dentin. **J Adhes Dent**, v.1, n.2, p.103-117, 1999.
147. TAY, F.R.; PASHLEY, D.H.; YOSHIYAMA, M. Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. **J Dent Res**, v.81, n.7, p. 472-6, July 2002.
148. TAY, F.R. et al. Resin permeation into acid-conditioned, moist, and dry dentin: a paradigm using water-free adhesive primers. **J Dent Res**, v.75, n.4, p.1034-44, 1996.
149. TAY, F.R. et al. The overwet phenomenon in two-component acetone-based primers containing aryl amine and carboxylic acid monomers. **Dent Mater**, v.13, n.2, p.118-27, 1997.
150. TAY, F.R. et al. Mechanical disruption of dentin collagen fibrils during resin-dentin bond testing. **J Adhes Dent**, v.2, n.3, 2000.
151. TAY, F.R. et al. How can nanoleakage occur in self-etching adhesive systems that demineralize and infiltrate simultaneously? **J Adhes Dent**, v.4, n.4, p.255-69, Winter 2002.
152. TAY, F.R. et al. Single-step adhesives are permeable membranes. **J Dent**, v.30, n.7-8, p.371-82, 2002.
153. TEN CATE, A.R. **Histologia bucal. Desenvolvimento, estrutura e função.**, Rio de Janeiro, RJ, Ed. Guanabara, 2001, 439 p.

154. TRENGROVE, H.G.; CARTER, G.M.; HOOD, J.A.A. Stress relaxation properties of human dentin. **Dent Mater**, v. 11, n.5, 305-9, Sep.1995.
155. URIBE-ECHEVARIA, J.; URIBE-ECHEVARIA, L.J.; URIBE-ECHEVARIA, D.I. Adaptation to dentin of resin adhesives with modifications or elimination of smear layer. **J Dent Res**, v.75, p. 1059, May 1996. Special issue./Abstracts n.5/.
156. VAN MEERBEEK, B. et al. Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems. **J Dent Res**, v.71, n.8, p.1530-40, 1992.
157. VAN MEERBEEK, B. et al. Assessment by nano-indentation of the hardness and elasticity of the resin-dentin bonding area, **J Dent Res**, v.72,n.10, p. 495-501,Oct. 1993.
158. VAN MEERBEEK, B. et al. Comparative SEM and TEM examination of ultrastructure of the resin-dentin interdiffusion zone. **J Dent Res**, v. 72, n.2, p.495-501, 1993.
159. VAN MEERBEEK, B. et al. Correlative transmission electron microscopy examination of nondemineralized and demineralized resin-dentin interfaces formed by two dentin adhesive systems. **J Dent Res**, v.75,n.3, p. 879-88, Mar.1996.

160. VAN MEERBEEK, B. et al. A TEM study of two water-based adhesive systems bonded to dry and wet dentin. **J Dent Res**, v. 77, n.1, p.50-9, 1998.
161. VAN MEERBEEK, B. et al. Hybridization effectiveness of a two-step versus a three-step smear layer removing adhesive system examined correlatively by TEM and AFM. **J Adhes Dent**, v.1, n.1, p.7-23, 1999.
162. VEIS, A.; SCHLUETER, R. J. **The macromolecular organization of dentin matrix collagen**. Biochemistry, 1964, 3, p. 1650-1654.
163. WANG, Y.; SPENCER, P. Quantifying adhesive penetration in adhesive/dentin interface using confocal Raman microspectroscopy. **J Biomed Mater Res**, v.59, n.1, p.46-55, 2002.
164. WANG, Y.; SPENCER, P. Hybridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. **J Dent Res**, v. 82, n.2, p.141-5, 2003.
165. WANG, M.C.; PINS, G.D.; SILVER, H. Collagen fibers with improved strength for the repair of soft tissues injuries. **Biomaterials**, v.15, n.7, p.507-12, Jun.1994.
166. WATANABE, L.G.; MARSHALL, G.W. Jr.; MARSHALL, S.J. Dentin shear strength: effects of tubule orientation and intratooth location. **Dent Mater**, v.12, n.2, p.109-15, Mar.1996.
167. WATTS, D.C. Elastic moduli and visco-elastic relaxation. **J Dent**, v.22, n.3, p. 154-8, Jun.1994.

168. WOO, S.L.Y.; JOHNSON, G.A.; SMITH, B.A. Mathematical modeling of ligaments and tendons. **J Biomec Eng**, v.11, n.5, p.468-473, 1993.
169. XU, J. et al. An FT-Raman spectroscopic investigation of dentin and collagen surface modified by 2-hydroxyethylmethacrylate. **J Dent Res**, v.76, n.1, p.596-601, 1997.
170. XU, H.H.K. et al. Indentation damage and mechanical properties of human enamel and dentin. **J Dent Res**, v.77, n.3, p.472-80, 1998.
171. YANG, B. Effect of structural change of collagen fibrils on the durability of dentin bonding. **Biomaterials**, 2005, *in press*.
172. YIU, C.K. et al. Effect of resin hydrophilicity and water storage on resin strength. **Biomaterials**, v.25, n.26, p. 5789-96, Nov. 2004.
173. YIU, C.K.Y. et al. Solvent and water retention in dental adhesive films after evaporation. **J Dent Res**, v.84, in press 2005. /Abstract 0511/
174. YOSHIYAMA, M. et al. Regional strengths of bonding agents to cervical sclerotic root dentin. **J Dent Res**, n.75, p.1404-13, 1996.
175. ZHANG, Y. et al. Effects of acid-etching on the tensile properties of demineralized dentin matrix. **Dent Mater**, v.14, n.3, p.222-8, Jun. 1998.
176. ZHENG, L. et al. Relationship between adhesive thickness and microtensile bond strength. **Oper Dent**, v.26, n.1, p.97-104, 2001.

ABSTRACT

Abstract

THE ROLE OF SOLVENTS ON BONDING TO DENTIN

The present study aimed to test the effect of the molecular interactions between solvent and pure monomers with demineralized dentin matrix on its mechanical properties, evaporation rate and consequent change in the bond strength (BS). The mechanical properties were determined by measuring the apparent maximum modulus of elasticity (EMax) and stress relaxation (SR). The results indicated that the Emax is both time and solvent dependent; accordingly, the SR was both strain and solvent dependent. The weight loss (%) and evaporation rate of experimental mixtures (35%HEMA/65%solvents) were determined by the measuring of weight loss over time from different surfaces (demineralized dentin cubes x free surface). The overall evaporation rate and weight loss were higher for dentin cubes and dependent of solvents. The bond strength (BS) was determined by the microtensile test. The effects of surface shininess on bond strength of experimental primers to dentin were evaluated. Dentin surfaces were acid-etched, primed with experimental mixtures in two (not shiny) or three (shiny) coats. For the all primers the presence of a shiny surface significantly improved resin-dentin bond strengths. The influence of storage time in resin-

dentin bond strength mediated by experimental HEMA/solvent primers was determined. Part of specimens were tested after 24 hour storage in deionized water (control) and remaining specimens were tested after 6 months and 1 year of storage in the same condition. Water storage resulted in reduced bond strength for most of the primers. This study develops a rationale that employs the solubility parameter theory to describe and analyze molecular interactions that occur during adhesive procedure to dentin, seeking to establish the cause-effect relationship.