CÉSAR ALBERTO POMACÓNDOR HERNÁNDEZ
Cirurgião Dentista

EFEITO DA CLOREXIDINA NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO ENTRE ADESIVO AUTOCONDICIONANTE E DENTINA

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do Título de Mestre em Materiais Dentários.

Orientador: Prof. Dr. Mário Fernando de Goes

PIRACICABA
2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
Bibliotecária: Elis Regina Alves dos Santos – CRB-8ª / 8099

P77e

Pomacóndor Hernández, César Alberto.
Efeito da clorexidina na resistência de união entre adesivo autocondicionante e dentina / César Alberto Pomacóndor Hernández. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2011.

Orientador: Mario Fernando de Goes.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Odontologia. 2. Adesivos dentários. 3. Resistência à tração. I. Goes, Mario Fernando de. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.
(eras/fop)

Título em Inglês: Effect of chlorhexidine on bond strength between self-etching adhesive and dentin

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Dentistry. 2. Dental adhesives. 3. Tensile strength

Área de Concentração: Materiais Dentários

Titulação: Mestre em Materiais Dentários

Banca Examinadora: Mario Fernando de Goes, Rosa Helena Miranda Grande, Josimeri Hebling Costa

Data da Defesa: 28-02-2011

Programa de Pós-Graduação em Materiais Dentários

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 28 de Fevereiro de 2011, considerou o candidato CÉSAR ALBERTO POMACÓNDOR HERNÁNDEZ aprovado.

Prof. Dr. MARIO FERNANDO DE GOES

Profa. Dra. ROSA HELENA MIRANDA GRANDE

Profa. Dra. JOSIMERI HEBLING COSTA

Dedico este trabajo a mi papá **César**, que desde el cielo continúa acompañándome en cada paso importante de mi vida.

A mi mamá **Mariana**, persona maravillosa que consiguió fusionar amor y disciplina en mi formación.

A mi primo **Gen**, por estar siempre presente apoyándome en los momentos difíciles.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Aos **Professores da Área de Materiais Dentários da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP**, por terem me aberto as portas a uma nova fase da minha formação acadêmica.

Ao Prof. Dr. **Mário Fernando de Goes**, pelos conhecimentos transmitidos durantes os dois anos de mestrado, e pelo exemplo de profissional responsável dedicado ao seu trabalho.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, porque sem ele nada seria possível.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, em nome do diretor Prof. Dr. **Jacks Jorge Junior**.

À **CAPES** pela concessão da bolsa de estudo que me deu a oportunidade para a realização deste curso de pós-graduação.

Ao Prof. Dr. **Mário Alexandre Coelho Sinhoreti**, pela colaboração com a estatística deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **Vinicius Di Hipólito**, pela amizade e pela sua co-orientação permanente.

Aos **colegas do Mestrado Período 2009 - 2010** do Programa de Pós-graduação em Materiais Dentários da FOP - UNICAMP.

Aos funcionários do Laboratório de Materiais Dentários da FOP - UNICAMP, **Marcos Blanco Cangiani** e **Selma Aparecida Barbosa Segalla**, pela colaboração nas diferentes etapas deste estudo.

Ao biólogo **Adriano Luis Martins**, pela orientação no uso do Microscópio Eletrônico de Varredura.

Aos amigos peruanos **Carlos Carranza** e **Alfonso Sánchez**, pelo convívio e pelo apoio nos momentos difíceis. A **Ronald Ordinola** e **Alberth Correa**, pela ajuda e motivação que me deram para estudar na FOP-UNICAMP.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

"*Uma vida sem desafios não vale a pena ser vivida"*

Sócrates

RESUMO

Na tentativa de prolongar a durabilidade da união resina-dentina, a clorexidina aparece como uma alternativa para preservar a integridade do componente colágeno não envolvido pela camada híbrida. O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da clorexidina na interação entre o adesivo autocondicionante de dois frascos Adper SE Plus (3M ESPE) e a dentina nas variáveis: a) resistência de união (RU) após 1 dia, 3 meses e 6 meses de armazenamento em água, e b) padrão de fratura. Foram obtidos oito terceiros molares humanos recém extraídos e livres de cárie. O esmalte oclusal e a raiz foram removidos para obter um bloco de dentina de 4mm de espessura com uma superfície plana em dentina média. Cada bloco foi cortado longitudinalmente em duas metades resultando em oito hemiblocos para cada um dos Grupos Controle (C) e Experimental (CHX). Para o Grupo Controle, o Adper SE Plus foi aplicado seguindo as instruções do fabricante: 1 – aplicação do Líquido A, 2 – aplicação ativa do Líquido B por 20s, 3 – leve jato de ar comprimido durante 10s, 4 – aplicação de uma segunda camada de Líquido B, 5 – leve jato de ar comprimido. O adesivo foi fotoativado durante 10s usando a unidade de luz visível Elipar Freelight 2 (3M ESPE) com intensidade de 900 mW/cm^2. Para o Grupo Experimental, foi realizado o mesmo procedimento substituindo o Líquido A por uma solução aquosa de digluconato de clorexidina a 2% em peso. Foram construídos blocos de resina composta Filtek Z250 (3M ESPE) sobre a dentina em seis incrementos de 1mm sendo fotoativados durante 20s cada. Depois de 24 horas de armazenamento em água destilada a 37°C, os hemiblocos restaurados foram seccionados perpendiculares à região adesiva nos sentidos mesiodistal e bucolingual e obtidos de 8 a 10 palitos de 0,9mm^2 (±0,2mm^2), os quais foram divididos aleatoriamente em três grupos de 2 a 4 palitos cada e avaliados após 1 dia, 3 meses e 6 meses de armazenamento em água destilada a 37°C. Para o teste de microtração cada palito foi submetido à tração sob velocidade de 0,5mm/min em uma máquina de ensaios universais. Os valores de RU foram

submetidos à Análise de Variância de dois fatores para medidas repetidas (α=0,05), e os padrões de fratura classificados em Microscópio Eletrônico de Varredura. O Grupo Controle apresentou valores de RU estatisticamente não diferentes entre si após 1 dia, 3 meses e 6 meses de armazenamento (46,43±11,46 MPa; 50,02±13,84 MPa; 45,18±17,92 MPa, respectivamente). Os valores de RU do Grupo Experimental também resultaram estatisticamente não diferentes entre si nos mesmos tempos de armazenamento (37,22±10,45 MPa; 47,29±12,67 MPa; 40,22±10,01 MPa, respectivamente). Não houve diferença estatística nos valores de RU entre os Grupos Controle e Experimental. Houve predominância de padrões de fraturas coesiva no adesivo, e mista coesiva no adesivo e na resina composta em ambos os grupos e em todos os tempos de armazenamento. Dentro das condições deste estudo, conclui-se que a RU à dentina do Adper SE Plus não diminuiu com o tempo, e não foi negativamente afetada pela clorexidina a 2%.

Palavras-chave: Odontologia, adesivos dentários, resistência à tração.

ABSTRACT

In the search for durability of resin-dentin bond, chlorhexidine appears as an alternative to preserve integrity of collagen component not involved by the hybrid layer. This study aimed to evaluate the effect of chlorhexidine in the interaction between two-bottle self-etching adhesive Adper SE Plus (3M ESPE) and dentin, in terms of bond strength (BS) after 1 day, 3 months and 6 months of water storage, and fracture mode analysis. Eight fresh caries-free human third molars were obtained. The occlusal enamel and roots were removed to obtain a 4mm-thick dentin block with a flat surface in middle dentin. Each dentin block was cut longitudinally into halves resulting in eight hemi-blocks for each of the Control (C) and Experimental (CHX) Groups. For the Control Group, Adper SE Plus was applied following the manufacturer's instructions: 1 – application of Liquid A, 2 – active application of Liquid B for 20s, 3 – gentle compressed air stream for 10s, 4 – application of a second layer of Liquid B, 5 – gentle compressed air stream. The adhesive was light cured for 10s using light unit Elipar Freelight 2 (3M ESPE) with a minimum intensity of 900 mW/cm^2. For the Experimental Group, it was performed the same procedure replacing the Liquid A with a solution of 2 wt% chlorhexidine digluconate. Resin composite build-ups were constructed with Filtek Z250 resin composite (3M ESPE) in six increments of 1mm and were light cured for 20s each. After 24 hours storage in distilled water at 37°C, restored hemi-blocks were sectioned perpendicular to the adhesive region in mesiodistal and buccolingual directions and were obtained 8 to 10 beams of 0.9mm^2 (±0.2mm^2), which were randomly divided into three groups of 2 to 4 beams and evaluated after 1 day, 3 months and 6 months of storage in distilled water at 37°C. For the microtensile test, each beam was tested on tensile until failure at a crosshead speed of 0.5mm/min in a universal testing machine. The BS values were subjected to two-way repeated measures ANOVA (α=0.05), and fracture mode classified in Scanning Electron Microscope. The Control Group had BS values not statistically different from each other after 1 day, 3 months and 6 months of storage

(46,43±11,46 MPa; 50,02±13,84 MPa; 45,18±17,92 MPa, respectively). The BS in the Experimental Group also resulted not statistically different from each other at the same times of storage (37,22±10,45 MPa; 47,29±12,67 MPa; 40,22±10,01 MPa, respectively). There was no statistical difference in BS values between Control and Experimental Groups. There was a predominance of cohesive failure within adhesive resin, and mixed cohesive failure within adhesive resin and resin composite in both groups at all storage times. Under the conditions of this study, it can be concluded that BS of Adper SE Plus to dentin did not diminish with time, and was not adversely affected by 2% chlorhexidine.

Keywords: Dentistry, dental adhesives, tensile strength.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	4
3. PROPOSIÇÃO	33
4. MATERIAIS E MÉTODO	34
5. RESULTADOS	45
6. DISCUSSÃO	52
7. CONCLUSÃO	60
REFERÊNCIAS	61
ANEXO 1	78
ANEXO 2	79

1. INTRODUÇÃO

A busca pela durabilidade da região adesiva resina-dentina é um dos principais objetivos das pesquisas na Odontologia nos últimos anos (De Munck *et al.*, 2005). A sorção de água, solubilidade e instabilidade hidrolítica dos adesivos (Santerre *et al.*, 2001; Malacarne *et al.*, 2006) junto com a degradação enzimática das fibrilas colágenas (Pashley *et al.*, 2004) são os principais responsáveis da baixa durabilidade das uniões resina-dentina (Breschi *et al.*, 2008).

É conhecido que os sistemas adesivos convencionais não conseguem penetrar toda a profundidade de dentina previamente condicionada, deixando espaços entre as fibrilas colágenas (Sano *et al.*, 1994). Teoricamente os sistemas adesivos autocondicionantes, que condicionam e penetram simultaneamente o substrato, conseguiram superar esse problema (Watanabe *et al.*, 1994). Contudo, apesar deles diminuírem a discrepância entre dentina condicionada e penetrada, não a eliminam (Sano *et al.,* 1995; Carvalho *et al.*, 2005). Esta discrepância em ambas as estratégias facilita a degradação dos componentes da camada híbrida, o que pode ser evidenciado na queda da resistência de união das regiões adesivas armazenadas em água (De Munck *et al.*, 2003; Carrilho *et al.*, 2007a), assim como nas pesquisas *in vivo* com redução de até 50% após um ano de função intraoral (Hashimoto *et al.*, 2000; Carrilho *et al.*, 2007b).

Durante o procedimento de aplicação dos sistemas adesivos na dentina, enzimas endógenas (metaloproteinases da matriz ou MMPs) são ativadas e podem iniciar um processo de degradação das fibrilas colágenas não protegidas da região logo abaixo da camada híbrida (Mazzoni *et al.*, 2006; Nishitani *et al.*, 2006). Estudos usando adesivos convencionais reportaram que o uso de clorexidina depois do condicionamento ácido e antes da aplicação do adesivo resultaram em uma região adesiva com integridade estrutural da rede de fibrilas colágenas e com preservação da resistência de união ao longo do tempo (Hebling

et al., 2005; Carrilho *et al.*, 2007b). Dessa forma, a clorexidina em concentração de 2% parece ser capaz de inibir a ação das MMPs no processo de degradação das fibrilas colágenas (Hebling *et al.*, 2005; Carrilho *et al.*, 2007b). As pesquisas que avaliaram a interação entre clorexidina e adesivos autocondicionantes mostraram resultados controversos na preservação da durabilidade de união, a qual aparentemente seria dependente da concentração de clorexidina e da composição do adesivo (Campos *et al.*, 2009; Zhou *et al.*, 2009, De Munck *et al.*, 2009, 2010).

No geral, os sistemas autocondicionantes são constituídos por monômeros que contêm radicais fosfatos, comonômeros e solventes (água e/ou etanol). A ionização do grupo fosfato pela água torna o *primer* ácido suficiente para desmineralizar a dentina (Van Landuyt *et al.*, 2007). No entanto, a acidez do meio resultante da combinação do monômero fosfatado e a água no mesmo frasco causa hidrólise dos monômeros, tornando necessário que o adesivo seja armazenado em baixas temperaturas (Aida *et al.*, 2009). Uma solução encontrada para superar tal dificuldade foi separar o solvente dos monômeros. Dentro desta característica foi introduzido o produto comercial Adper SE Plus (3M ESPE), o qual apresenta um frasco (Líquido A) contendo água e um outro frasco (Liquido B) com os monômeros fosfatados (3M do Brasil). Assim, a reação de ionização somente ocorre quando os líquidos A e B são misturados no interior da cavidade conforme indicação do fabricante.

Considerando que o Líquido A do Adper SE Plus é composto basicamente por água, componente importante no processo de ionização do radical fosfato do monômero funcional, foi proposto neste estudo a substituição do Líquido A por uma solução aquosa de clorexidina a 2%. A intenção foi unir os benefícios antienzimáticos da clorexidina com a função de complementação do processo da reação de ionização do radical fosfato pela água para haver a desmineralização da dentina. Desta forma, a primeira hipótese deste trabalho foi avaliar se a substituição do Líquido A do adesivo Adper SE Plus por uma solução aquosa de clorexidina a 2% não influencia na resistência da união resina-dentina;

e, a segunda hipótese foi verificar se a ação da clorexidina preserva a resistência de união do adesivo à dentina após 3 e 6 meses de armazenamento em água.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Para o dentista é indispensável o conhecimento básico do processo de formação, composição, características microestruturais, e propriedades físicas e mecânicas dos diversos substratos dentários (esmalte, dentina e cemento) com o intuito de entender melhor os processos fisiológicos e patológicos que acontecem no dente, assim como a interação que pode ocorrer entre esses substratos e os diferentes materiais usados na Odontologia. Estes conhecimentos, sem dúvida, estão relacionados com uma melhora da qualidade dos tratamentos odontológicos. Deste modo, antes de aprofundar nos conceitos de adesão de materiais restauradores à dentina, é conveniente revisar as características deste substrato dentário.

2.1 DENTINA

O processo de desenvolvimento dos dentes é conhecido como odontogênese. Este processo se inicia como resultado da interação entre o epitélio oral e o ectomesênquima subyacente originando a banda epitelial primária e, a seguir, a lâmina dentária (Katchburian & Arana, 2004). Os germes dentários seguem, subseqüentemente, as fases de botão, capuz, campânula, coroa e raiz. Contudo, a formação dos diversos tecidos que compõem o dente leva nomes específicos. Desse modo, dentinogênese, amelogênese, cementogênese e osteogênese correspondem, respectivamente, à formação de dentina, esmalte, cemento e osso (Avery, 2001; Katchburian & Arana, 2004; Nanci, 2008).

A dentina é um tecido mineralizado de natureza conjuntiva que representa a maior parte do volume do dente, tendo como limite externo o esmalte na porção coronária e o cemento na porção radicular, e como limite interno a polpa dentária a qual recobre e protege (Linde & Goldberg, 1993). O processo de

dentinogênese consiste basicamente na síntese de matriz orgânica e sua posterior mineralização. As células ectomesenquimais da periferia da papila dentária (polpa primitiva) se diferenciam em odontoblastos, que são as células responsáveis pela formação da dentina. Estas células se movimentam em direção centrípeta à polpa dentária, sintetizando matriz orgânica e deixando no seu percorrido finos túbulos. No interior destes túbulos dentinários estão presentes o prolongamento do odontoblasto e o fluido dentinário, sendo que o corpo celular dos odontoblastos se localiza na periferia da polpa dentaria. Desse modo, dentina e polpa dentária estão intimamente relacionadas constituindo o complexo dentina-polpa (Avery, 2001).

2.1.1 COMPOSIÇÃO DA DENTINA

A dentina é composta por uma parte inorgânica, matriz orgânica e água. Apesar de que a determinação exata em porcentagem desses componentes resulta complexa devido a que a dentina é um tecido heterogêneo, a literatura relata que a dentina madura está composta de 70% de material inorgânico, 19±1% de material orgânico e 11±1% de água por peso (Avery, 2001; Katchburian & Arana, 2004; Nanci, 2008). É importante conhecer também a distribuição por volume dos componentes da dentina para o melhor entendimento dos fenômenos que acontecem durante os procedimentos adesivos. Deste modo, tem sido reportado que a dentina madura está composta por 45% de material inorgânico, 33% de matriz orgânica e 22% de água por volume (Nanci, 2008).

Como em todo tecido conjuntivo, a matriz orgânica da dentina tem dois componentes: o fibrilar, constituído pelas fibrilas colágenas, e a substância fundamental interfibrilar, constituída pelas proteínas chamadas de não colágenas (Katchburian & Arana, 2004). O colágeno representa 90% da matriz orgânica presente na dentina e é principalmente do tipo I com pequenas quantidades dos tipos III e V. Os outros 10% da matriz orgânica são constituídos pelas proteínas

não colágenas como a fosfoproteína dentinária (DPP), a sialoproteína dentinária (DSP), proteínas da matriz dentinária (DMP-1, DMP-2 e DMP-3), e proteínas morfogenéticas dentinárias. Também são encontradas na dentina proteínas da matriz do osso como osteopontina, osteocalcina e osteonectina (Katchburian & Arana, 2004; Nanci, 2008). A DPP (também chamada de fosfoforina dentinária) e a DSP representam a maior parte das proteínas não colágenas da matriz na dentina (Dimuzio & Veis, 1978), e são produtos da proteólise da sialofosfoproteína dentinária (DSPP), proteína descrita pela primeira vez por MacDougall *et al.* (1997). Yamakoshi *et al.* (2005) reportaram uma terceira proteína produto da proteólise da DSPP: a glicoproteína dentinária (DGP). No início acreditava-se que a DSPP era específica da dentina, porém estudos posteriores confirmaram a expressão de DSPP em osso (Qin *et al.*, 2002; Baba *et al.*, 2004), cemento (Baba *et al.*, 2004), e alguns tecidos não mineralizados (Alvares *et al.*, 2006; Ogbureke & Fischer, 2007).

A parte inorgânica da dentina está composta por fosfato de cálcio, principalmente sob a forma de hidroxiapatita, um tipo de apatita biológica que impregna os tecidos mineralizados formando cristais. Geralmente os cristais de hidroxiapatita nos tecidos duros não têm estrutura perfeita, pois mostram consideráveis variações na sua relação estequiométrica, embora sua fórmula básica seja a seguinte: $Ca_{10}(PO_4)_6OH_2$ (Katchburian & Arana, 2004). Os cristais de apatita da dentina são menores (aproximadamente 5 x 30 x 100nm) que os encontrados no esmalte (Marshall *et al.*, 1997).

2.1.2 PADRÕES DE MINERALIZAÇÃO DA DENTINA

Existem dois padrões de mineralização da dentina: globular e linear. A mineralização globular, também chamada de calcosférica, consiste na formação de massas globulares de calcificação (calcosferitos) em diversas áreas da matriz

orgânica, aumentando seus tamanhos até se fusionarem para formar uma única massa calcificada. Quando a velocidade de formação progride lentamente, a frente de mineralização aparece mais uniforme e o processo é conhecido como linear (Nanci, 2008). É bom ressaltar que as proteínas derivadas da proteólise da DSPP cumprem um papel muito importante na mineralização da matriz orgânica (Yamakoshi, 2009; Prasad *et al.*, 2010). A DSP regula o início da mineralização da dentina, enquanto a DPP está envolvida na maturação da dentina mineralizada (Suzuki *et al.*, 2009).

2.1.3 TIPOS DE DENTINA

2.1.3.1 De acordo com o momento de formação

A dentina primária é formada desde a fase inicial da dentinogênese quando acontece a primeira síntese de matriz orgânica pelos pré-odontoblastos, até o fechamento do ápice radicular, depois que o dente erupcionou (Katchburian & Arana, 2004). Como a deposição de dentina ocorre durante toda a vida, a dentina que é formada depois do fechamento do ápice radicular é chamada de dentina secundária, contudo, este processo é mais lento. A dentina secundária possui uma estrutura tubular que, embora menos regular, em sua maior parte é contínua com a dentina primária (Nanci, 2008).

Chama-se de dentina terciária (também denominada reacional ou reparativa) a aquela produzida em reação a vários estímulos, tais como atrição, cáries ou um procedimento restaurador do dente. A dentina terciária reacional é uma tentativa dos odontoblastos de formar uma barreira, aumentando a espessura da dentina para a agressão ficar mais afastada da polpa dentária. É considerada irregular porque não apresenta a estrutura tubular ordenada das dentinas primária e secundária. A dentina terciária reparativa é formada pelas células

indiferenciadas da polpa, e a maioria das vezes origina um tecido de tipo osteóide chamado osteodentina (Marshall *et al.*, 1997; Katchburian & Arana, 2004).

2.1.3.2 De acordo com a posição

A camada externa da dentina, próxima ao esmalte ou cemento, difere do resto da dentina no modo em que é mineralizada e na inter-relação estrutural entre os componentes colágenos e não colágenos da matriz, sendo chamada de dentina do manto. O restante da dentina que forma a maior parte do dente é chamado de dentina circumpulpar (Katchburian & Arana, 2004; Nanci, 2008). Desse modo, a dentina circumpulpar está formada pela maior parte da dentina primária, e pelas dentinas secundária e terciária. Apenas a parte periférica da dentina primária, que está em contato com o limite amelodentinário ou cementodentinário é considerada como dentina do manto.

2.1.4 CARACTERÍSTICAS MICROESTRUTURAIS

O processo de formação da dentina origina características microestruturais especiais que fazem com que este tecido dentário seja considerado heterogêneo. Quando associada ao tecido pulpar, se diferencia dos outros tecidos por ser viva, sensível, permeável, com alto conteúdo de água, variável na sua composição ao longo de toda sua extensão, e sintetizada durante toda a vida.

2.1.4.1 Túbulos dentinários

Os túbulos dentinários são microestruturas que atravessam a dentina, por onde passam os prolongamentos odontoblásticos, estendendo-se por toda a espessura da dentina, desde a junção amelodentinária ou cementodentinária até a polpa, formando uma rede para a difusão dos nutrientes através da dentina. A configuração dos túbulos dentinários indica o trajeto seguido pelos odontoblastos durante a dentinogênese. Tal trajeto geralmente apresenta forma de "S" devido à aglomeração dos odontoblastos conforme eles se deslocam em direção ao centro da polpa, no entanto, a curvatura é menos pronunciada abaixo da margem incisal e cúspides, onde os túbulos podem seguir um curso quase retilíneo. A sinuosidade é mais evidente na dentina coronária do que na radicular (Katchburian & Arana, 2004; Nanci, 2008). O diâmetro dos túbulos dentinários e o seu número por unidade de área na dentina são extremamente variáveis, e basicamente dependem da região dentinária avaliada. De forma geral pode ser estipulado que próximo ao esmalte e cemento os túbulos dentinários apresentam menor diâmetro e menor densidade, enquanto perto da polpa dentária são achados maiores diâmetros e maior densidade. É estimado que os túbulos dentinários medem aproximadamente 2,5µm de diâmetro próximo à polpa, e 0,8µm na periferia (Marshall *et al.*, 1997). Ao respeito da densidade dos túbulos, existe muita discrepância na literatura devido às variações nas amostras. Nanci (2008) recentemente reportou que na região coronária dos dentes molares e premolares jovens, o número de túbulos dentinários varia de 59 mil a 76 mil por milímetro quadrado na superfície pulpar, enquanto próximo ao esmalte os valores diminuem em aproximadamente 50%. Existem também ramificações entre os túbulos dentinários que ocorrem a cada 3 a 5µm, formando ângulo de 45° com os túbulos. Muitos deles se estendem na dentina intertubular por aproximadamente 50µm, o que significa que percorrem distâncias correspondentes a mais de dois túbulos dentinários (Katchburian & Arana, 2004).

2.1.4.2 Dentina peritubular

A parede interna do túbulo dentinário chama-se de dentina peritubular ou intratubular, e está constituída por uma matriz altamente mineralizada e pouco componente colágeno (Marshall *et al.*, 1997). Sua espessura é de aproximadamente 0,7µm próxima à junção amelodentinária, diminuindo em direção à polpa alcançando 0,4 µm próxima à pré-dentina (Katchburian & Arana, 2004). A espessura da dentina peritubular aumenta com a idade e por estímulos externos como a atrição, podendo produzir a obliteração dos túbulos na extremidade mais externa, o que é conhecido como dentina esclerótica (Holland, 1994). Durante o processo de condicionamento com ácidos, a dentina peritubular é principalmente desmineralizada resultando em túbulos dentinários com aberturas em forma de funil (Marshall *et al.*, 1997).

2.1.4.3 Dentina intertubular

A dentina localizada entre os túbulos dentinários é chamada de dentina intertubular, a qual consiste em uma rede firmemente entrelaçada de fibrilas de colágeno tipo I, na qual os cristais de apatita são depositados. A área da dentina intertubular varia de acordo à profundidade da dentina, sendo aproximadamente 12% na predentina, e 96% na junção amelodentinária. Estas características histológicas determinam o grau de permeabilidade dentinária (Katchburian & Arana, 2004; Nanci, 2008). Nos procedimentos adesivos a dentina é desmineralizada tornando à dentina intertubular porosa e permeável para a infiltração dos monômeros resinosos (Pashley & Carvalho, 1997). A retenção micromecânica formada entre a dentina intertubular desmineralizada e os monômeros adesivos polimerizados constitui a base da união das resinas compostas à dentina (Nakabayashi *et al.*, 1982).

2.1.4.4 Pré-dentina

Na zona interna da dentina que está em contato com a polpa dentária existe uma camada não mineralizada de aproximadamente 30µm chamada de pré-dentina. A matriz extracelular é constituída principalmente por fibrilas colágenas que contém maior quantidade de proteoglicanas glicosaminoglicanas do que a dentina mineralizada. A pré-dentina evita o contato da dentina mineralizada com a camada de odontoblastos da polpa, que poderia reabsorvê-la se esse contato acontecesse (Katchburian & Arana, 2004; Nanci, 2008).

2.1.4.5 Dentina interglobular

A dentina interglobular é uma região da dentina considerada com mineralização deficiente, pois é uma área não mineralizada ou hipomineralizada onde as zonas globulares de mineralização (calcosferitos) não se fusionaram em massa homogênea dentro da dentina (Nanci, 2008). Tais áreas são especialmente prevalentes nos dentes dos seres humanos com deficiência de vitamina D (Limeback *et al.*, 1992), ou que foram expostos a elevados níveis de fluoreto durante a formação da dentina (Fejerskov *et al.*, 1979). A dentina interglobular é observada, mais freqüentemente, na dentina circumpulpar logo abaixo da dentina do manto, onde o padrão de mineralização é bastante globular (Jayawardena *et al.*, 2009).

2.1.4.6 Linhas incrementais de crescimento

A matriz orgânica da dentina é depositada incrementalmente pelos odontoblastos através de longas fases de formação seguidas por curtos períodos de repouso. Isso determina a formação de linhas incrementais perpendiculares ao

longo eixo dos túbulos dentinários denominadas linhas incrementais de von Ebner (Katchburian & Arana, 2004; Nanci, 2008). A taxa diária de deposição da matriz orgânica na dentina humana é de aproximadamente 4µm (Schour & Hoffman, 1939); contudo, as linhas de von Ebner são formadas a cada 5 dias e estão separadas por aproximadamente 20 µm (Kawasaki *et al.*, 1980, Katchburian & Arana, 2004; Nanci, 2008).

Existem outras linhas que também são observadas na dentina e são chamadas de linhas de contorno de Owen, as quais embora tenham sua orientação similar às linhas de von Ebner, são conseqüência de distúrbios ou alterações metabólicas que ocorrem durante a dentinogênese, como por exemplo o momento do nascimento ou diversas doenças que a criança sofre durante a infância. As linhas de Owen têm distâncias variáveis entre elas e se apresentam em número também variável (Katchburian & Arana, 2004).

2.1.4.7 Camada granulosa de Tomes

Na dentina radicular dos dentes preparados por desgaste observa-se, na região mais periférica, uma camada de aspecto granuloso representada por pequenos espaços nas lamelas desgastadas, os quais são preenchidos por ar provocando a refração do feixe de luz durante sua observação no microscópio de luz, aparecendo escuros. Esses espaços são devidos ao fato que durante a formação da camada mais externa da dentina radicular, os prolongamentos odontoblásticos ramificam-se profusamente, adotando a forma de alças ao redor das quais é formada a dentina propriamente dita (Katchburian & Arana, 2004).

2.1.4.8 Lama dentinária ou *smear layer*

O desgaste do tecido nos procedimentos restauradores resulta na criação de lama dentinária que cobre a superfície da dentina e penetra vários milímetros ao interior dos túbulos dentinários formando *smear plugs* (Marshall *et al.*, 1997). Esta *smear layer* está composta pela mistura de minerais e fibrilas colágenas parcialmente denaturados (Eick *et al.*, 1970). A classificação das estratégias de união ao tecido dentário está baseada no tratamento da lama dentinária, podendo ela ser eliminada ou incorporada na região de união (Van Meerbeek *et al.*, 2003).

2.2 ESTRATÉGIAS DE UNIÃO À DENTINA

2.2.1 EVOLUÇÃO HISTÓRICA DA ADESÃO À DENTINA

Durante muito tempo foram procurados materiais restauradores que possam substituir o tecido dentário perdido principalmente no processo de cárie dentária. No final do século XIX o amálgama de prata era progressivamente aceito como material restaurador, enquanto os materiais estéticos usados até a primeira metade do século XX eram o cimento de silicato e a resina acrílica à base de metacrilato de metila (MMA). Nenhum desses materiais conseguia se aderir à estrutura dentária, tendo como desvantagem principal o desgaste excessivo de tecido sadio para poder conseguir retenção macromecânica, além de outras desvantagens como maior incidência de manchamento marginal, cárie secundária e deslocamento da restauração. Essa necessidade de unir o material restaurador ao dente trouxe consigo o desenvolvimento dos adesivos dentários, fato que contribuiu também ao desenvolvimento de novos materiais restauradores com melhores características, tanto estética como de compatibilidade biomecânica com o dente.

O químico suíço Oskar Hagger (1951), trabalhador da Amalgamated Dental Company de Londres, desenvolveu o primeiro agente adesivo chamado de Sevriton Cavity Seal, o qual era à base de ácido glicerofosfórico dimetacrilato e devia ser polimerizado pelo ácido sulfínico contido na resina acrílica Sevriton (McLean & Kramer, 1952). O ácido glicerofosfórico dimetacrilato aumentava a adesão da resina acrílica penetrando na superfície dentinária e formando uma camada intermédia detectada com microscópio de luz pela intensa afinidade ao corante hematoxilina (Kramer & McLean, 1952). Contudo, a história indica a Michael Buonocore (1955, 1956) como o pioneiro da Odontologia Adesiva por sugerir o uso de substâncias ácidas para condicionar o tecido dentário se baseando no tratamento das superfícies metálicas com ácido fosfórico realizado na indústria para obter melhor adesão da pintura. Ele demonstrou que usando ácido fosfórico a 85% no esmalte intacto durante 30 segundos a adesão da resina acrílica poderia ser melhorada notavelmente (Buonocore, 1955). Na dentina o condicionamento com ácidos não melhorava a adesão das resinas acrílicas devido à natureza heterogênea do substrato e à hidrofobia das resinas utilizadas na época (Buonocore *et al.*, 1956). O adesivo Sevriton Cavity Seal usado junto com a resina acrílica Sevriton apresentavam levemente melhor adesão que as outras resinas acrílicas e realizando um pré-tratamento da dentina com ácido clorídrico a 7% durante 60 segundos conseguiu-se dobrar os valores de resistência de união. No entanto, a resistência imediata atingida era ainda muito baixa (5,2 MPa) e foi observada diminuição dos valores (2,7 MPa) depois de cinco meses de armazenamento em água (Buonocore *et al.*, 1956).

Na época era conjeturado que a melhor estratégia de união seria aquela de natureza química entre o dente e o material restaurador. Foi assim que Bowen (1965) chamou de comonômeros de superfície ativa aos compostos que tivessem propriedades quelantes para se unir quimicamente ao cálcio da estrutura dentária, e também propriedades de copolimerização com a resina acrílica, o que melhoraria a estabilidade da união na água. Na busca desse tipo de comonômeros

de superfície ativa foi sintetizado o agente de união N-fenilglicina glicidil metacrilato (NPG-GMA), o qual aplicado como adesivo dentinário em concentração de 5% em etanol antes da aplicação da resina acrílica apresentou valores de resistência de união à tração entre 1,0 e 2,2 MPa. Nos corpos de prova fraturados foi relatado que repetindo o protocolo de aplicação de NPG-GMA e resina acrílica sem dar polimento à superfície dentinária obtinha-se valores superiores, sendo o mais alto de 4,5 MPa (Bowen, 1965).

Os cianoacrilatos, potentes adesivos usados na indústria (Ardis, 1949; Coover, 1956), entraram na área médica-cirúrgica como a grande alternativa de substituir ou complementar a ação das suturas devido à sua capacidade de se aderir a tecidos úmidos e produzir hemostasia (Coover *et al.*, 1959). Em 1958, o primeiro adesivo à base de cianoacrilato entrou no mercado industrial com o nome de monômero Eastman 910. O metil 2-cianoacrilato demonstrou ter selamento superior ao cimento fosfato de zinco, óxido de zinco-eugenol e à resina acrílica quando foram realizados testes de microinfiltração (Khowassah & Sahs, 1966). Contudo, a biodegradação característica dos cianoacrilatos seguida pela perda de suas propriedades com o tempo e sua possível histotoxicidade levaram aos pesquisadores a descartar este material (Bischoff, 1972; Council on Dental Materials and Devices, 1974).

Adesivos industriais à base de compostos poliméricos chamados de poliuretanos apareceram como mais uma possibilidade para conseguir união a tecidos duros do corpo humano. Depois de alguns estudos iniciais na área médica onde os poliuretanos foram testados para unir tecido ósseo fraturado (Salvatore & Mandarino, 1959), Galligan *et al.* (1968) realizaram uma pesquisa *in vitro* onde investigaram um *liner* à base de poliuretano antes de restaurações com resina acrílica e amálgama demonstrando que a aplicação prévia do *liner* aumentava a união desses materiais inclusive após termociclagem. Contudo, os autores recomendavam restaurar o dente trinta minutos depois da aplicação do *liner* para a obtenção de resultados duradouros, o que fazia o procedimento clínico inviável.

Lee *et al.* (1971), desenvolveram uma resina de poliuretano para funcionar como adesivo dentário antes da colocação de resinas compostas. No teste *in vitro* condicionaram previamente a dentina de dentes bovinos com uma solução aquosa de ácido cítrico a 50% e pH 1,5, e aplicaram o adesivo desenvolvido à base de poliuretano que continha um agente de união à base de silano. Após realizar a restauração com um compósito com 82% de cargas inertes, os valores de resistência de união foram medidos, os quais variaram de 2,1 a 4.8 MPa. Também testaram *in vivo* este adesivo em 24 dentes de cães, e após 18 meses em boca obteve maior retenção o grupo onde não tinha sido usado este adesivo (Lee *et al.*, 1971). Além dos pobres resultados obtidos, a possível toxicidade e carcinogênese motivaram o desinteresse da comunidade científica pelos poliuretanos (Bischoff, 1972; Autian *et al.*, 1975).

Segundo Nakabayashi & Pashley (1998), Masuhara *et al.* (1963, 1969) foram os primeiros em usar tri-*n*-butil borano (TBB) como iniciador da polimerização do MMA ao marfim e especularam que a polimerização iniciada por TBB na presença de água e oxigênio poderia produzir união do MMA ao marfim através da polimerização de enxerto no colágeno. O marfim era usado como modelo da dentina e tinha suficiente permeabilidade intrínseca ao MMA para dar altos valores de resistência de união usando apenas a resina MMA-TBB sem condicionamento ácido prévio. No entanto, quando era adicionado algum monômero promotor de adesão como o 4-metacriloxietil trimelitato anidrido (4-META), a penetração do monômero ao marfim aumentava tanto que a espessura da camada híbrida superava os 100 µm, deixando zonas de infiltração incompleta do monômero com defeitos de fibrilas colágenas não infiltradas na subsuperfície do substrato (Ashisawa *et al.*, 1992). Deste modo, o marfim foi rejeitado como modelo de substrato para testes de união em dentina (Nakabayashi & Pashley, 1998).

Duas propostas bem definidas foram estabelecidas à respeito do tratamento do substrato dentinário para obter união à dentina. Por um lado, era

sugerida a remoção completa da *smear layer* e dos *smear plugs* mediante ácidos para conseguir uma ótima penetração dos monômeros resinosos. Por outro lado, para evitar a possível injuria dos ácidos na polpa dentária e aumento de permeabilidade dentinária que poderia favorecer a passagem de bactérias, se procurava monômeros adesivos com capacidade de penetrar a *smear layer* até alcançar a dentina subjacente.

A primeira destas estratégias foi inicialmente aceita quando Fusayama *et al*. (1979) condicionaram esmalte e dentina com ácido fosfórico a 40% por 60 segundos e usando o adesivo Clearfil Bond System-F obtiveram valores de 10,9 MPa em esmalte e 6,1 MPa em dentina, após uma semana de armazenamento em água. Apesar dos valores ainda baixos, foi com este estudo que os autores introduziram o conceito de condicionamento ácido total, demonstrando que era possível condicionar simultaneamente esmalte e dentina para melhorar a união. A adesão na dentina definitivamente era um desafio que tinha que ser superado, pois os monômeros predominantemente hidrófobos não conseguiam penetrar a dentina. Em 1982, Nakabayashi *et al.* estudaram a efetividade do monômero 4-META a 5% em MMA iniciado por TBB (resina 4-META/MMA-TBB) em dentina e esmalte condicionados previamente com uma solução de ácido cítrico a 10% e cloreto férrico a 3%, a qual denominaram solução 10-3. Foi demonstrado que os monômeros com grupos hidrofílicos e hidrofóbicos como o 4-META promovem a infiltração dos monômeros na estrutura dentária. O valor de resistência de união foi de 18 MPa na dentina condicionada, mostrando com isto uma melhora considerável em relação aos estudos anteriores em dentina, e demonstraram que sob condições apropriadas, os monômeros resinosos podem penetrar a dentina desmineralizada e ser polimerizados *in situ* para formar uma nova estrutura chamada de camada híbrida (Nakabayashi & Pashley, 1998).

A união à dentina coberta por *smear layer* não era bem sucedida devido à incapacidade dos monômeros resinosos de penetrá-la. A resistência de união não superava os 5 MPa, e quando os corpos de prova eram examinados após a

fratura por Microscopia Eletrônica de Varredura mostravam partículas de *smear layer* em ambos os lados, demonstrando que havia uma falha coesiva nas partículas da *smear layer* (Tao *et al.*, 1988). Posteriormente, Watanabe *et al.* (1990) e Watanabe (1992) conseguiram desenvolver um sistema de união chamado de autocondicionante com o intuito de minimizar a dificuldade técnica do procedimento com condicionamento ácido, e diminuir o número de passos clínicos. Uma solução aquosa de fenil-P a 20% em HEMA a 30% (conhecido como sistema 20P – 30H) foi usada como agente adesivo em esmalte e dentina desgastados. A estrutura química diferente do fenil-P possibilitou novas e importantes informações relativas ao mecanismo de união à dentina coberta por *smear layer,* dando início ao desenvolvimento dos adesivos autocondicionantes (Watanabe *et al.*, 1994).

Na atualidade, nos procedimentos restauradores que envolvem restaurações com resinas compostas diretas são aceitas duas estratégias para conseguir união entre o dente e o material restaurador: a técnica convencional e a técnica autocondicionante. Ambas as estratégias de união são diferentes entre si pela interação com a *smear layer* dos tecidos dentais (Van Meerbeek *et al.*, 2003). É importante ressaltar que existem materiais que são classificados como autoadesivos como o ionômero de vidro, e alguns recentemente desenvolvidos cimentos resinosos (Van Meerbeek *et al.*, 2010).

2.2.2 ESTRATÉGIA CONVENCIONAL OU “DE CONDICIONAR E LAVAR”

A estratégia convencional consiste basicamente na remoção da *smear layer*, desmineralização da dentina superficial deixando a matriz orgânica exposta, penetração do *primer* e o adesivo na dentina desmineralizada e subseqüente polimerização *in situ* para formar uma estrutura conhecida como camada híbrida (Nakabayashi *et al.*, 1982). Este procedimento realizado no inicio em três passos

(condicionamento ácido + *primer* + adesivo) se tornou mais simples juntando o *primer* e o adesivo em um frasco único (condicionamento ácido + *primer*/adesivo) (Van Meerbeek *et al.*, 2003).

O processo inicia-se com a aplicação de um agente condicionante ácido para remover a *smear layer* e *smear plugs*, e desmineralizar a dentina peri- e intertubular superficial, deixando aproximadamente 6µm de matriz orgânica exposta, livre de hidroxiapatita (Wang & Yao, 2010). Este passo é continuado por uma lavagem abundante com água para remover o ácido e seus subprodutos, passo clínico pelo qual esta técnica também é conhecida como "de condicionar e lavar". Diversos agentes condicionantes foram estudados a diferentes concentrações, por exemplo, ácido nítrico a 2,5%, ácido maleico a 10% e ácidos cítricos, mas é universalmente aceito que o condicionamento do dente deve ser realizado com ácido fosfórico em concentrações de 30 a 40% pela vantagem que tem de deixar o esmalte com aparência esbranquiçada identificável pelo clínico, pelo padrão de condicionamento bem definido que cria na dentina, pela rápida desmineralização que produz e pelo baixo custo (Van Meerbeek *et al.*, 2003; Vaidyanathan & Vaidyanathan, 2009). Quando a dentina condicionada é seca, a água entre as fibrilas colágenas é removida deixando-as em íntimo contato e propiciando a formação de pontes de hidrogênio entre as cadeias peptídeas (Carvalho *et al.*, 1996; Nakaoki *et al.*, 2000). Este colapso dos espaços entre as fibrilas colágenas resulta na redução da permeabilidade dentinária aos adesivos (Pashley *et al.*, 1993; Pashley & Carvalho, 1997). Contudo, é possível reexpandir as fibrilas colágenas com água, com misturas de água/HEMA contidas nos *primers*, ou com solventes que possuam parâmetro de solubilidade para uniões de hidrogênio (δh) maior a 19,0 $(J/cm^3)^{1/2}$ para poder quebrar as pontes de hidrogênio interpeptídeas (Pashley *et al.*, 2001, 2002). Durante duas décadas a estratégia convencional foi também chamada de técnica úmida devido a que era presumido que a dentina indispensavelmente devia estar hidratada (de água ou de *primer*) para favorecer a penetração do adesivo na matriz colágena (Pashley *et al.*, 1993).

Usando a técnica úmida foi demonstrado que são obtidos maiores valores de resistência de união devido à maior penetração do adesivo na rede colágena expandida (Kanca, 1992a, 1992b; Gwinnett, 1992). No entanto, recentemente foi demonstrado que aplicando vigorosamente os adesivos na superfície dentinária poderiam ser obtidos altos valores de resistência de união imediata, independentemente se a dentina desmineralizada estiver seca ou úmida, razão pela qual o nome de técnica úmida deveria ser reavaliado (Dal-Bianco *et al.*, 2006; Reis *et al.*, 2007; do Amaral *et al.*, 2009; do Amaral *et al.*, 2010). Além disso, algumas propriedades mecânicas da camada híbrida podem melhorar quando os adesivos são aplicados vigorosamente na dentina seca (Higashi *et al.*, 2009).

Na técnica convencional de três passos, o *primer* está composto por monômeros basicamente hidrófilos (por exemplo, HEMA) e por um solvente orgânico (água, álcool ou acetona) (Van Landuyt *et al.*, 2007). Esta mistura de natureza hidrófila faz possível a penetração na dentina com o intuito de prepará-la reexpandindo a matriz colágena e aumentando a energia de superfície que tinha sido diminuída com o condicionamento ácido. Já o adesivo está composto por monômeros predominantemente hidrófobos (por exemplo, Bis-GMA, TEG-DMA, UDMA) que infiltram a dentina preparada pelo *primer*, com quem sofrerá um processo de copolimerização junto com a resina composta (Van Landuyt *et al.*, 2007). Esta estrutura criada pelas fibrilas colágenas imbricadas com os monômeros resinosos polimerizados confere retenção micromecânica ao material restaurador (Nakabayashi & Pashley, 1998). A procura da simplicidade dos procedimentos clínicos originou o que conhecemos como adesivos de “frasco único” ou técnica convencional de dois passos. Este tipo de adesivos juntou os monômeros hidrófilos e hidrófobos que anteriormente estavam em frascos diferentes, o que ocasiona um desafio muito complexo por juntar soluções de polaridades completamente opostas que devem estar em equilíbrio químico para permitir uma ótima união.

2.2.3 ESTRATÉGIA AUTOCONDICIONANTE

Como já foi referido anteriormente, a diferença entre as estratégias convencional e autocondicionante radica no tratamento da *smear layer*. Enquanto a primeira elimina a *smear layer* mediante ácidos, a segunda a dissolve e a incorpora na camada híbrida. Este procedimento se baseia na capacidade de alguns monômeros funcionais de dissolver e atravessar a *smear layer*, produzindo desmineralização da dentina enquanto a penetram, eliminando assim passos clínicos e a dificuldade técnica da estratégia convencional. A estratégia autocondicionante também apresenta uma classificação baseada no número de passos clínicos podendo ser de dois passos quando é aplicado um *primer* ácido, basicamente hidrófilo, seguido por um adesivo, predominantemente hidrófobo, ou de passo único quando se juntam ambos os componentes. Estes últimos são também conhecidos como adesivos *"all in one",* pois associam os passos de condicionamento ácido, *primer* e adesivo em um único passo operatório (Van Meerbeek *et al.*, 2003).

O mecanismo de ação da estratégia autocondicionante se fundamenta na composição à base de monômeros funcionais cuja estrutura molecular apresenta um grupo metacrilato polimerizável e um grupo funcional, comumente fosfato, ácido carboxílico ou álcool (Van Landuyt *et al.*, 2007). Os grupos funcionais fosfato e ácido carboxílico sofrem dissociação em soluções aquosas liberando prótons e tornando o meio ácido suficiente para dissolver a *smear layer* e desmineralizar a dentina subjacente enquanto a penetram. Alguns exemplos deste tipo de monômeros funcionais são o 10-metacriloxidecil dihidrogênio fosfato (10-MDP) e o fenil-P que se dissociam em água formando dois e um prótons respectivamente. Deste modo, é indispensável a presença de água na composição do *primer* ácido no procedimento autocondicionante de dois passos, e no adesivo "*all in one*" de passo único para a ionização dos monômeros funcionais. Os grupos funcionais geralmente têm comportamento hidrofílico, melhorando a molhabilidade e desmineralização da dentina. Alguns monômeros

funcionais apresentam também a grande vantagem de se unir quimicamente ao cálcio da hidroxiapatita, como por exemplo, o 10-MDP (Moszner *et al.*, 2005; Van Landuyt *et al.*, 2007).

Os adesivos autocondicionantes também podem ser classificados de acordo com seu pH, o que está relacionado com a agressividade de condicionamento ácido e penetração no tecido. Na atualidade eles podem ser subdivididos em agressivos (pH<1), moderadamente agressivos (pH±1,5), leves (pH±2) e ultraleves (pH>2,5) (Sarr *et al.*, 2010; Van Meerbeek *et al.*, 2010). Deste modo, os adesivos agressivos dissolvem completamente a hidroxiapatita produzindo um padrão de condicionamento muito parecido com aquele formado pelo ácido fosfórico da técnica convencional, enquanto os adesivos leves desmineralizam a dentina parcialmente propiciando a formação de uniões químicas entre os monômeros funcionais e o cálcio remanescente (Sarr *et al.*, 2010).

Os adesivos autocondicionantes "*all in one*" estão compostos por monômeros hidrófilos e hidrófobos, e uma relativamente alta concentração de água e solventes, necessários para manter o equilíbrio químico da solução. Devido a sua alta hidrofilia, estes adesivos se comportam como membranas semipermeáveis, permitindo a passagem dos fluidos através dela e prejudicando sua estabilidade com o tempo (Tay *et al.*, 2002b). Desafortunadamente, os monômeros fosfatados e a água, quando contidos em um mesmo frasco, podem originar a hidrólise das porções éster desses mesmos monômeros ou de outros comonômeros como o HEMA, isto devido a que o meio dentro do frasco se acidifica, e o pH baixo atua como catalisador dessa reação (Salz *et al.*, 2005). Assim, os adesivos autocondicionantes possuem vidas úteis muito curtas e deve ser tomado especial cuidado nas condições de armazenamento dos frascos, pois é conhecido que altas temperaturas aceleram as reações, e as baixas as retardam. Assim, estes adesivos "*all in one*" são lançados ao mercado em apresentações de baixo volume, com datas de vencimento muito curtas, e é

indispensável o armazenamento a temperaturas baixas (Aida *et al.*, 2009; Ma *et al.*, 2009; Shibuya-Chiba *et al.*, 2010).

Recentemente foi lançado ao mercado um adesivo autocondicionante que apesar de ser de dois passos clínicos, funciona como adesivo de passo único. O Adper SE Plus (3M ESPE) apresenta um frasco (Líquido A) contendo 80-90% de água e 10-20% de HEMA, que não cumpre papel de *primer* ácido porque carece de monômeros funcionais ácidos, e um outro frasco (Liquido B) com os monômeros hidrófobos e hidrófilos funcionais ácidos sem presença de água nem solventes orgânicos. Assim, a reação de ionização somente ocorre quando os líquidos A e B são misturados no interior da preparo cavitário (3M ESPE do Brasil). Desta forma, é esperado que as reações hidrolíticas não aconteçam no interior dos frascos aumentando assim o tempo de vida útil. Outra vantagem deste adesivo é o baixo conteúdo de monômeros hidrófilos quando comparado com outros sistemas autocondicionantes, o que propicia um polímero hidrolíticamente mais estável e de melhor qualidade, pois é conhecido que adesivos muito hidrófilos apresentam maior sorção de água, hidrólise, elução dos monômeros, e diminuição das propriedades mecânicas (Yiu *et al.*, 2004; Ito *et al.*, 2005a; Yiu *et al.*, 2005; Malacarne *et al.*, 2006; Loguercio *et al.*, 2009a; Hosaka *et al.*, 2010).

No geral, a maioria de adesivos autocondicionantes de passo único alcança baixos valores de resistência de união à dentina quando comparados com os adesivos convencionais (Van Landuyt *et al.*, 2009; Sarr *et al.*, 2010; Xie *et al.*, 2010). Contudo, vários estudos demonstraram que a aplicação de várias camadas de adesivo para formar uma maior espessura pode aumentar consideravelmente a resistência de união (Zheng *et al.*, 2001; Ito *et al.*, 2005b; D'Arcangelo *et al.*, 2009). Outra forma de aumentar a resistência de união dos adesivos *"all in one"* é pela aplicação de uma camada final de adesivo à base de monômeros predominantemente hidrófobos e livres de solvente similares aos segundos frascos dos adesivos Adper Scothbond Multi-Purpose (3M ESPE) e Clearfil SE Bond (Kuraray) (Albuquerque *et al.*, 2008; Reis *et al.*, 2008, 2009).

2.3 DURABILIDADE DA UNIÃO

O conceito de durabilidade pode ser entendido como a estabilidade da união resina-dentina através do tempo frente às agressões químicas, físicas e térmicas do meio oral. Em testes de laboratório, a durabilidade de união é comumente avaliada pela variação da resistência de união após armazenamento em água a longo prazo (De Munck *et al.*, 2005). Apesar de que a maioria dos sistemas adesivos do mercado consegue aceitáveis valores de resistência de união imediata à dentina, eles não conseguem manter estabilidade ao longo do tempo (Van Landuyt *et al.*, 2009; Sarr *et al.*, 2010; Xie *et al.*, 2010).

Antes de ser desenvolvida a técnica de microtração, alguns trabalhos *in vitro* já demonstravam mediante outro tipo de testes a redução da resistência de união em dentes que eram armazenados em água (Gwinnett & Yu, 1995; Burrow *et al.*, 1996). Trabalhos *in vivo* com macacos evidenciaram mudanças morfológicas na região adesiva com maior porosidade no topo da camada híbrida e no adesivo (Sano *et al.*, 1999; Takahashi *et al.*, 2002). Hashimoto *et al.* (2000) pesquisaram a durabilidade das uniões resina-dentina *in vivo* em humanos com o propósito de entender o processo degradativo das regiões adesivas envelhecidas no meio oral. Após um, dois e três anos, observaram degradação da resina e diminuição das fibrilas colágenas nas amostras. Estudos posteriores realizados sobre as mudanças micromorfológicas apenas confirmariam estes achados concluindo que são observados dois padrões de degradação bem definidos na camada híbrida: desorganização das fibrilas colágenas, e perda da resina dos espaços interfibrilares dentro da camada híbrida. (Hashimoto *et al.*, 2001, 2002, 2003).

A hidrólise é um processo químico que pode quebrar as ligações covalentes que existem entre os polímeros resinosos (por adição de água nas ligações éster) resultando em desintegração da resina (Santerre *et al.*, 2001). Este fenômeno é considerado a principal causa de degradação do componente

resinoso dentro da camada híbrida (Breschi *et al.*, 2008). A água, molécula prejudicial na longevidade da rede polimérica resinosa, pode atingir a região adesiva via túbulos dentinários, meio oral, ou pode não ser completamente volatilizada da composição do adesivo antes dele sofrer polimerização. Ao respeito deste último quesito, Yiu *et al.* (2005) demonstraram que quanto maior for a hidrofilia da mistura de comonômeros, maior é a retenção de solvente orgânico (acetona ou etanol) no polímero. Além disso, a adição de água nas misturas de comonômeros/solventes permite ligações de hidrogênio entre a água e os comonômeros, resultando em um aumento considerável na retenção de água/solvente no polímero formado, ocasionando redução das propriedades mecânicas dos adesivos (Yiu *et al.*, 2005; Loguercio *et al.*, 2009a).

Além da retenção de solvente e/ou água, existe uma característica do adesivo de atrair moléculas de água para seu interior, chamada de sorção de água, propriedade que está também intimamente relacionada com a polaridade dos monômeros. Assim, as redes poliméricas formadas por misturas de monômeros mais hidrófilos são suscetíveis a maior captação de água para o seu interior (Ito *et al.*, 2005a; Malacarne *et al.*, 2006; Yiu *et al.*, 2006). Ferracane *et al.* (1998) chamou de plastificação da resina ao processo de diminuição das propriedades físicas das resinas quando são armazenadas em água, demonstrando que a sorção de água produz um amolecimento do componente resinoso polimérico por inchaço da rede e redução das forças friccionais entre cadeias poliméricas. Concomitantemente, monômeros não reagidos junto com polímeros hidrolisados e de baixo peso molecular que se encontram presos em microgeis e/ou nanobolhas podem ser liberados diminuindo a massa do polímero, fenômeno conhecido como solubilidade ou elução da resina. Estudos de sorção de água e solubilidade ajudam a analisar a cinética da difusão de água dentro dos polímeros, propriedades que são diretamente proporcionais com a polaridade dos monômeros (Malacarne *et al.*, 2006). Estes fenômenos de difusão de água podem ser evidenciados através de testes de nanoinfiltração. A nanoinfiltração foi

inicialmente usada para descrever zonas microporosas na base ou no interior da camada híbrida. Estes espaços nanométricos são criados pela discrepância entre profundidade de desmineralização e penetração dos monômeros (Sano *et al.*, 1994, 1995; Carvalho *et al.*, 2005). Contudo, a nanoinfiltração em formato de árvores de água, apresentada pelos adesivos autocondicionantes, pode representar áreas de permeabilidade aumentada na matriz polimérica, na qual a água foi removida incompletamente, resultando em zonas com polimerização incompleta e/ou formação de hidrogéis. Estas regiões podem permitir alta taxa de difusão de água no interior da camada híbrida e do adesivo, o que poderia acelerar a degradação do componente resinoso (Tay *et al.*, 2002a; Tay & Pashley, 2003). No caso dos adesivos autocondicionantes, apesar da ausência de zonas amplas de fibrilas colágenas desprotegidas na camada híbrida, uma gradual perda da resina protetora poderia iniciar e promover a degradação do colágeno. Assim, no sistema autocondicionante a degradação da resina poderia resultar mais prejudicial para a longevidade da união do que a degradação do componente colágeno (Hashimoto, 2010).

Em síntese, a presença de água e a hidrofilia dos monômeros resinosos resultam em uma série de fenómenos não desejados, tais como: retenção de água e/ou solventes, alta permeabilidade do polímero, sorção de água, hidrólise e elução dos monômeros. Indubitavelmente, estes fenômenos estão relacionados com a diminuição das propriedades mecânicas do adesivo (Yiu *et al.*, 2004; Ito *et al.*, 2005a).

2.4 CLOREXIDINA

A clorexidina é um composto químico sintético descoberto durante uma pesquisa das propriedades biológicas de algumas polibiguanidas e selecionada entre todas como aquela que apresentava o maior grau de atividade

antibacteriana (Davies *et al.*, 1954). Esta bisbiguanida dicatiônica insolúvel em água é formulada com ácido acético ou glucônico para formar sais de diacetato ou de digluconato que são solúveis em água. As soluções de clorexidina, incoloras, inodoras e de sabor amargo, começaram a ser usadas em diversas áreas médicas para desinfecção de campos operatórios (Lim & Kam, 2008).

Na Odontologia, o interesse na clorexidina foi gerado depois do trabalho realizado por Löe & Schiøtt (1970), demonstrando que na ausência de limpeza mecânica dos dentes, a formação de placa dental e o desenvolvimento de gengivite podiam ser prevenidos com um enxágüe de gluconato de clorexidina a 0,2% duas vezes ao dia ou pela aplicação tópica de gluconato de clorexidina a 2% nas superfícies de todos os dentes uma vez por dia. Por muito tempo a clorexidina tem sido estudada também como agente desinfetante de canais e preparos cavitários. Enquanto algumas pesquisas mostravam incompatibilidade entre a clorexidina e adesão de materiais a substratos dentários (Meiers & Kresin, 1996; Meiers & Shook, 1996; Tulunoglu *et al.*, 1998), outros trabalhos demonstraram que a aplicação de clorexidina não afeta a resistência de união imediata (Perdigão *et al.*, 1994; Santos *et al.*, 2006). Esta discrepância de resultados pode ser explicada pelas limitações dos testes aplicados para avaliar a eficácia da união (Van Noort *et al.*, 1991).

As MMPs são enzimas endógenas com capacidade de hidrolisar alguns componentes da matriz extracelular, desempenhando assim papeis fundamentais em processos biológicos e patológicos (Visse & Nagase, 2003). Em 1999, Gendron *et al.* descobriram a capacidade da clorexidina de inibir a ação enzimática das MMP-2 (gelatinase A), MMP-9 (gelatinase B) e MMP-8 (colagenase 2). Este estudo sugeriu que a inibição direta das atividades das MMPs pela clorexidina poderia representar um novo efeito valioso deste agente antimicrobiano. Uma possível explicação seria a propriedade da clorexidina de atuar como agente quelante, o que poderia produzir uma interação negativa com o

mecanismo de ativação das MMPs pelos íons cálcio e zinco (Gendron *et al.,* 1999).

Na época ainda não estava esclarecido o papel das MMPs na degradação da camada híbrida, foi assim que Pashley *et al.* (2004) realizaram um trabalho para determinar se a matriz da dentina desmineralizada poderia ser degradada ao longo do tempo por enzimas proteolíticas derivadas da mesma dentina na ausência de colonização bacteriana. Usando dentina humana para preparar matrizes colágenas desmineralizadas (MCDs), armazenaram os espécimes em saliva artificial com e sem inibidores de enzimas proteolíticas. As amostras foram retiradas após 24 horas, 90 e 250 dias e observaram que as MCDs foram quase completamente destruídas nos espécimes que foram incubados sem inibidores de enzimas. Também foi medida a atividade colagenolítica das enzimas misturando pó de dentina humana com inibidores de enzimas proteolíticas ou clorexidina a 0,2%, relatando que esta última apresentava a propriedade de inibir aproximadamente 100% da atividade colagenolítica. A hipótese levantada foi que a degradação de colágeno acontece ao longo do tempo pelas MMPs derivadas do hospedeiro liberadas lentamente na dentina, e a clorexidina poderia atuar como inibidor das MMPs. A presença de MMPs na dentina foi demonstrada através de ensaios de zimografia (Mazzoni *et al*., 2007; Sulkala *et al*., 2007), e foi comprovado que a aplicação de monômeros resinosos sobre o tecido dentinário pode ativar as MMPs e contribuir com uma maior degradação de fibrilas colágenas expostas (Mazzoni *et al*., 2006; Nishitani *et al*., 2006).

Com o intuito de evitar a degradação enzimática das fibrilas colágenas desprotegidas logo abaixo da camada híbrida, a clorexidina foi incorporada no procedimento adesivo da técnica convencional. Hebling *et al.* (2005) analisaram a micromorfologia da região adesiva quando era usada clorexidina prévio à aplicação de um adesivo da estratégia convencional. Este estudo *in vivo* foi realizado em restaurações Classe I de dentes decíduos cariados contralaterais, os

quais depois de seis meses de função intraoral foram extraídos e processados para análise em Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET). As camadas híbridas dos dentes tratados com clorexidina exibiram integridade estrutural normal da rede colágena. Contrariamente, foram vistas camadas híbridas anormais nos dentes controle, com desintegração progressiva da rede fibrilar. A autodestruição das matrizes colágenas ocorreu rapidamente *in vivo* na dentina infiltrada por resina e foi concluído que pode ser detida com o uso de clorexidina como inibidor das MMPs.

Em outro estudo semelhante realizado por Brackett WW *et al.* (2007), obtiveram resultados similares demonstrando que a clorexidina consegue conservar a integridade da camada híbrida ao longo do tempo. Neste estudo *in vivo* foi analisada a degradação das camadas híbridas em restaurações profundas em pré-molares livres de cárie depois de dois e seis meses. Não foi observada degradação em nenhum dos grupos depois de dois meses, no entanto, houve uma leve degradação no grupo controle depois de seis meses, que não foi observada no grupo experimental. É importante ressaltar que neste estudo apenas foi achada uma leve degradação no grupo controle após seis meses, comparada com a grande desintegração de fibrilas colágenas achadas no estudo anterior (Hebling *et al.*, 2005). Isto está possivelmente relacionado à natureza das amostras. Brackett WW *et al.* usaram dentes permanentes livres de cárie, enquanto Hebling *et al.*, dentes decíduos cariados.

A perda da integridade da camada híbrida ao longo do tempo pode diminuir a resistência de união resina-dentina, e a clorexidina pode inibir este processo (Carrilho *et al.*, 2007a). Em um estudo *in vivo*, Carrilho *et al.* (2007b) realizaram restaurações Classe I de resina em dentes terceiros molares sem cárie e foram conservados sob função intraoral durante 14 meses. A resistência de união permaneceu estável nas amostras tratadas com clorexidina, enquanto diminuiu em 35% nos dentes controle. A dentina infiltrada por resina nos espécimes tratados com clorexidina exibiu integridade estrutural normal da rede

colágena. Contrariamente, foi identificada desintegração progressiva da rede fibrilar nas amostras controle.

Também foi estudado o momento em que deve ser aplicada a clorexidina dentro do protocolo adesivo para manter as propriedades de conservação da camada híbrida e preservação da resistência de união. Ensaios *in vitro* mostraram que a resistência de união imediata não é afetada quando o sistema adesivo convencional é usado com clorexidina antes ou depois do condicionamento ácido (De Castro *et al.*, 2003; Campos *et al.*, 2009b). Soares *et al.* (2008) usaram clorexidina antes, durante (ácido fosfórico contendo clorexidina) ou depois do condicionamento na cimentação de restaurações indiretas de resina composta com Rely X ARC, e não acharam diferença significante na resistência de união imediata. Stanislawczuc *et al.* (2009) estudaram a durabilidade da união avaliando o efeito da clorexidina em diferentes passos operatórios (quando aplicada associada ao ácido fosfórico [Ac-CHX] ou em solução aquosa depois do condicionamento [CHX]) na resistência de união imediata e após seis meses, e no padrão de nanoinfiltração. Depois de seis meses de armazenamento em água, foram observadas reduções significantes na resistência de união nos adesivos do grupo controle. Quando Ac-CHX ou CHX foi usado, não foram observadas reduções significativas na resistência de união para ambos os adesivos. A nanoinfiltração foi mais evidente no grupo controle do que nos grupos experimentais depois de seis meses. O uso de clorexidina em solução aquosa depois do condicionamento ou associada ao ácido condicionante foi efetivo para reduzir a degradação das uniões resina-dentina após seis meses de armazenamento em água.

Em termos gerais pode ser concluído que a clorexidina pode ser usada antes ou depois do condicionamento, ou associada ao ácido condicionante sem produzir efeitos prejudiciais e preservando a resistência de união. Contudo, a maioria de estudos *in vitro* preconiza a aplicação de clorexidina depois do condicionamento ácido, reumedecendo a dentina condicionada antes da aplicação

dos adesivos (Carrilho *et al.*, 2007b; Breschi *et al.*, 2009, 2010; Komori *et al.*, 2009; Hiraishi *et al.*, 2009; Loguercio *et al.*, 2009). Esta técnica, também conhecida como clorexidina aplicada como *primer* terapêutico, possivelmente é a mais usada devido a sua simplicidade e aos ótimos resultados demonstrados nos estudos *in vivo* (Hebling *et al.*, 2005; Brackett WW *et al.*, 2007; Carrilho *et al.*, 2007b; Brackett MG *et al.*, 2009; Ricci *et al.*, 2010).

A concentração ideal de clorexidina também foi estudada por vários pesquisadores. Soares *et al.* (2008) usaram duas concentrações de clorexidina (0,12% e 2%) na cimentação de restaurações indiretas de resina composta com Rely X ARC, e não acharam diferença significativa na resistência de união imediata quando comparada com o grupo sem clorexidina. Breschi *et al.* (2009) pesquisaram o efeito da clorexidina a 0,2% e 2% usado como *primer* terapêutico nas resistências de união a longo prazo dos adesivos Adper Scotchbond 1XT (3M ESPE) e XP-Bond (Dentsply) reduzindo significativamente a perda de resistência de união. Estes resultados foram também confirmados por Campos *et al.* (2009) que investigaram os efeitos da clorexidina a 0,2% e 2% na durabilidade da união submetida a armazenamento de seis meses sob pressão pulpar simulada e estresse termomecânico, concluindo que concentrações de 0.2% e 2% preservam a resistência de união quando é usado um adesivo da técnica convencional. No entanto, apenas a clorexidina a 2% conseguiu manter a resistência de união em seis meses de armazenamento quando um adesivo autocondicionante foi usado (Campos *et al.* 2009). Com a finalidade de estabelecer os limites mínimos e máximos de concentração de clorexidina que pode ser usada como *primer* terapêutico para a preservação da resistência de união, Loguercio *et al.* (2009) fizeram um trabalho avaliando os efeitos de diferentes concentrações de digluconato de clorexidina e diferentes tempos de aplicação na preservação das uniões resina-dentina. Eles concluíram que o uso de clorexidina a 0,002% durante 15 segundos parece ser suficiente para preservar as uniões resina-dentina durante um período de 6 meses *in vitro*. Por outro lado, a clorexidina a 4% não

conseguiu preservar a resistência de união imediata nem depois de 6 meses de armazenamento em água. As concentrações baixas de clorexidina com capacidade inibitória das MMPs não difierem os resultados de Gendron *et al.* (1999), que acharam inibição completa das MMP-2, MMP-9 e MMP-8 com uma concentração mínima de clorexidina de 0.0001%, 0.002% e 0.01% respectivamente. Ainda faltam trabalhos para demonstrar se essa inibição proteolítica com concentrações mínimas pode ser duradoura com o tempo. É importante lembrar que o protocolo clínico continua sendo o uso de clorexidina a 2%, baseados no sucesso dos trabalhos realizados *in vivo* (Hebling *et al.,* 2005; Brackett WW *et al*., 2007; Carrilho *et al*., 2007b; Brackett MG *et al*., 2009).

Existem poucos trabalhos relacionando o efeito da interação entre clorexidina e adesivos autocondicionantes na preservação da camada híbrida (Campos *et al*., 2009, Zhou *et al*., 2009; De Munck *et al*., 2009, 2010). As discrepâncias entre os resultados indicam que a durabilidade da união é dependente da concentração de clorexidina usada e da composição do adesivo. Apesar de que existem discrepâncias e diferenças metodológicas entre estes trabalhos, um achado interessante é que baixas concentrações de clorexidina (0,05% quando é incorporado ao adesivo, e 0,2% quando é aplicado como *primer* terapêutico) não conseguem preservar a resistência de união dos adesivos autocondicionantes na dentina (Campos *et al*., 2009, Zhou *et al*., 2009; De Munck *et al*., 2009, 2010),

3. PROPOSIÇÃO

A proposta deste estudo foi investigar o efeito da substituição do Líquido A do adesivo Adper SE Plus por uma solução aquosa de clorexidina a 2% no procedimento técnico de união à dentina humana, por meio da:

1- Avaliação da resistência da união após 1 dia, 3 meses e 6 meses de armazenamento em água;

2- Análise do tipo de fratura.

4. MATERIAIS E MÉTODO

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, conforme Protocolo N° 144/2009 aprovado em 04/11/2009 (Anexo 1).

4.1 COLETA E ARMAZENAMENTO DOS DENTES

Foram obtidos oito terceiros molares humanos recém extraídos e livres de cárie para a realização do teste de resistência de união à microtração. Cada dente foi lavado abundantemente com água destilada e com auxílio de curetas Duflex (SS White, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil) foram removidos cuidadosamente os tecidos periodontais remanescentes. Depois de limpos, os dentes foram armazenados em água destilada a 4°C por um período máximo de um mês.

4.2 MATERIAL

Neste estudo foi usado o sistema adesivo autocondicionante Adper SE Plus cuja composição indicada na ficha de informações do produto (3M do Brasil), número de lote e nome do fabricante estão descritos no Quadro 1. Este sistema adesivo é composto por dois frascos denominados Líquido A e Líquido B (Figura 1). O Líquido A é uma solução fluida cor de rosa formada basicamente por água e baixas concentrações de HEMA (Figura 2a). O Líquido B é uma solução amarelada viscosa livre de solvente composta predominantemente por monômeros hidrófobos (Figura 2b), a qual em contato com o Líquido A sofre ionização. O início dessa ionização pode ser evidenciado através da mudança da cor rosa do Líquido A que se torna amarelada ao contato com o Líquido B.

COMPOSIÇÃO		LOTE	FABRICANTE
Líquido A: (% em peso)		8BE	3M ESPE Dental Products, Saint Paul, Minnesota, USA
Água	70 – 80%		
HEMA	10 – 20%		
Líquido B: (% em peso)		8BB	
Zircônia superficialmente tratada	15 – 25%		
Dimetacrilato de trietilenoglicol (TEGDMA)	15 – 25%		
Di-HEMA fosfatos	10 – 15%		
Mono HEMA fosfato	5 – 10%		
Pirofosfatos metacrilados	5 – 10%		
Tri HEMA fosfato	<3%		
Ácido fosfórico 6-metacriloxi-hexilesteres	5 – 10%		
Dimetacrilato 1,6-hexanodiol	<4%		
Dimetacrilato diuretano	1 – 10%		
Trimetacrilato trimetilolpropano (TMPTMA)	5 – 15%		
Aminobenzoato etil 4-dimetil	<2%		
DL-canforoquinona	<2%		

Quadro 1 - Composição, lote e fabricante do sistema adesivo Adper SE Plus.

Figura 1 - Sistema adesivo autocondicionante Adper SE Plus. (a) Líquido A; (b) Líquido B.

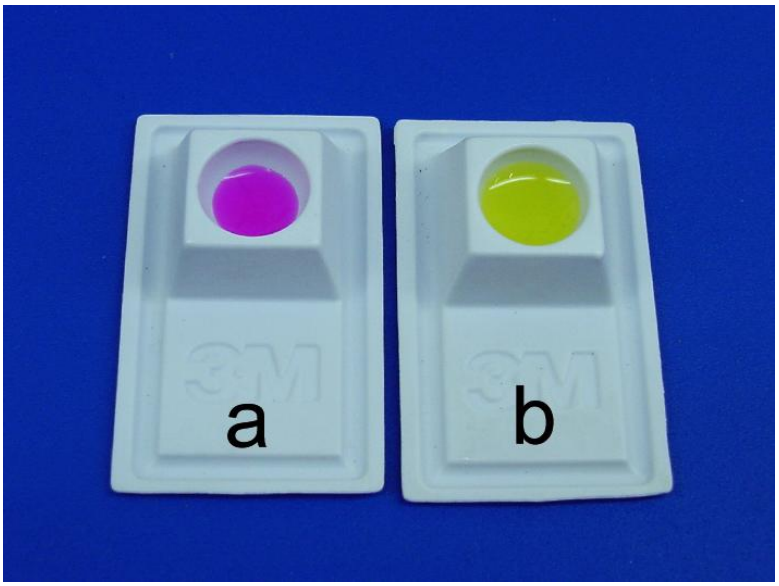

Figura 2 - Aparência do Adper SE Plus. (a) Líquido A; (b) Líquido B.

4.3 PROCEDIMENTOS ADESIVOS

O esmalte oclusal e a raiz dos dentes foram removidos com um disco impregnado com diamante (Buehler Ltd., Lake Bluff, Illinois, USA) em baixa velocidade acoplado a uma cortadeira de precisão Isomet 1000 (Buehler Ltd., Lake Bluff, Illinois, USA) sob refrigeração com água, formando um bloco de dentina de superfícies paralelas de aproximadamente 4mm de espessura (Figura 3). A câmara pulpar remanescente foi limpa com uma cureta para dentina e foi preenchida com resina composta Filtek Z250 (3M ESPE Dental Products, Saint Paul, Minnesota, USA) usando o adesivo convencional Adper Single Bond 2 (3M ESPE Dental Products, Saint Paul, Minnesota, USA). Cada bloco de dentina foi cortado longitudinalmente em duas metades resultando em oito hemiblocos para cada um dos Grupos Controle (C) e Experimental (CHX) (Figura 4). A distância mínima considerada entre a superfície dentinária plana e o corno pulpar foi de 1mm, o que representou a dentina média.

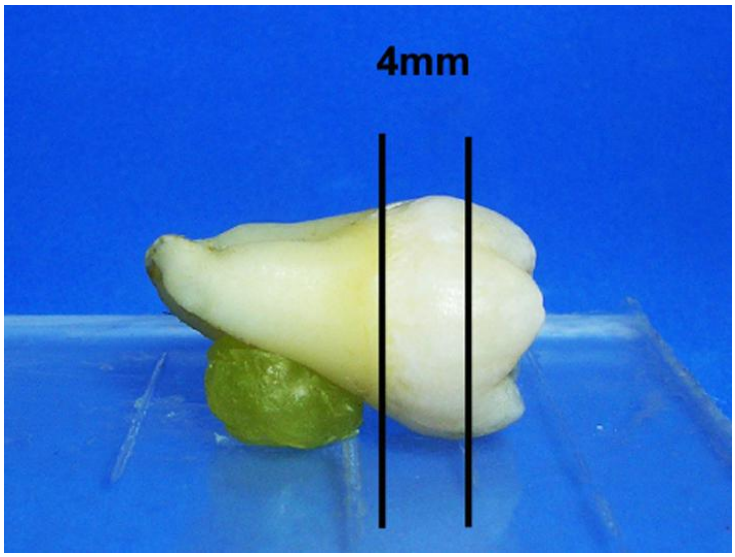

Figura 3 - Região dos cortes paralelos para remoção do esmalte oclusal e a raiz.

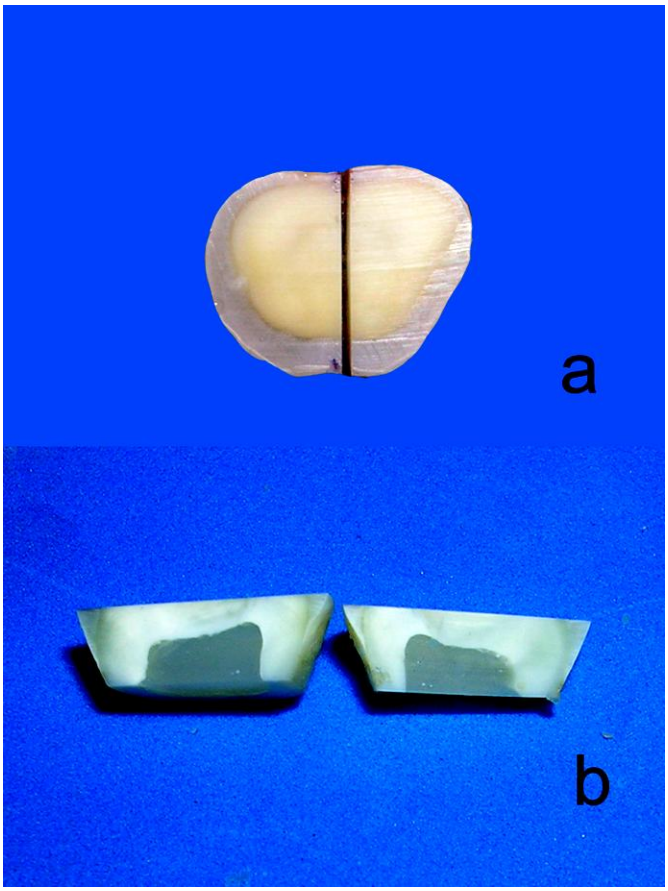

Figura 4 - Bloco de dentina cortado longitudinalmente (a) Vista superior; (b) Vista lateral.

Momentos antes de realizar o procedimento adesivo, a superfície plana de dentina média foi desgastada manualmente com uma lixa de carbeto de silício de granulação 600 (Norton Abrasivos, Guarulhos, São Paulo, Brasil) durante 30 segundos sob irrigação com água. Depois de lavada com *spray* de água e ar durante 5 segundos, a dentina foi seca com jatos de ar comprimido durante 5 segundos usando uma seringa tripla a uma distância aproximada de 5cm.

Para o Grupo Controle (8 hemiblocos), o procedimento adesivo foi realizado seguindo as instruções do fabricante. Os Líquidos A e B do adesivo

Adper SE Plus foram dispensados em casulos e imediatamente um *microbrush* de tamanho regular (KG Sorensen, Cotia, São Paulo, Brasil) foi saturado com o Líquido A e aplicado sobre a superfície dentinária. Imediatamente outro *microbrush* de tamanho regular foi saturado com Líquido B e foi aplicado ativamente através de movimentos de agitação com moderada pressão mecânica sobre a superfície dentinária durante 20 segundos. Em seguida foi aplicado um jato leve de ar comprimido durante 10 segundos a uma distância aproximada de 5cm tentando deixar a superfície dentinária brilhante sem excesso de soluções. Depois disso, foi aplicada uma segunda camada de Líquido B com outro *microbrush* saturado. Logo após foi usado um leve jato de ar comprimido a uma distância aproximada de 20cm para homogeneizar a espessura da solução sobre a superfície dentinária. O adesivo foi imediatamente fotoativado durante 10 segundos usando a unidade de luz visível Elipar Freelight 2 (3M ESPE Dental Products, Saint Paul, Minnesota, USA) na intensidade de 900 mW/cm^2 com a ponta ativadora posicionada aproximadamente a 5mm de distância da superfície dentinária.

Para o Grupo Experimental (8 hemiblocos), uma solução de digluconato de clorexidina a 2% em peso (Proderma, Piracicaba, São Paulo, Brasil) e o Líquido B do adesivo Adper SE Plus foram dispensados em casulos. Imediatamente um *microbrush* de tamanho regular foi saturado da solução de clorexidina e foi aplicado sobre a superfície dentinária. Prontamente outro *microbrush* de tamanho regular foi saturado com Líquido B e foi aplicado ativa e vigorosamente através de movimentos de agitação com moderada pressão mecânica sobre a superfície dentinária durante 20 segundos. Em seguida foi aplicado um jato leve de ar comprimido durante 10 segundos a uma distância aproximada de 5cm tentando deixar a superfície dentinária brilhante sem excesso de soluções. Depois disso, foi aplicada uma segunda camada do Líquido B com outro *microbrush* saturado. Logo após foi usado um jato leve de ar comprimido a uma distância aproximada de 20cm para conseguir a homogeneização da

espessura da solução sobre a superfície dentinária, sendo imediatamente fotoativada durante 10 segundos usando a unidade Elipar Freelight 2 com intensidade de 900 mW/cm^2 com a ponta ativadora posicionada aproximadamente a 5mm de distância da superfície dentinária.

Blocos de resina composta Filtek Z250 na cor A3 foram construídos sobre a superfície dentinária em seis incrementos de 1mm, e cada incremento foi fotoativado durante 20 segundos (Figura 5). A unidade de polimerização usada foi Elipar Freelight 2 com intensidade de 900 mW/cm^2, usada aproximadamente a 5mm de distância. Todos os procedimentos foram realizados em uma sala com temperatura de 22±2°C na ausência de outras fontes de luz artificial.

Logo após serem realizados os procedimentos adesivos, os hemiblocos restaurados foram armazenados em água destilada a 37°C durante 24 horas.

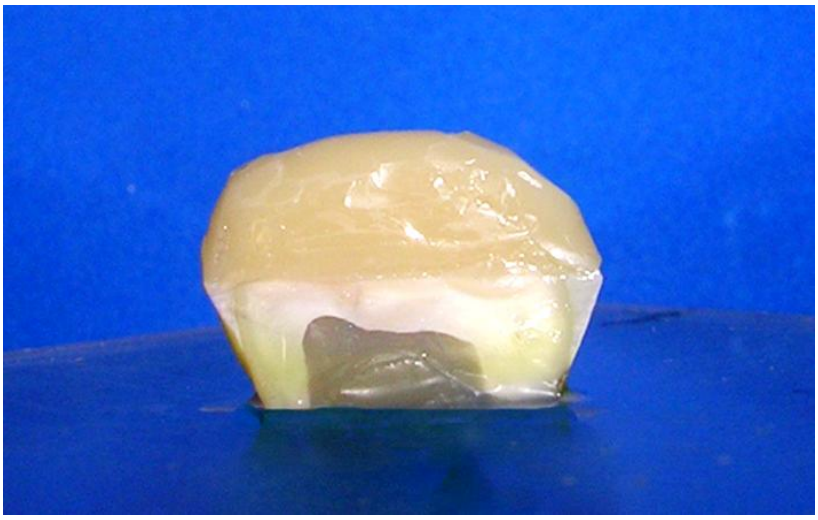

Figura 5 - Bloco de resina composta construído sobre a superfície dentinária.

4.4 TESTE DE MICROTRAÇÃO

Os hemiblocos restaurados foram longitudinalmente seccionados de forma perpendicular à região adesiva nos sentidos mesiodistal e bucolingual usando um disco impregnado com diamante em baixa velocidade acoplado a uma cortadeira de precisão sob refrigeração com água, e foram confeccionados corpos de prova na forma de palitos de 0,9mm^2 (±0,2mm^2) (Figura 6). De cada hemibloco foram obtidos de 8 a 10 palitos, os quais foram divididos aleatoriamente em três grupos de 2 a 4 palitos cada, e avaliados após 1 dia, 3 meses e 6 meses de armazenamento em água destilada a 37°C. Durante o período de armazenamento a água não foi trocada.

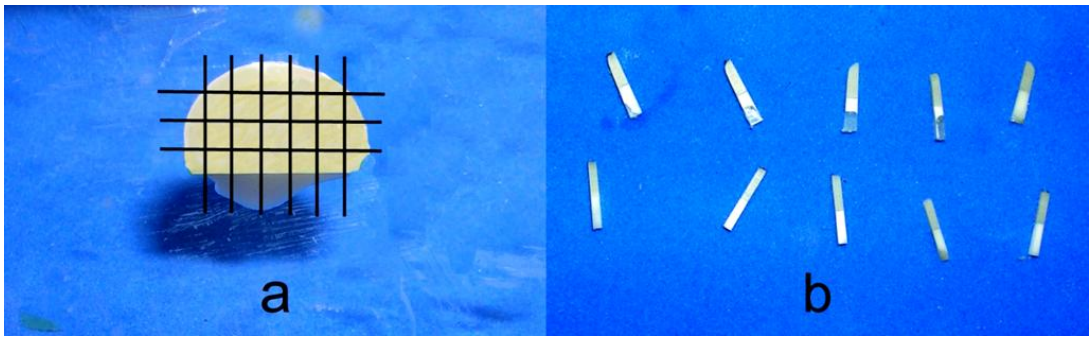

Figura 6 - (a) Esquema dos cortes longitudinais; (b) Palitos confeccionados.

Prévio ao teste de microtração foi realizada a mensuração da área da secção transversal dos espécimes (A) com um paquímetro digital eletrônico (Starret 727 – Starret Indústria e Comércio Ltda., Itu, São Paulo, Brasil). Para o teste de microtração cada palito foi fixado com cola de cianoacrilato Super Bonder Gel (Henkel Ltda., Diadema, São Paulo, Brasil) em um aparato de teste Bencor Multi-T modificado, e foi submetido à tração sob velocidade de 0,5 mm/min em

uma máquina de ensaios universais Instron 4411 (Corona, California, USA) usando uma célula de carga de 500 N (Static Load Cell - Instron) (Figura 7).

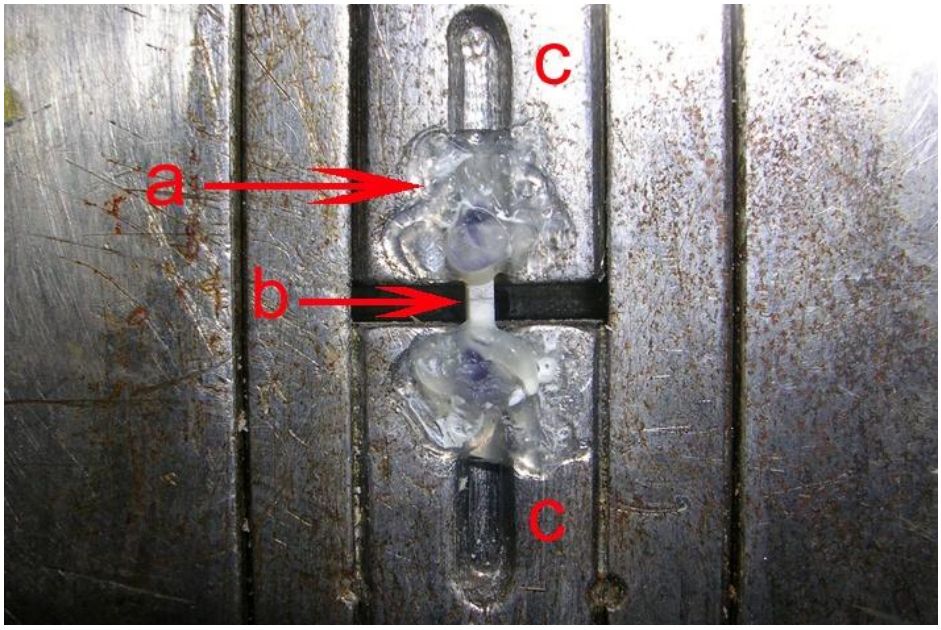

Figura 7 - Espécime em forma de palito fixado ao dispositivo Bencor Multi-T modificado. (a) Cola de cianoacrilato; (b) Espécime em forma de palito; (c) *Grips* do dispositivo de microtração.

Os valores de resistência de união foram obtidos em quilograma-força (F). A conversão dos valores em Mega Pascal (MPa) foi realizada submetendo os valores à seguinte fórmula:

$$\frac{\text{Valor de resistência de união em quilograma-força (F)}}{\text{Área do espécime em cm}^2\text{ (A)}} = \text{kgf/cm}^2$$

Cálculo de (A):

$$A = \frac{\text{Área do espécime em mm}^2}{100}$$

$\text{kgf/cm}^2 \times 0{,}098 = \text{MPa}$

4.5 ANÁLISE DO PADRÃO DE FRATURA

Todos os espécimes fraturados foram montados em suportes de alumínio (*stubs)* por meio de fita dupla face de carbono (Electron Microscopy Sciences, Washington 19034, USA) e desidratados durante 24 horas em recipiente contendo sílica gel. Seguidamente foram revestidos com liga de ouro/paládio, mediante o processo de metalização, realizado com o equipamento evaporador (Balzers SCD 050 Sputter Coater, Balzers Union, Aktiengesellschaft, Fürstentum Liechtenstein, Germany), programado com uma corrente de 45mA por 100 segundos. Assim constituídos, os espécimes foram observados em Microscopio Eletrônico de Varredura (Jeol 5600, Jeol USA, Inc., Peabody, Massachusetts, USA) a uma aceleração de voltagem de 15kV, distância de trabalho (*work distance*) de 20mm, e abertura das lentes objetivas (*spotsize*) de 30nm. Os modos de fratura foram classificados em:

- Tipo I: Fratura coesiva na resina composta.
- Tipo II: Fratura coesiva no adesivo.
- Tipo III: Fratura mista coesiva no adesivo e na resina composta.
- Tipo IV: Fratura mista coesiva na camada híbrida e no adesivo.
- Tipo V: Fratura coesiva na camada híbrida.
- Falha prematura

5. RESULTADOS

5.1 TESTE DE MICROTRAÇÃO

Os valores médios e desvio padrão da resistência de união à microtração do Grupo Controle foram 46,43±11,46 MPa, 50,02±13,84 MPa e 45,18±17,92 MPa (1 dia, 3 meses e 6 meses, respectivamente). No Grupo Experimental, os valores foram 37,22±10,45 MPa, 47,29±12,67 MPa e 40,22±10,01 MPa (1 dia, 3 meses e 6 meses, respectivamente). Para um melhor entendimento estes valores estão representados na Figura 8. Na determinação das diferenças estatísticas foi aplicada a Análise de Variância (ANOVA) de dois fatores para medidas repetidas ao nível de significância de 5%. Considerando que em um dente foram analisados todos os níveis de ambos os fatores, as medidas repetidas foram o fator *Tratamento* e o fator *Tempo de armazenamento,* sendo o dente a unidade experimental (n=8). Assim, os valores das seis interações possíveis dos fatores *Tratamento* e *Tempo de armazenamento* de um dente foram obtidos com a média dos 3±1 palitos correspondentes a cada interação.

Depois de assumir a esfericidade do fator *Tempo* (p=0,358) e da interação *Tratamento* X *Tempo* (p=0,251) através do teste de Mauchly, foram desconsiderados os testes multivariados e apenas foram interpretados os testes de efeitos intra-sujeitos. A hipótese da esfericidade não pôde ser avaliada no fator *Tratamento* porque apenas tem dois níveis (Controle e Experimental).

A Análise de Variância de dois fatores para medidas repetidas mostrou que os efeitos dos fatores de primeira ordem *Tratamento* (p=0,18) e *Tempo de armazenamento* (p=0,29) não resultaram significantes. Também não foi significante o efeito da interação dupla *Tratamento* X *Tempo de armazenamento* (p=0,59), o que significa que o efeito do fator *Tratamento* na resistência de união não é dependente do fator *Tempo de armazenamento,* e vice-versa. Isto indica

que os grupos foram estatisticamente não diferentes entre si (Figura 8). Informações estatísticas complementares estão disponíveis no Anexo 2.

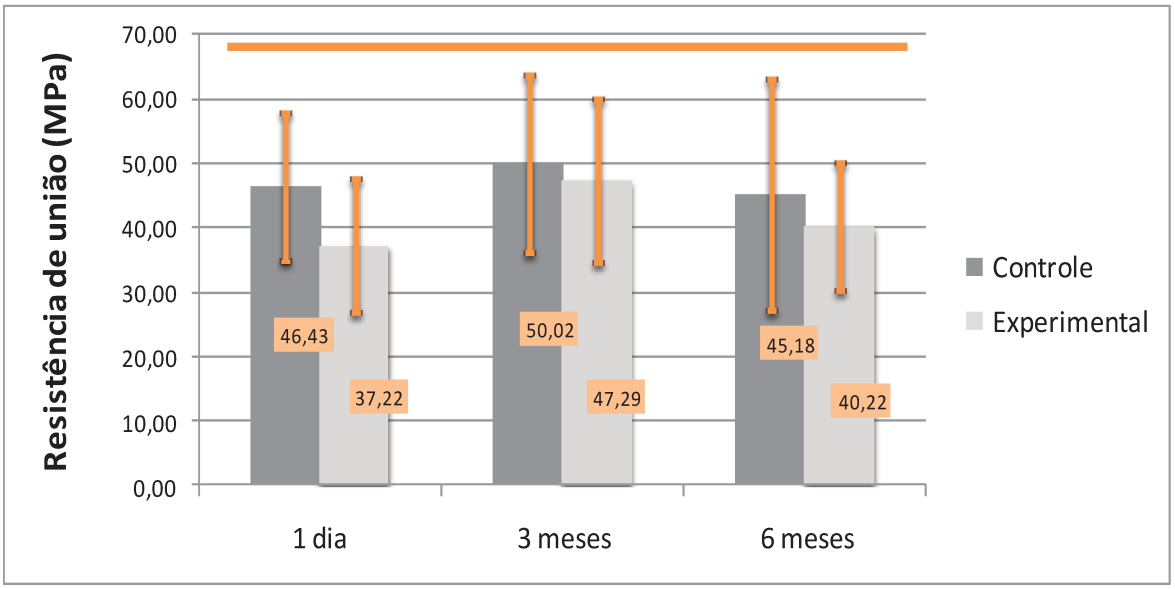

Figura 8 – Gráfico ilustrativo mostrando as médias de resistência de união (MPa) dos Grupos Controle e Experimental. A linha horizontal unindo as barras indica que não existe diferença estatística entre elas (α=0,05).

5.2 ANÁLISE DO PADRÃO DE FRATURA

Em ambos os grupos Controle e Experimental houve predomínio de fraturas coesivas do adesivo (Tipo II) e fraturas mistas coesivas do adesivo e da resina composta (Tipo III) em todos os tempos de armazenamento. As Figuras 9 e 10 mostram ilustrações gráficas da classificação e distribuição percentual dos padrões de fratura observados. Apenas houve um caso de falha prematura (Grupo Experimental - 3 meses), o qual para ser inserido na estatística recebeu o valor de 4 MPa. As Figuras 11 a 18 mostram padrões de fratura Tipo II e Tipo III dos Grupos Controle e Experimental nos tempos de armazenamento de 1 dia e 6 meses.

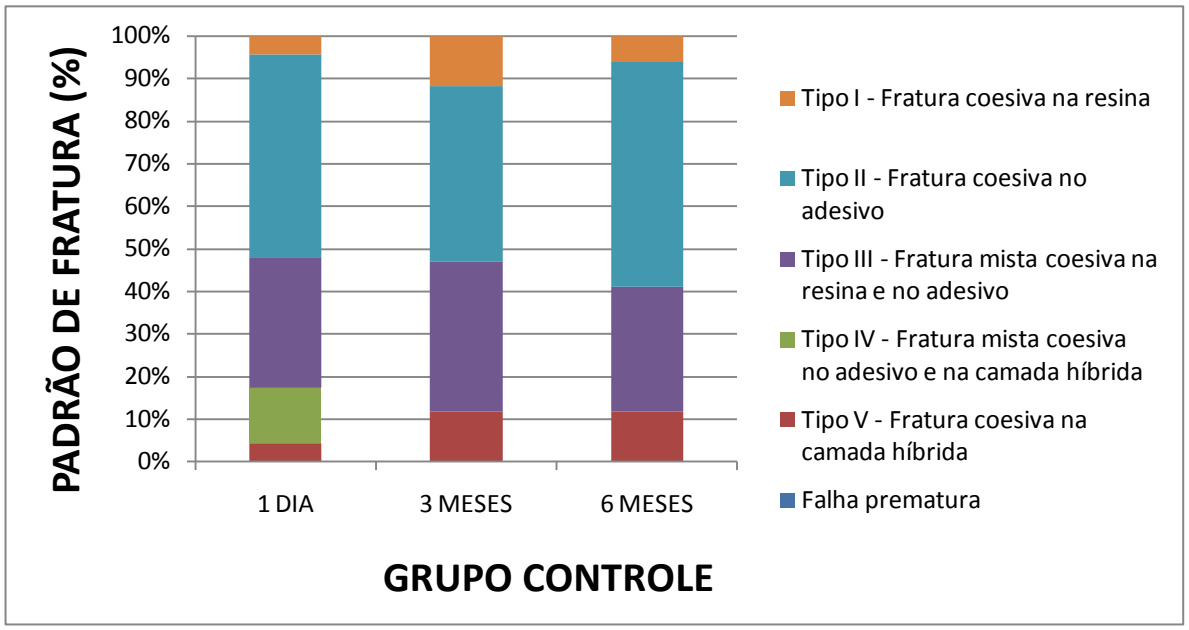

Figura 9 - Classificação e distribuição porcentual dos padrões de fratura do Grupo Controle.

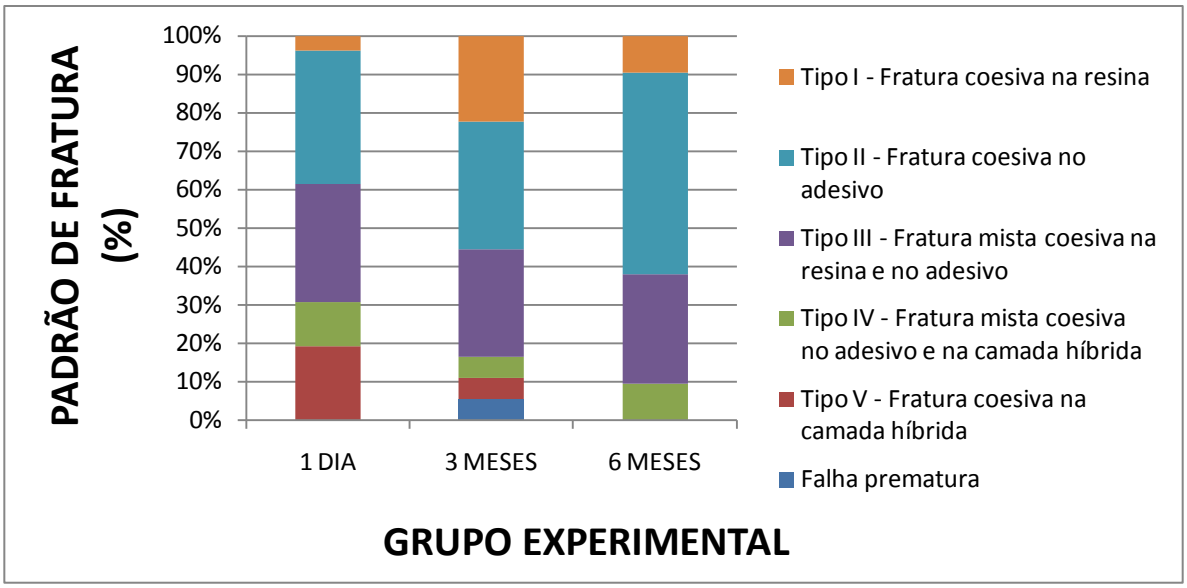

Figura 10 - Classificação e distribuição porcentual dos padrões de fratura do Grupo Experimental.

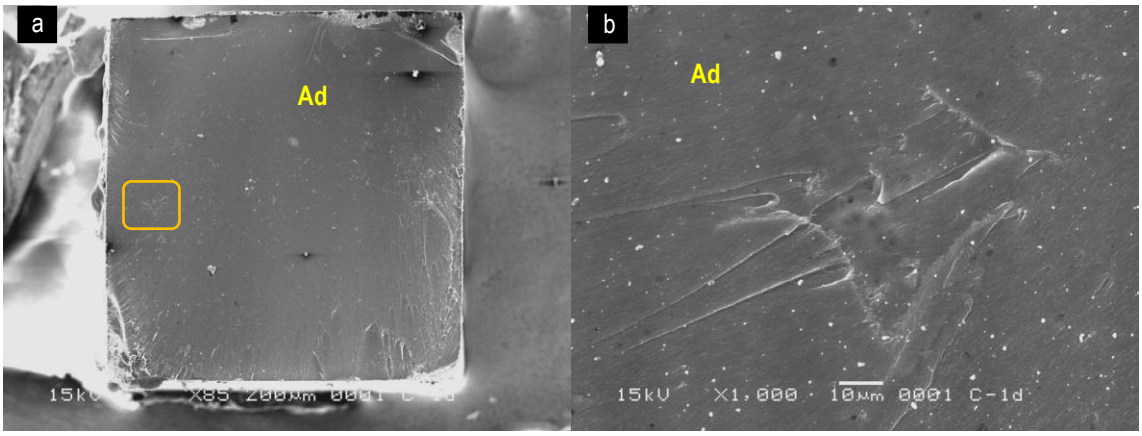

Figura 11 – Fotografia em MEV mostrando o padrão de fratura tipo II obtido após ensaio de microtração de um espécime do Grupo Controle após 1 dia de armazenamento em água. (a) Menor aumento (X85) mostrando um lado do espécime fraturado. (b) Maior aumento (X1000) mostrando a superfície do adesivo após fratura coesiva. Ad – fratura coesiva no adesivo.

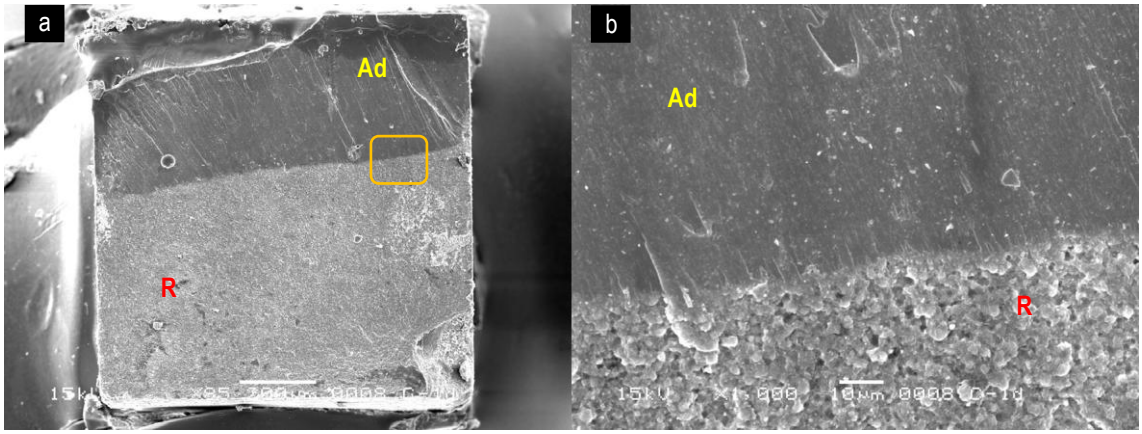

Figura 12 – Fotografia em MEV mostrando o padrão de fratura tipo III obtido após ensaio de microtração de um espécime do Grupo Controle após 1 dia de armazenamento em água. (a) Menor aumento (X85) mostrando um lado do espécime fraturado. (b) Maior aumento (X1000) mostrando a superfície do adesivo e da resina composta após fratura coesiva. Ad – fratura coesiva no adesivo. R – fratura coesiva na resina composta.

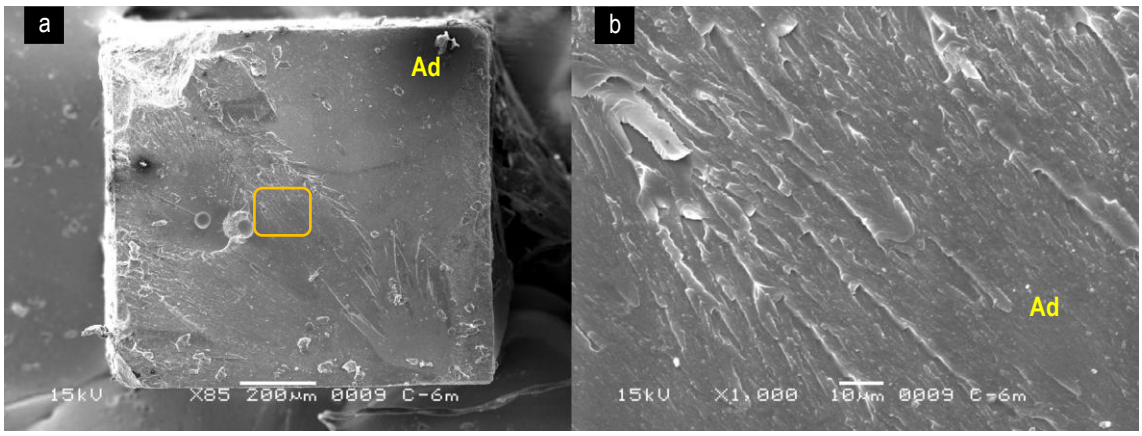

Figura 13 – Fotografia em MEV mostrando o padrão de fratura tipo II obtido após ensaio de microtração de um espécime do Grupo Controle após 6 meses de armazenamento em água. (a) Menor aumento (X85) mostrando um lado do espécime fraturado. (b) Maior aumento (X1000) mostrando a superfície do adesivo após fratura coesiva. Ad – fratura coesiva no adesivo.

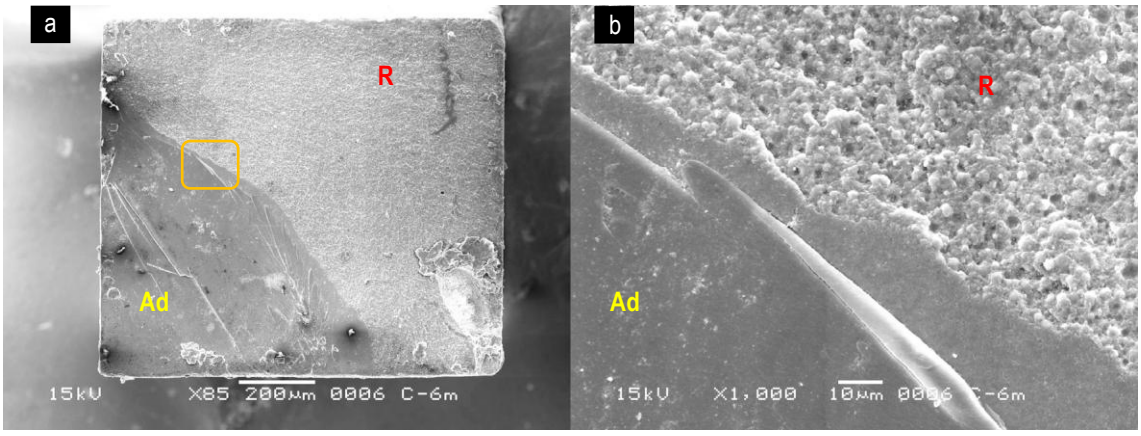

Figura 14 – Fotografia em MEV mostrando o padrão de fratura tipo III obtido após ensaio de microtração de um espécime do Grupo Controle após 6 meses de armazenamento em água. (a) Menor aumento (X85) mostrando um lado do espécime fraturado. (b) Maior aumento (X1000) mostrando a superfície do adesivo e da resina composta após fratura coesiva. Ad – fratura coesiva no adesivo. R – fratura coesiva na resina composta.

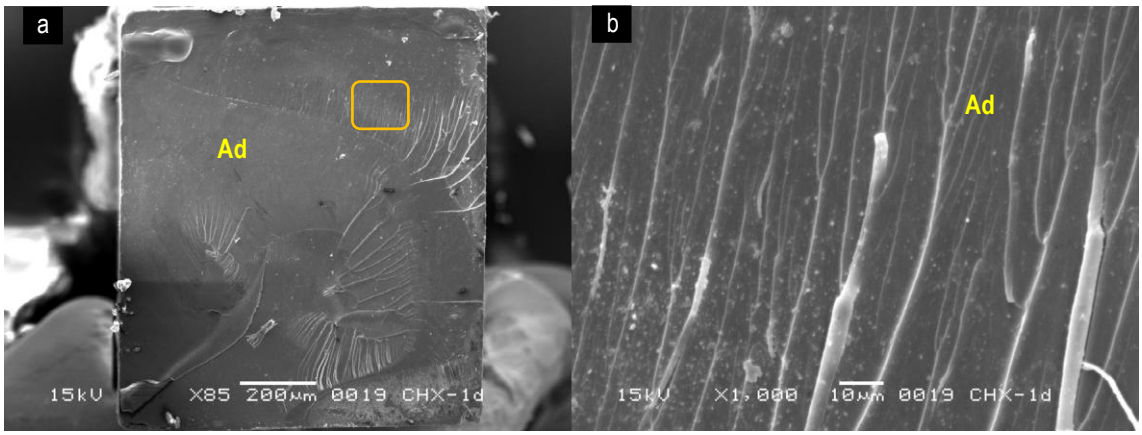

Figura 15 – Fotografia em MEV mostrando o padrão de fratura tipo II obtido após ensaio de microtração de um espécime do Grupo Experimental após 1 dia de armazenamento em água. (a) Menor aumento (X85) mostrando um lado do espécime fraturado. (b) Maior aumento (X1000) mostrando a superfície do adesivo após fratura coesiva. Ad – fratura coesiva no adesivo.

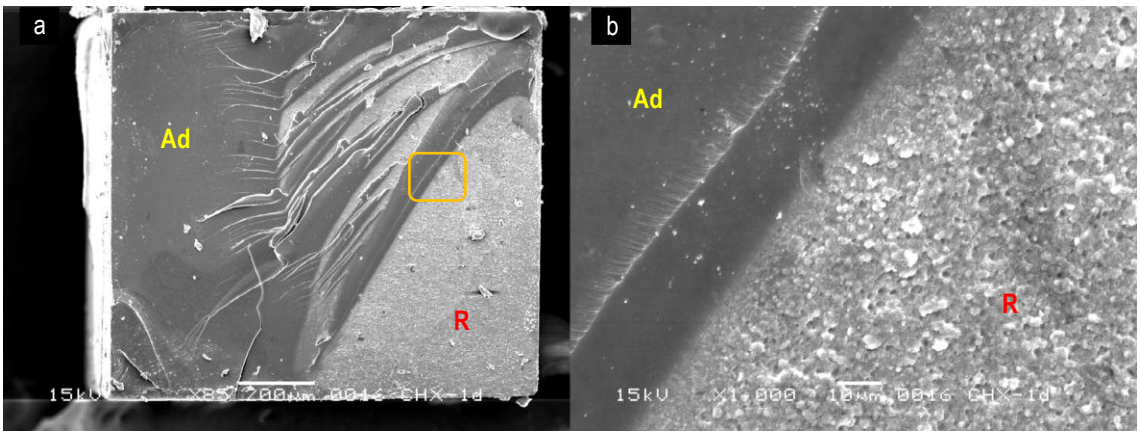

Figura 16 – Fotografia em MEV mostrando o padrão de fratura tipo III obtido após ensaio de microtração de um espécime do Grupo Experimental após 1 dia de armazenamento em água. (a) Menor aumento (X85) mostrando um lado do espécime fraturado. (b) Maior aumento (X1000) mostrando a superfície do adesivo e da resina composta após fratura coesiva. Ad – fratura coesiva no adesivo. R – fratura coesiva na resina composta.

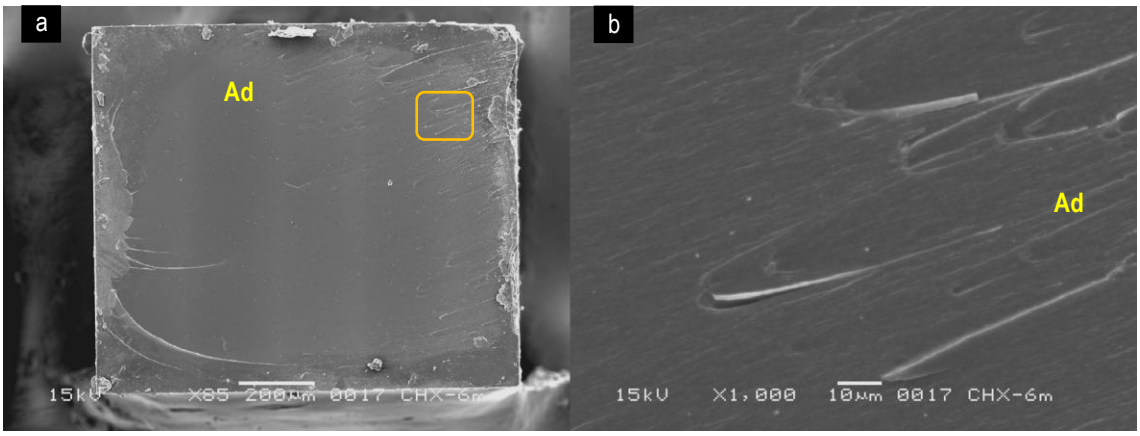

Figura 17 – Fotografia em MEV mostrando o padrão de fratura tipo II obtido após ensaio de microtração de um espécime do Grupo Experimental após 6 meses de armazenamento em água. (a) Menor aumento (X85) mostrando um lado do espécime fraturado. (b) Maior aumento (X1000) mostrando a superfície do adesivo após fratura coesiva. Ad – fratura coesiva no adesivo.

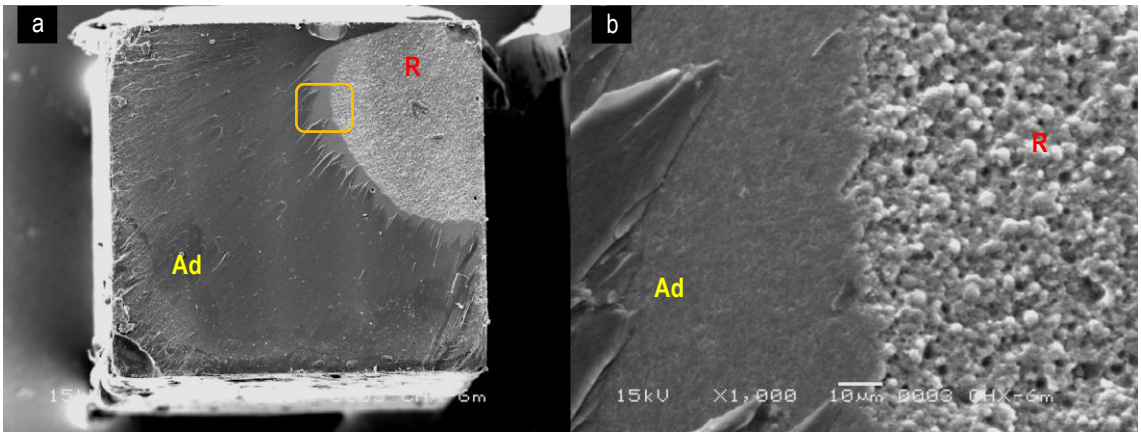

Figura 18 – Fotografia em MEV mostrando o padrão de fratura tipo III obtido após ensaio de microtração de um espécime do Grupo Experimental após 6 meses de armazenamento em água. (a) Menor aumento (X85) mostrando um lado do espécime fraturado. (b) Maior aumento (X1000) mostrando a superfície do adesivo e da resina composta após fratura coesiva. Ad – fratura coesiva no adesivo. R – fratura coesiva na resina composta.

6. DISCUSSÃO

A tendência à simplicidade nos procedimentos de união dos materiais restauradores à estrutura dentária está estimulando o desenvolvimento de sistemas adesivos com menor quantidade de passos clínicos, minimizando assim a dificuldade técnica e diminuindo o risco de cometer erros (Van Meerbeek *et al.*, 2003). No obstante, existem diversos estudos que reportam que os adesivos de menor número de passos clínicos, os autocondicionantes de passo único, na sua maioria apresentam baixos valores de resistência de união à dentina e reduzida durabilidade quando comparados com os outros tipos de estratégias adesivas (Van Landuyt *et al.*, 2009; Sarr *et al.*, 2010; Xie *et al.*, 2010). Existem adesivos autocondicionantes de passo único que possuem dois componentes, os quais são misturados fora da boca e logo levados ao preparo cavitário, como por exemplo, Adper Prompt L Pop (3M ESPE) e Xeno III (Dentsply) (Van Landuyt *et al.*, 2007). O Adper SE Plus é considerado também nesta categoria de adesivos autocondicionantes de passo único, pois a mistura de ambos os componentes (Líquidos A e B), ao invés de ser realizada fora da boca, é efetuada dentro do preparo cavitário.

No presente trabalho o adesivo Adper SE Plus apresentou valor de resistência de união à dentina de 46,43±11,46 MPa, após 1 dia de armazenamento em água. Além disso, os valores não foram estatisticamente diferentes entre si depois de 3 e 6 meses de armazenamento em água (50,02±13,84 MPa e 45,18±17,92 MPa, respectivamente). Pode ser especulado que contrário à maioria de adesivos autocondicionantes de passo único do mercado (Van Landuyt et al., 2009; Sarr et al., 2010; Xie *et al.*, 2010), alguns fatores contribuíram com os valores de resistência de união à dentina e estabilidade durante 6 meses de armazenamento apresentados pelo Adper SE Plus. Possivelmente esses fatores estejam fundamentados na aplicação e principalmente na composição do material.

As indicações do fabricante não especificam a quantidade necessária de Líquido A que deve ser aplicada na superfície dentária. Esta informação é importante porque a presença de água é necessária para conseguir a ionização dos monômeros funcionais presentes no Líquido B permitindo a formação de íons hidrônio (H_3O^+) capazes de desmineralizar a hidroxiapatita (Salz *et al.*, 2005). No entanto, o excesso de água poderia produzir efeitos prejudiciais no polímero tornando-o mais suscetível à degradação e diminuindo suas propriedades mecânicas (Yiu *et al.*, 2005; Loguercio *et al.*, 2009a; Hosaka *et al.*, 2010). Com o intuito de reproduzir esta última situação para testar a dificuldade técnica do material, o Líquido A foi aplicado com um *microbrush* saturado gerando uma superfície completamente úmida. Após a aplicação do Líquido A, a superfície não foi seca, e o procedimento foi imediatamente continuado com a aplicação do Líquido B, respeitando assim o protocolo de aplicação do fabricante.

Diversos estudos com adesivos convencionais e autocondicionantes têm concluído que a aplicação chamada de ativa através de movimentos de agitação e pressão moderada pode aumentar a cinética da solução e permitir melhor difusão dos monômeros ao interior da dentina (Dal-Bianco *et al.*, 2006; Reis *et al.*, 2007; do Amaral *et al.*, 2009; do Amaral *et al.*, 2010). É bom ressaltar que o Líquido A está composto basicamente por água, uma pequena concentração de HEMA e corante rosa que serve como indicador de que a superfície tem sido coberta completamente pela solução. Apesar de que o simples contato do Líquido B com o Líquido A consegue instantaneamente tornar a solução amarelada indicando a ativação e início do condicionamento, o fabricante recomenda a agitação da superfície por 20 segundos para garantir o condicionamento ácido adequado. Assim, a aplicação ativa do Líquido B sobre o Líquido A pode ter contribuído com um eficiente condicionamento facilitando a simultânea infiltração dos monômeros no interior da dentina, assim como a remoção do excesso de água residual para fora da dentina (Dal-Bianco *et al.*, 2006; Reis *et al.*, 2007; do Amaral *et al.*, 2009; do Amaral *et al.*, 2010).

Um passo importante indicado pelo fabricante é a aplicação de um leve jato de ar após a primeira camada do Líquido B para a eliminação da água residual. Neste trabalho foi aplicado um leve jato de ar comprimido a 5 cm de distância durante 10 segundos tentando eliminar qualquer excesso de umidade na dentina até evidenciar uma superfície brilhante sem movimento de soluções. Provavelmente, neste passo foi removida a maior parte do excesso de água por evaporação, e principalmente de forma física através de jatos que conseguiram empurrar os excessos da mistura para os lados da superfície dentinária. Após a aplicação da segunda camada de Líquido B, o jato leve de ar comprimido aproximadamente a 20 cm de distância apenas serviu para homogeneizar a espessura do adesivo sobre a superfície dentinária. Desta forma, neste passo não existiu remoção física do adesivo para os lados, produzindo uma camada de adesivo de considerável espessura sobre a dentina, o que poderia ter contribuído com os valores de resistência de união (Zheng *et al.*, 2001; Ito *et al.*, 2005b; D'Arcangelo *et al.*, 2009). É conhecido também que quando adesivos à base de monômeros predominantemente hidrófobos e livres de solvente similares aos segundos frascos dos adesivos Adper Scothbond Multi-Purpose (3M ESPE) e Clearfil SE Bond (Kuraray) são aplicados sobre adesivos autocondicionantes de passo único, a resistência de união é aumentada consideravelmente (Albuquerque *et al.*, 2008; Reis *et al.*, 2008, 2009). Sob esse conceito, pode ser especulado que a segunda camada de Líquido B cumpriu esse papel considerando que sua composição basicamente hidrófoba sem solvente foi minimamente alterada pelo Líquido A, cujos excessos já tinham sido removidos fisicamente pelo jato de ar comprimido prévio. Além disso, monômeros hidrófobos livres de solvente conseguem formar um polímero de melhor qualidade, resistente à sorção de água e elução de monômeros de baixo peso molecular, assim como também com melhores propriedades mecânicas (Yiu *et al.*, 2004; Ito *et al.*, 2005a; Yiu *et al.*, 2005; Malacarne *et al.*, 2006; Loguercio *et al.*, 2009a). Apesar de que a micromorfologia das regiões adesivas não foi avaliada, pode ser suposto que a infiltração do adesivo na dentina e a polimerização foi suficiente para gerar

predominância dos padrões de fratura no componente resinoso (Tipo II: coesiva no adesivo; e Tipo III: mista coesiva no adesivo e na resina), e não na camada híbrida.

Uma grande vantagem do Adper SE Plus é apresentar os monômeros e a água em frascos separados, tornando-o quimicamente estável a temperatura ambiente, aumentando assim o seu tempo de vida útil. Como já foi previamente comentado, a água é necessária para ionizar os grupos funcionais e tornar a solução ácida suficiente para desmineralizar à dentina. Porém, quando monômeros e água são juntados em um frasco, a acidez produzida pode funcionar também como catalisador da hidrólise da porção éster dos monômeros e conseqüentemente formar ácidos metacrílicos livres, etilenoglicol, derivados alcoólicos, e ácidos carboxílicos e fosfóricos livres (Salz *et al.*, 2005). Este fenômeno obriga ao armazenamento dos frascos a baixas temperaturas para retardar essa reação (Aida *et al.*, 2009; Ma *et al.*, 2009). A estabilidade química do Adper SE Plus pode ter contribuído na conservação da concentração total dos monômeros dentro do frasco, conservando o equilíbrio e ajudando a formar uma rede polimérica de melhor qualidade. Um estudo recente relatou que vários adesivos autocondicionantes de passo único têm mostrado diminuição na resistência de união à dentina quando foram testados 5 meses depois dos frascos terem sido armazenados a temperatura de 23°C (temperatura ambiente), e inclusive um deles (G-Bond [GC]) reduziu a sua resistência apesar de ter sido guardado 6 meses a 5°C (Shibuya-Chiba *et al.*, 2010).

No caso dos adesivos convencionais é freqüente acontecer discrepância entre a dentina desmineralizada pelo ácido e a penetrada pelos monômeros (Sano *et al.*, 1994). Apesar de que a estratégia autocondicionante teoricamente condiciona e infiltra a dentina concomitantemente, zonas não penetradas pelos monômeros também são evidenciadas através de testes de nanoinfiltração (Sano *et al.*, 1995). Embora estes espaços sejam consideravelmente menores que aqueles deixados na estratégia convencional,

uma gradual perda da resina protetora poderia deixar as fibrilas colágenas expostas (Hashimoto, 2010). Nestas circunstâncias, o meio torna-se propicio para a degradação hidrolítica das fibrilas colágenas desprotegidas por ação das MMPs (Pashley *et al.*, 2004; Hebling *et al.*, 2005), o que pode ser evidenciado na queda da resistência de união ao longo do tempo em estudos *in vitro* (De Munck *et al.*, 2003) e *in vivo* (Hashimoto *et al.*, 2000; Carrilho *et al.*, 2007b, Ricci *et al.*, 2010). A clorexidina tem a capacidade de inibir a atividade colagenolítica e gelatinolítica das MMPs -2, -8 e -9 a mínimas concentrações (0.0001%, 0.01% e 0.002%, respectivamente) (Gendron *et al.*, 1999). É suposto que graças a esta propriedade antienzimática a clorexidina consegue conservar a integridade do componente colágeno da camada híbrida, aumentando assim a longevidade das uniões resina-dentina quando é associada aos adesivos convencionais (Hebling *et al.*, 2005; Carrilho *et al.*, 2007b; Breschi *et al.*, 2009, 2010) e autocondicionantes (Campos *et al.*, 2009, Zhou *et al.*, 2009).

No presente estudo o Líquido A do Adper SE Plus foi substituído por uma solução aquosa de digluconato de clorexidina a 2% para que além de cumprir o papel de ionização dos monômeros funcionais contidos no Líquido B, ela possa utilizar as suas propriedades antienzimáticas e evitar a degradação do colágeno pelas MMPs. O Grupo Experimental alcançou valores de resistência de união de 37,22±10,45 MPa, 47,29±12,67 MPa e 40,22±10,01 MPa (após 1 dia, 3 meses e 6 meses, respectivamente), valores considerados estatisticamente não diferentes entre si (p<0,05). Quando estes valores foram comparados com os correspondentes do Grupo Controle em cada tempo de armazenamento, também foram estatisticamente não diferentes entre si (p<0,05). Pode ser afirmado então, que a solução de digluconato de clorexidina a 2% não interagiu negativamente com o adesivo Adper SE Plus, mantendo o seu mecanismo de união e conservando sua estabilidade após 6 meses. As poucas publicações que existem na literatura científica avaliando interação entre clorexidina e adesivos autocondicionantes reportam que a durabilidade da união é dependente da

concentração de clorexidina e da composição do adesivo (Campos *et al.*, 2009, Zhou *et al.*, 2009; De Munck *et al.*, 2009, 2010). Apesar de que existem discrepâncias e diferenças metodológicas entre estes trabalhos, um achado interessante é que baixas concentrações de clorexidina (0,05% quando é incorporado ao adesivo, e 0,2% quando é aplicado como *primer* terapêutico) não conseguem preservar a resistência de união dos adesivos autocondicionantes na dentina (Campos *et al.*, 2009, Zhou *et al.*, 2009; De Munck *et al.*, 2009, 2010), motivo pelo qual nesta pesquisa foi escolhida uma solução de digluconato de clorexidina a 2%.

Neste estudo não pôde ser demonstrado que a interação de clorexidina com o adesivo autocondicionante Adper SE Plus cumpriu o seu papel antienzimático preservando a durabilidade de união porque o Grupo Controle não apresentou queda da resistência de união em até 6 meses de armazenamento em água. No entanto, foi confirmado que existe compatibilidade entre ambos, o que pode abrir campo para futuros estudos com maior tempo de armazenamento. A grande vantagem da utilização de clorexidina junto com o Adper SE Plus é que os tempos indicados pelo fabricante foram respeitados devido a que a clorexidina substituiu o Líquido A. Outros adesivos autocondicionantes precisam aplicar a clorexidina em um passo prévio fazendo mais demorado o procedimento clínico (de Castro *et al.*, 2003; Campos *et al.*, 2009).

Um quesito importante de todo estudo que envolve degradação hidrolítica de regiões resina-dentina é a freqüência de troca da solução de armazenamento. Quando um espécime é armazenado em água, inicialmente acontece inchaço e amolecimento da rede polimérica devido à sorção de água (Ferracane *et al.*, 1998). Concomitantemente, monômeros não reagidos podem ser liberados na solução de água até saturar a solução. Quando uma solução saturada é alcançada, existe equilíbrio dinâmico entre o soluto na solução e o soluto não dissolvido. Deste modo, o processo de liberação de monômeros não reagidos poderia ser desacelerado ou detido, influenciando na velocidade da

degradação (Skovron *et al*., 2010). A grande maioria de pesquisas omite as condições nas quais os espécimes são armazenados em água e não toma cuidado em padronizar a freqüência de troca de água, assim como também o número de espécimes e a quantidade de água em cada frasco. Isto pode explicar o porquê alguns estudos observam degradação da união, enquanto outros com o mesmo tempo de armazenamento se mostram estáveis. De acordo com Kitasako *et al.* (2000), a troca da solução de armazenamento também poderia induzir a perda de cálcio da dentina, resultando em posterior exposição do colágeno dentinário, o que poderia ter um efeito importante na hidrólise das fibrilas colágenas não protegidas. Tomando em conta o anterior, os estudos que carecem de informação sobre a troca de água, e aqueles que apresentam diferentes freqüências de troca de água, não poderiam ser comparados. Assim, o presente estudo somente pode ser confrontado com aqueles que especificam que não houve troca de água durante 6 meses. Sob estas condições de armazenamento, foi demonstrado que os adesivos convencionais Adper Single Bond (3M ESPE), Adper Single Bond 2 (3M ESPE), Prime & Bond 2.1 (Dentsply), Prime & Bond NT (Dentsply) e One Step (Bisco) apresentaram queda da resistência de união (Reis *et al*., 2004; Loguercio *et al*., 2009b; Stanislawczuk *et al*., 2009). Provavelmente a zona de dentina desmineralizada não penetrada pelos adesivos convencionais facilite a degradação da união. Em um trabalho com adesivos autocondicionantes nas mesmas condições de armazenamento, Adper Prompt L Pop (3M ESPE) mostrou redução da resistência de união, enquanto Xeno III (Dentsply Caulk) e Clearfil S^3 Bond (Kuraray) se mantiveram estáveis (Do Amaral *et al*., 2009). Isto pode significar que na estratégia autocondicionante os fenômenos degradativos podem ser mais lentos devido à menor discrepância entre dentina condicionada e penetrada. Maiores tempos de armazenamento ou trocas mais freqüentes de água seriam necessárias para avaliar degradação nos adesivos autocondicionantes. No presente trabalho, a natureza hidrófoba do adesivo diminui a suscetibilidade à sorção de água e solubilidade dos monômeros melhorando a qualidade do polímero. A menor discrepância entre dentina condicionada e penetrada

característica dos adesivos autocondicionantes, junto com o fato de que os espécimes estiveram armazenados em uma solução que não foi trocada e estava provavelmente saturada, pode ter desacelerado ou detido a degradação do componente resinoso.

7. CONCLUSÃO

Dentro das limitações deste estudo, pôde-se concluir:

O Adper SE Plus não foi influenciado negativamente nos valores de resistência de união à dentina após 1 dia de armazenamento em água quando esteve associado com clorexidina.

O Adper SE Plus não apresentou queda na resistência de união à dentina após 3 e 6 meses de armazenamento em água, e não foi influenciado negativamente quando esteve associado com clorexidina.

A análise do padrão de fratura revelou fraturas principalmente tipo II: coesiva no adesivo; e tipo III: mista coesiva no adesivo e na resina, em ambos os Grupos em todos os períodos de armazenamento.

REFERÊNCIAS*

3M do Brasil. Fichas de informações de segurança de produtos químicos -FISPQ. Sumaré, São Paulo - Brasil.

Aida M, Odaki M, Fujita K, Kitagawa T, Teshima I, Suzuki K *et al*. Degradation-stage effect of self-etching primer on dentin bond durability. J Dent Res. 2009; 88(5): 443-8.

Albuquerque M, Pegoraro M, Mattei G, Reis A, Loguercio AD. Effect of double-application or the application of a hydrophobic layer for improved efficacy of one-step self-etch systems in enamel and dentin. Oper Dent. 2008; 33(5): 564-70.

Alvares K, Kanwar YS, Veis A. Expression and potential role of dentin phosphophoryn (DPP) in mouse embryonic tissues involved in epithelial-mesenchymal interactions and branching morphogenesis. Dev Dyn. 2006; 235(11): 2980-90.

Ardis AE. Preparation of monomeric alkyl alpha-cyanoacrylates. United States patents: 2467926, 2467927. 1949.

Ashisawa M, Watanabe I, Nakabayashi N. Adhesion of MMA-TBB resins to ground ivory. Examination of hybrid layer created in the subsurface. J Jpn Dent Mater. 1992; 11: 860-5. *Apud* Nakabayashi N, Pashley DH. Hybridization of dental hard tissues. Tokyo: Quintessence Publishing; 1998.

Autian J, Singh AR, Turner JE, Hung GW, Nunez LJ, Lawrence WH. Carcinogenesis from polyurethans. Cancer Res. 1975; 35(6): 1591-6.

Avery JK. Fundamentos de histologia e embriologia bucal. Uma abordagem clínica. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.

*De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseadas na norma do International Committee of Medical Journal Editors – Grupo de Vancouver. Abreviaturas dos periódicos em conformidade com Medline.

Baba O, Qin C, Brunn JC, Jones JE, Wygant JN, McIntyre BW *et al.* Detection of dentin sialoprotein in rat periodontium. Eur J Oral Sci. 2004; 112(2): 163-70.

Bischoff F. Organic polymer biocompatibility and toxicology. Clin Chem. 1972; 18(9): 869-94.

Bowen RL. Adhesive bonding of various materials to hard tooth tissues. II. Bonding to dentin promoted by a surface-active comonomer. J Dent Res. 1965; 44(5): 895-902.

Brackett MG, Tay FR, Brackett WW, Dib A, Dipp FA, Mai S *et al.* In vivo chlorhexidine stabilization of hybrid layers of an acetone-based dentin adhesive. Oper Dent. 2009; 34(4): 379-83.

Brackett WW, Tay FR, Brackett MG, Dib A, Sword RJ, Pashley DH. The effect of chlorhexidine on dentin hybrid layers in vivo. Oper Dent. 2007; 32(2): 107-11.

Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. Dent Mater. 2008; 24(1): 90-101.

Breschi L, Cammelli F, Visintini E, Mazzoni A, Vita F, Carrilho M *et al.* Influence of chlorhexidine concentration on the durability of etch-and-rinse dentin bonds: a 12-month in vitro study. J Adhes Dent. 2009; 11(3): 191-8.

Breschi L, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Visintini E, Tjäderhane L *et al.* Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: a 2-year in vitro study. Dent Mater. 2010; 26(4): 320-5.

Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. J Dent Res. 1955; 34(6): 849-53.

Buonocore M, Wileman W, Brudevold F. A report on a resin composition capable of bonding to human dentin surfaces. J Dent Res. 1956; 35(6): 846-51.

Burrow MF, Satoh M, Tagami J. Dentin bond durability after three years using a dentin bonding agent with and without priming. Dent Mater. 1996; 12(5): 302-7.

Campos EA, Correr GM, Leonardi DP, Barato-Filho F, Gonzaga CC, Zielak JC. Chlorhexidine diminishes the loss of bond strength over time under simulated pulpal pressure and thermo-mechanical stressing. J Dent. 2009; 37(2): 108-14.

Carrilho MR, Carvalho RM, de Goes MF, di Hipólito V, Geraldeli S, Tay FR *et al.* Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. J Dent Res. 2007a; 86(1): 90-4.

Carrilho MR, Geraldeli S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjäderhane L *et al. In vivo* preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. J Dent Res. 2007b; 86(6): 529-33.

Carvalho RM, Yoshiyama M, Pashley EL, Pashley DH. In vitro study on the dimensional changes of human dentine after demineralization. Arch Oral Biol. 1996; 41(4): 369-77.

Carvalho RM, Chersoni S, Frankenberger R, Pashley DH, Prati C, Tay FR. A challenge to the conventional wisdom that simultaneous etching and resin infiltration always occurs in self-etch adhesives. Biomaterials. 2005; 26(9): 1035-42.

Coover HW Jr. Alcohol-catalyzed α-cyanoacrylate adhesive compositions. United States patent 2768109. 1956.

Coover HW Jr, Joyner FB, Shearer NH Jr, Wicker TH Jr. Chemistry and performance of cyanoacrylate adhesives. J Soc Plast Eng. 1959; 15: 413-7.

Council on Dental Materials and Devices. Polymers used in dentistry: part I cyanoacrylates. J Am Dent Assoc. 1974; 89(6): 1386-8.

Dal-Bianco K, Pellizzaro A, Patzlaft R, de Oliveira Bauer JR, Loguercio AD, Reis A. Effects of moisture degree and rubbing action on the immediate resin-dentin bond strength. Dent Mater. 2006; 22(12): 1150-6.

D'Arcangelo C, Vanini L, Prosperi GD, Di Bussolo G, De Angelis F, D'Amario M *et al.* The influence of adhesive thickness on the microtensile bond strength of three adhesive systems. J Adhes Dent. 2009; 11(2): 109-15.

Davies GE, Francis J, Martin AR, Rose FL, Swain G. 1:6-Di-4'-chlorophenyldiguanidohexane (hibitane); laboratory investigation of a new antibacterial agent of high potency. Br J Pharmacol Chemother. 1954; 9(2): 192-6.

De Castro FL, de Andrade MF, Duarte Júnior SL, Vaz LG, Ahid FJ. Effect of 2% chlorhexidine on microtensile bond strength of composite to dentin. J Adhes Dent. 2003; 5(2): 129-38.

De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K *et al.* Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. J Dent Res. 2003; 82(2): 136-40.

De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M *et al.* A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. J Dent Res. 2005; 84(2): 118-32.

De Munck J, Van den Steen PE, Mine A, Van Landuyt KL, Poitevin A, Opdenakker G *et al.* Inhibition of enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces. J Dent Res. 2009; 88(12): 1101-6.

De Munck J, Mine A, Van den Steen PE, Van Landuyt KL, Poitevin A, Opdenakker G *et al.* Enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces produced by mild self-etch adhesives. Eur J Oral Sci. 2010; 118(5): 494-501.

Dimuzio MT, Veis A. Phosphophoryns-major noncollagenous proteins of rat incisor dentin. Calcif Tissue Res. 1978; 25(2): 169-78.

Do Amaral RC, Stanislawczuk R, Zander-Grande C, Michel MD, Reis A, Loguercio AD. Active application improves the bonding performance of self-etch adhesives to dentin. J Dent. 2009; 37(1): 82-90.

Do Amaral RC, Stanislawczuk R, Zander-Grande C, Gagler D, Reis A, Loguercio AD. Bond strength and quality of the hybrid layer of one-step self-etch adhesives applied with agitation on dentin. Oper Dent. 2010; 35(2): 211-9.

Eick JD, Wilko RA, Anderson CH, Sorensen SE. Scanning electron microscopy of cut tooth surfaces and identification of debris by use of the electron microprobe. J Dent Res. 1970; 49(6): Suppl: 1359-68.

Fejerskov O, Yaeger JA, Thylstrup A. Microradiography of the effect of acute and chronic administration of fluoride on human and rat dentine and enamel. Arch Oral Biol. 1979; 24(2): 123-30.

Ferracane JL, Berge HX, Condon JR. In vitro aging of dental composites in water-effect of degree of conversion, filler volume, and filler/matrix coupling. J Biomed Mater Res. 1998; 42(3): 465-72.

Fusayama T, Nakamura M, Kurosaki N, Iwaku M. Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. J Dent Res. 1979; 58(4): 1364-70.

Galligan JD, Schwartz AM, Minor FW. Adhesive polyurethane liners for anterior restorations. J Dent Res. 1968; 47(4): 629-32.

Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine. Clin Diagn Lab Immunol. 1999; 6(3): 437-9.

Gwinnett AJ. Moist versus dry dentin: its effect on shear bond strength. Am J Dent. 1992; 5(3): 127-9.

Gwinnett AJ, Yu S. Effect of long-term water storage on dentin bonding. Am J Dent. 1995; 8(2): 109-11.

Hagger O. Sevriton Cavity Seal. Swiss patent 278946. British patent 687299. 1951.

Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. J Dent Res. 2000; 79(6): 1385-91.

Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. Resin-tooth adhesive interfaces after long-term function. Am J Dent. 2001; 14(4): 211-5.

Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Tay FR, Kaga M, Kudou Y *et al.* Micromorphological changes in resin-dentin bonds after 1 year of water storage. J Biomed Mater Res. 2002; 63(3): 306-11.

Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H. In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. Biomaterials. 2003; 24(21): 3795-803.

Hashimoto M. A review – Micromorphological evidence of degradation in resin-dentin bonds and potential preventional solutions. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2010; 92(1): 268-80.

Hebling J, Pashley DH, Tjäderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. J Dent Res. 2005; 84(8): 741-6. *Erratum in*: J Dent Res. 2006; 85(4): 384.

Higashi C, Michel MD, Reis A, Loguercio AD, Gomes OM, Gomes JC. Impact of adhesive application and moisture on the mechanical properties of the adhesive interface determined by the nano-indentation technique. Oper Dent. 2009; 34(1): 51-7.

Hiraishi N, Yiu CK, King NM, Tay FR. Effect of 2% chlorhexidine on dentin microtensile bond strengths and nanoleakage of luting cements. J Dent. 2009; 37(6): 440-8.

Holland GR. Morphological features of dentine and pulp related to dentine sensitivity. Arch Oral Biol. 1994; 39 Suppl: 3S-11S.

Hosaka K, Nakajima M, Takahashi M, Itoh S, Ikeda M, Tagami J *et al.* Relationship between mechanical properties of one-step self-etch adhesives and water sorption. Dent Mater. 2010; 26(4): 360-7.

Ito S, Hashimoto M, Wadgaonkar B, Svizero N, Carvalho RM, Yiu C *et al.* Effects of resin hydrophilicity on water sorption and changes in modulus of elasticity. Biomaterials. 2005a; 26(33): 6449-59.

Ito S, Tay FR, Hashimoto M, Yoshiyama M, Saito T, Brackett WW *et al.* Effects of multiple coatings of two all-in-one adhesives on dentin bonding. J Adhes Dent. 2005b; 7(2): 133-41.

Jayawardena C, Nandasena T, Abeywardena A, Nanayakkara D. Regional distribution of interglobular dentine in human teeth. Arch Oral Biol. 2009; 54(11): 1016-21.

Kanca J 3rd. Resin bonding to wet substrate. 1. Bonding to dentin. Quintessence Int. 1992a; 23(1): 39-41.

Kanca J 3rd. Improving bond strength through acid etching of dentin and bonding to wet dentin surfaces. J Am Dent Assoc. 1992b; 123(9): 35-43.

Katchburian E, Arana V. Histologia e embriologia oral. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.

Kawasaki K, Tanaka S, Ishikawa T. On the daily incremental lines in human dentine. Arch Oral Biol. 1979; 24(12): 939-43.

Kitasako Y, Burrow MF, Nikaido T, Tagami J. The influence of storage solution on dentin bond durability of resin cement. Dent Mater. 2000; 16(1): 1-6.

Khowassah MA, Sahs EA. The sealing properties of methyl 2-cyanoacrylate as an adhesive in dentistry. J Dent Res. 1966; 45(2): 376-8.

Komori PC, Pashley DH, Tjäderhane L, Breschi L, Mazzoni A, de Goes MF *et al.* Effect of 2% chlorhexidine digluconate on the bond strength to normal versus caries-affected dentin. Oper Dent. 2009; 34(2): 157-65.

Kramer IRH, McLean JW. Alterations in the staining reaction of dentine resulting from a constituent of a new self-polymerizing resin. Br Dent J. 1952; 93: 150-3.

Lee HL, Cupples AL, Schubert RJ, Swartz ML. An adhesive dental restorative material. J Dent Res. 1971; 50(1): 125-32.

Lim KS, Kam PC. Chlorhexidine--pharmacology and clinical applications. Anaesth Intensive Care. 2008 Jul;36(4):502-12.

Limeback H, Schlumbohm C, Sen A, Nikiforuk G. The effects of hypocalcemia/hypophosphatemia on porcine bone and dental hard tissues in an inherited form of type 1 pseudo-vitamin D deficiency rickets. J Dent Res. 1992; 71(2): 346-52.

Linde A, Goldberg M. Dentinogenesis. Crit Rev Oral Biol Med. 1993; 4(5): 679-728.

Löe H, Schiott CR. The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. J Periodontal Res. 1970; 5(2): 79-83.

Loguercio AD, Loeblein F, Cherobin T, Ogliari F, Piva E, Reis A. Effect of solvent removal on adhesive properties of simplified etch-and-rinse systems and on bond strengths to dry and wet dentin. J Adhes Dent. 2009a; 11(3): 213-9.

Loguercio AD, Stanislawczuk R, Polli LG, Costa JA, Michel MD, Reis A. Influence of chlorhexidine digluconate concentration and application time on resin-dentin bond strength durability. Eur J Oral Sci. 2009b; 117(5): 587-96.

Ma S, Nakajima KF, Nishiyama N. Effects of storage temperature on the shelf life of one-step and two-step self-etch adhesives. Oper Dent. 2009; 34(4): 472-80.

MacDougall M, Simmons D, Luan X, Nydegger J, Feng J, Gu TT. Dentin phosphoprotein and dentin sialoprotein are cleavage products expressed from a single transcript coded by a gene on human chromosome 4. Dentin phosphoprotein DNA sequence determination. J Biol Chem. 1997; 272(2): 835-42.

Malacarne J, Carvalho RM, de Goes MF, Svizero N, Pashley DH, Tay FR *et al.* Water sorption/solubility of dental adhesive resins. Dent Mater. 2006; 22(10): 973-80.

Marshall GW Jr, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. J Dent. 1997; 25(6): 441-58.

Masuhara E, Kojima K, Hirasawa T, Tarumi N, Kimura T. Studies on dental self-curing resins. 3. Effects of alkylborane on the adhesive force to ivory and tooth surface. Rep Inst Dent Mater Tokyo Med Dent Univ. 1963; 2: 457-65. *Apud*

Nakabayashi N, Pashley DH. Hybridization of dental hard tissues. Tokyo: Quintessence Publishing; 1998.

Masuhara E. Über die chemie eines neuen haftfähigen kunststoff-füllungsmaterials. Dtsch Zahnärztl Z. 1969; 24: 620-8. *Apud* Nakabayashi N, Pashley DH. Hybridization of dental hard tissues. Tokyo: Quintessence Publishing; 1998.

Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, Breschi L, Mannello F, Tjäderhane L *et al.* Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. Biomaterials. 2006; 27(25): 4470-6.

Mazzoni A, Mannello F, Tay FR, Tonti GA, Papa S, Mazzotti G *et al.* Zymographic analysis and characterization of MMP-2 and -9 forms in human sound dentin. J Dent Res. 2007; 86(5): 436-40. *Erratum in*: J Dent Res. 2007; 86(8): 792.

McLean JW, Kramer IRH. A clinical and pathological evaluation of a sulphinic acid activated resin for use in restorative dentistry. Br Dent J. 1952; 93: 255-69.

Meiers JC, Kresin JC. Cavity disinfectants and dentin bonding. Oper Dent. 1996; 21(4): 153-9.

Meiers JC, Shook LW. Effect of disinfectants on the bond strength of composite to dentin. Am J Dent. 1996; 9(1): 11-4.

Moszner N, Salz U, Zimmermann J. Chemical aspects of self-etching enamel-dentin adhesives: a systematic review. Dent Mater. 2005; 21(10): 895-910.

Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. J Biomed Mater Res. 1982; 16(3): 265-73.

Nakabayashi N, Pashley DH. Hybridization of dental hard tissues. Tokyo: Quintessence Publishing; 1998.

Nakaoki Y, Nikaido T, Pereira PN, Inokoshi S, Tagami J. Dimensional changes of demineralized dentin treated with HEMA primers. Dent Mater. 2000; 16(6): 441-6.

Nanci A. Ten Cate, histologia oral: Desenvolvimento, estrutura e função. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.

Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, Breschi L, Mannello F, Mazzoni A *et al.* Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. Eur J Oral Sci. 2006; 114(2): 160-6.

Ogbureke KU, Fisher LW. SIBLING expression patterns in duct epithelia reflect the degree of metabolic activity. J Histochem Cytochem. 2007; 55(4): 403-9.

Pashley DH, Ciucchi B, Sano H, Horner JA. Permeability of dentin to adhesive agents. Quintessence Int. 1993; 24(9): 618-31.

Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. J Dent. 1997; 25(5): 355-72.

Pashley DH, Agee KA, Nakajima M, Tay FR, Carvalho RM, Terada RS *et al*. Solvent-induced dimensional changes in EDTA-demineralized dentin matrix. J Biomed Mater Res. 2001; 56(2): 273-81.

Pashley DH, Carvalho RM, Tay FR, Agee KA, Lee KW. Solvation of dried dentin matrix by water and other polar solvents. Am J Dent. 2002; 15(2): 97-102.

Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM *et al.* Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. J Dent Res. 2004; 83(3): 216-21.

Perdigao J, Denehy GE, Swift EJ Jr. Effects of chlorhexidine on dentin surfaces and shear bond strengths. Am J Dent. 1994; 7(2): 81-4.

Prasad M, Butler WT, Qin C. Dentin sialophosphoprotein in biomineralization. Connect Tissue Res. 2010; 51(5): 404-17.

Qin C, Brunn JC, Cadena E, Ridall A, Tsujigiwa H, Nagatsuka H *et al.* The expression of dentin sialophosphoprotein gene in bone. J Dent Res. 2002; 81(6): 392-4.

Reis A, Loguercio AD, Carvalho RM, Grande RH. Durability of resin dentin interfaces: effects of surface moisture and adhesive solvent component. Dent Mater. 2004; 20(7): 669-76.

Reis A, Pellizzaro A, Dal-Bianco K, Gones OM, Patzlaff R, Loguercio AD. Impact of adhesive application to wet and dry dentin on long-term resin-dentin bond strengths. Oper Dent. 2007; 32(4): 380-7.

Reis A, Albuquerque M, Pegoraro M, Mattei G, Bauer JR, Grande RH *et al.* Can the durability of one-step self-etch adhesives be improved by double application or by an extra layer of hydrophobic resin? J Dent. 2008; 36(5): 309-15.

Reis A, Leite TM, Matte K, Michels R, Amaral RC, Geraldeli S *et al.* Improving clinical retention of one-step self-etching adhesive systems with an additional hydrophobic adhesive layer. J Am Dent Assoc. 2009; 140(7): 877-85.

Ricci HA, Sanabe ME, de Souza Costa CA, Pashley DH, Hebling J. Chlorhexidine increases the longevity of in vivo resin-dentin bonds. Eur J Oral Sci. 2010; 118(4): 411-6. *Erratum in*: Eur J Oral Sci. 2010; 118(5): 535.

Salvatore JE, Mandarino MP. Polyurethane polymer, its use in osseous lesions: an experimental study. Ann Surg. 1959; 149(1): 107-9.

Salz U, Zimmermann J, Zeuner F, Moszner N. Hydrolytic stability of self-etching adhesive systems. J Adhes Dent. 2005; 7(2): 107-16.

Sano H, Shono T, Takatsu T, Hosoda H. Microporous dentin zone beneath resin-impregnated layer. Oper Dent. 1994; 19(2): 59-64.

Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. Oper Dent. 1995; 20(1): 18-25.

Sano H, Yoshikawa T, Pereira PN, Kanemura N, Morigami M, Tagami J *et al.* Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. J Dent Res. 1999; 78(4): 906-11.

Santerre JP, Shajii L, Leung BW. Relation of dental composite formulations to their degradation and the release of hydrolyzed polymeric-resin-derived products. Crit Rev Oral Biol Med. 2001; 12(2): 136-51.

Santos JN, Carrilho MR, De Goes MF, Zaia AA, Gomes BP, Souza-Filho FJ *et al.* Effect of chemical irrigants on the bond strength of a self-etching adhesive to pulp chamber dentin. J Endod. 2006; 32(11): 1088-90.

Sarr M, Kane AW, Vreven J, Mine A, Van Landuyt KL, Peumans M *et al.* Microtensile bond strength and interfacial characterization of 11 contemporary adhesives bonded to bur-cut dentin. Oper Dent. 2010; 35(1): 94-104.

Schour I, Hoffman MM. The rate of apposition of enamel and dentin in man and other animals. J Dent Res. 1939; 18: 161-75.

Shibuya-Chiba Y, Iwasa M, Tsubota K, Miyazaki M, Hirose H, Platt JA. Influence of storage conditions of adhesive vials on dentin bond strength. Oper Dent. 2010; 35(5): 508-14.

Skovron L, Kogeo D, Gordillo LA, Meier MM, Gomes OM, Reis A *et al.* Effects of immersion time and frequency of water exchange on durability of etch-and-rinse adhesive. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2010; 95(2): 339-46.

Soares CJ, Pereira CA, Pereira JC, Santana FR, do Prado CJ. Effect of chlorhexidine application on microtensile bond strength to dentin. Oper Dent. 2008; 33(2): 183-8.

Stanislawczuk R, Amaral RC, Zander-Grande C, Gagler D, Reis A, Loguercio AD. Chlorhexidine-containing acid conditioner preserves the longevity of resin-dentin bonds. Oper Dent. 2009; 34(4): 481-90.

Sulkala M, Tervahartiala T, Sorsa T, Larmas M, Salo T, Tjäderhane L. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin. Arch Oral Biol. 2007; 52(2): 121-7.

Suzuki S, Sreenath T, Haruyama N, Honeycutt C, Terse A, Cho A et al. Dentin sialoprotein and dentin phosphoprotein have distinct roles in dentin mineralization. Matrix Biol. 2009; 28(4): 221-9.

Takahashi A, Inoue S, Kawamoto C, Ominato R, Tanaka T, Sato Y *et al*. In vivo long-term durability of the bond to dentin using two adhesive systems. J Adhes Dent. 2002; 4(2): 151-9.

Tao L, Pashely DH, Boyd L. Effect of different types of smear layers on dentin and enamel shear bond strengths. Dent Mater. 1988; 4(4): 208-16.

Tay FR, King NM, Chan KM, Pashley DH. How can nanoleakage occur in self-etching adhesive systems that demineralize and infiltrate simultaneously? J Adhes Dent. 2002a; 4(4): 255-69.

Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Itthagarun A. Single-step adhesives are permeable membranes. J Dent. 2002b; 30(7-8): 371-82.

Tay FR, Pashley DH. Water treeing--a potential mechanism for degradation of dentin adhesives. Am J Dent. 2003; 16(1): 6-12.

Tulunoglu O, Ayhan H, Olmez A, Bodur H. The effect of cavity disinfectants on microleakage in dentin bonding systems. J Clin Pediatr Dent. 1998; 22(4): 299-305.

Vaidyanathan TK, Vaidyanathan J. Recent advances in the theory and mechanism of adhesive resin bonding to dentin: a critical review. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2009; 88(2): 558-78.

Van Landuyt KL, Mine A, De Munck J, Jaecques S, Peumans M, Lambrechts P *et al.* Are one-step adhesives easier to use and better performing? Multifactorial assessment of contemporary one-step self-etching adhesives. J Adhes Dent. 2009; 11(3): 175-90.

Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A *et al.* Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. Biomaterials. 2007; 28(26): 3757-85.

Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P *et al.* Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. Oper Dent. 2003; 28(3): 215-35.

Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A *et al.* Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. Dent Mater. 2010; 26(2): e100-21.

Van Noort R, Cardew GE, Howard IC, Noroozi S. The effect of local interfacial geometry on the measurement of the tensile bond strength to dentin. J Dent Res. 1991; 70(5): 889-93.

Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. Circ Res. 2003; 92(8): 827-39.

Wang Y, Yao X. Morphological/chemical imaging of demineralized dentin layer in its natural, wet state. Dent Mater. 2010; 26(5): 433-42.

Watanabe I, Nikaido T, Nakabayashi N. Effect of adhesion promoting monomers on adhesion to ground dentin. J Jpn Dent Mater. 1990; 9: 888-93.

Watanabe I. Photocure bonding agents to ground dentin. J Jpn Dent Mater. 1992; 11: 955-73.

Watanabe I, Nakabayashi N, Pashley DH. Bonding to ground dentin by a phenyl-P self-etching primer. J Dent Res. 1994; 73(6): 1212-20.

Xie C, Han Y, Zhao XY, Wang ZY, He HM. Microtensile bond strength of one- and two-step self-etching adhesives on sclerotic dentin: the effects of thermocycling. Oper Dent. 2010; 35(5): 547-55.

Yamakoshi Y, Hu JC, Fukae M, Zhang H, Simmer JP. Dentin glycoprotein: the protein in the middle of the dentin sialophosphoprotein chimera. J Biol Chem. 2005; 280(17): 17472-9.

Yamakoshi Y. Dentinogenesis and dentin sialophosphoprotein (DSPP). J Oral Biosci. 2009; 51(3): 134.

Yiu CK, King NM, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Carrilho MR *et al.* Effect of resin hydrophilicity and water storage on resin strength. Biomaterials. 2004; 25(26): 5789-96.

Yiu CK, Pashley EL, Hiraishi N, King NM, Goracci C, Ferrari M *et al.* Solvent and water retention in dental adhesive blends after evaporation. Biomaterials. 2005; 26(34): 6863-72.

Yiu CK, King NM, Carrilho MR, Sauro S, Rueggeberg FA, Prati C *et al*. Effect of resin hydrophilicity and temperature on water sorption of dental adhesive resins. Biomaterials. 2006; 27(9): 1695-703.

Zheng L, Pereira PN, Nakajima M, Sano H, Tagami J. Relationship between adhesive thickness and microtensile bond strength. Oper Dent. 2001; 26(1): 97-104.

Zhou J, Tan J, Chen L, Li D, Tan Y. The incorporation of chlorhexidine in a two-step self-etching adhesive preserves dentin bond in vitro. J Dent. 2009; 37(10): 807-12.

ANEXO 1

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa **"Efeito da clorexidina na interação entre adesivo autocondicionante e dentina"**, protocolo nº 144/2009, dos pesquisadores César Pomacóndor-hernández e Mario Fernando de Goes, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 04/11/2009.

The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project **"Effect of chlorhexidine in the interaction between self-etching adhesive and dentin"**, register number 144/2009, of César Pomacóndor-hernández and Mario Fernando de Goes, comply with the recommendations of the National Health Council - Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 11/04/2009.

Prof. Dr. Pablo Agustin Vargas
Secretário
CEP/FOP/UNICAMP

Prof. Dr. Jacks Jorge Junior
Coordenador
CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.
Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.

ANEXO 2

Software: SPSS Statistics 17

Análise: ANOVA de dois fatores para medidas repetidas

Idioma: Espanhol

Factores intra-sujetos		
Medida:RU		
TRATAMENTO	TEMPO	Variable dependiente
1	1	C1d
	2	C3m
	3	C6m
2	1	CHX1d
	2	CHX3m
	3	CHX6m

Estadísticos descriptivos			
	Media	Desviación típica	N
Cont1	46,4262	11,45783	8
Cont3	50,0212	13,84385	8
Cont6	45,1775	17,92543	8
Clor1	37,2250	10,45344	8
Clor3	47,2888	12,67070	8
Clor6	40,2187	10,01359	8

Contrastes multivariados[b]

Efecto		Valor	F	Gl de la hipótesis	Gl del error	Sig.
TRATAMENTO	Traza de Pillai	,240	2,213[a]	1,000	7,000	,180
	Lambda de Wilks	,760	2,213[a]	1,000	7,000	,180
	Traza de Hotelling	,316	2,213[a]	1,000	7,000	,180
	Raíz mayor de Roy	,316	2,213[a]	1,000	7,000	,180
TEMPO	Traza de Pillai	,333	1,498[a]	2,000	6,000	,297
	Lambda de Wilks	,667	1,498[a]	2,000	6,000	,297
	Traza de Hotelling	,499	1,498[a]	2,000	6,000	,297
	Raíz mayor de Roy	,499	1,498[a]	2,000	6,000	,297
TRATAMENTO * TEMPO	Traza de Pillai	,280	1,165[a]	2,000	6,000	,374
	Lambda de Wilks	,720	1,165[a]	2,000	6,000	,374
	Traza de Hotelling	,388	1,165[a]	2,000	6,000	,374
	Raíz mayor de Roy	,388	1,165[a]	2,000	6,000	,374

a. Estadístico exacto

b. Diseño: Intersección
Diseño intra-sujetos: TRATAMENTO + TEMPO + TRATAMENTO * TEMPO

Prueba de esfericidad de Mauchly[b]

Medida:RU

Efecto intra-sujetos	W de Mauchly	Chi-cuadrado aprox.	gl	Sig.	Epsilon[a]		
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Límite-inferior
TRATAMENTO	1,000	,000	0	.	1,000	1,000	1,000
TEMPO	,710	2,057	2	,358	,775	,954	,500
TRATAMENTO * TEMPO	,630	2,768	2	,251	,730	,874	,500

Contrasta la hipótesis nula de que la matriz de covarianza error de las variables dependientes transformadas es proporcional a una matriz identidad.

a. Puede usarse para corregir los grados de libertad en las pruebas de significación promediadas. Las pruebas corregidas se muestran en la tabla Pruebas de los efectos inter-sujetos.

b. Diseño: Intersección
Diseño intra-sujetos: TRATAMENTO + TEMPO + TRATAMENTO * TEMPO

Pruebas de efectos intra-sujetos.

Medida:RU

Origen		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
TRATAMENTO	Esfericidad asumida	380,475	1	380,475	2,213	,180
	Greenhouse-Geisser	380,475	1,000	380,475	2,213	,180
	Huynh-Feldt	380,475	1,000	380,475	2,213	,180
	Límite-inferior	380,475	1,000	380,475	2,213	,180
Error(TRATAMENTO)	Esfericidad asumida	1203,422	7	171,917		
	Greenhouse-Geisser	1203,422	7,000	171,917		
	Huynh-Feldt	1203,422	7,000	171,917		
	Límite-inferior	1203,422	7,000	171,917		
TEMPO	Esfericidad asumida	442,059	2	221,029	1,349	,291
	Greenhouse-Geisser	442,059	1,550	285,180	1,349	,291
	Huynh-Feldt	442,059	1,908	231,633	1,349	,291
	Límite-inferior	442,059	1,000	442,059	1,349	,284
Error(TEMPO)	Esfericidad asumida	2294,606	14	163,900		
	Greenhouse-Geisser	2294,606	10,851	211,470		
	Huynh-Feldt	2294,606	13,359	171,763		
	Límite-inferior	2294,606	7,000	327,801		
TRATAMENTO * TEMPO	Esfericidad asumida	86,400	2	43,200	,541	,594
	Greenhouse-Geisser	86,400	1,460	59,162	,541	,544
	Huynh-Feldt	86,400	1,748	49,429	,541	,572
	Límite-inferior	86,400	1,000	86,400	,541	,486
Error(TRATAMENTO*TEMPO)	Esfericidad asumida	1116,967	14	79,783		
	Greenhouse-Geisser	1116,967	10,223	109,264		
	Huynh-Feldt	1116,967	12,236	91,287		
	Límite-inferior	1116,967	7,000	159,567		

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Medida:RU
Variable transformada:Promedio

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	94595,090	1	94595,090	266,417	,000
Error	2485,444	7	355,063		