



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

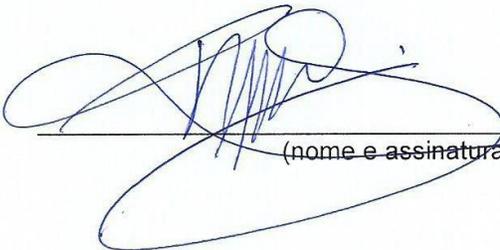


CONCORDÂNCIA DO ORIENTADOR

Declaro que a aluna Mariana Costa Sartori RA 105363 esteve sob minha orientação para a realização do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado Avaliação de sistemas adesivos experimentais contendo DMSO na resistência de união dentinária e na morfologia da camada híbrida no ano de 2013

Concordo com a submissão do trabalho apresentado à Comissão de Graduação pelo aluno, como requisito para aprovação na disciplina DS833 - Trabalho de Conclusão de Curso.

Piracicaba, 20 de setembro de 2013.


(nome e assinatura do orientador)



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**



Avaliação de sistemas adesivos experimentais contendo DMSO na resistência de união dentinária e na morfologia da camada híbrida

Tese de conclusão de curso

Autora: Mariana Costa Sartori

PIRACICABA

2013

Mariana Costa Sartori

**Avaliação de sistemas adesivos experimentais
contendo DMSO na resistência de união
dentinária e na morfologia da camada híbrida**

Luis Roberto Marcondes Martins

Piracicaba, 2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
MARILENE GIRELLO – CRB8/6159 - BIBLIOTECA DA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNICAMP

Sartori, Mariana Costa, 1991-

Sa77a Avaliação de sistemas adesivos experimentais
contendo DMSO na resistência de união dentinária e
na morfologia da camada híbrida / Mariana Costa
Sartori. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2013.

Orientador: Luis Roberto Marcondes Martins.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) –
Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de
Odontologia de Piracicaba.

1. Dentística. 2. Microscopia eletrônica de
varredura. I. Martins, Luis Roberto Marcondes, 1960- II.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Dedicatória

Dedico esse trabalho aos meus pais, Fernando Luiz Sartori e Maria Goretti Batelochi Costa Sartori, pois, assim como eles sentem muito orgulho de mim eu sinto muito deles também, e, eu só cheguei onde estou e sou essa pessoa que sou hoje foi pela educação e amor que me deram. Pai, Mãe, serei eternamente grata a vocês, e, não importa onde estejam , sempre lembrarei e amarei vocês.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus e a minha família, pois sempre estiverem ao meu lado, me apoiaram nos momentos de maior dificuldade, me intuindo e me mostrando qual o caminho mais sábio a escolher.

Agradeço a orientação da Prof. Dr. Luis Roberto Marcondes Martins, o qual me incentivou a realizar este trabalho, me orientou e ensinou. Agradeço também as alunas de iniciação científica, Beatriz Capelli e Mariane Paganini as quais estiveram ao meu lado durante todo o trabalho no laboratório, me incentivaram e ajudaram na realização deste trabalho.

E por final, agradeço ao PIBIC - CNPq, por dar oportunidade de financiamento à projetos de iniciação científica em pesquisa, apoiando financeiramente, visando educação e crescimento intelectual dos alunos de graduação.

RESUMO

A produção de interfaces de união estáveis entre sistemas adesivos e a dentina ainda pode ser considerada um desafio quando avaliada após longos períodos devido à degeneração das fibrilas colágenas expostas na base da camada híbrida que não são completamente envelopadas pelos sistemas adesivos. Essa camada desprotegida pode sofrer hidrólise pela ação de metaloproteinases endógenas (MMP) que degradam colágeno comprometendo a união de materiais resinosos a dentina à longo prazo. O dimetilsulfóxido (DMSO) é considerado um inibidor sintético de MMP que tem como vantagem a capacidade de penetração tecidual em conjunção com a propriedade de agir como um carregador de princípios ativos para o interior de tecidos, especialmente o cutâneo. Com isso, o objetivo desse estudo foi de avaliar a influência do uso de DMSO como solvente incorporado em diferentes concentrações em um sistema adesivo experimental à base de BISGMA e HEMA na resistência de união dentinária, assim como verificar a influência desse solvente na quantidade de fibrilas colágenas expostas remanescentes na base da camada híbrida. As faces oclusais de 40 terceiros molares humanos foram planejadas para que ocorresse a exposição de dentina média sendo distribuídos aleatoriamente em quatro grupos (n=10) de acordo com o adesivo utilizado. Foram manipulados quatro adesivos experimentais contendo os monômeros HEMA e BISGMA, o total de solvente utilizado foi de 10% por peso sendo que no grupo controle o solvente utilizado foi o etanol. Para os grupos experimentais o etanol foi gradativamente substituído por DMSO nas concentrações 10%, 20% e 50%. O grupo controle foi restaurado com o sistema adesivo *total etch* 0% DMSO. Foi realizada a fotoativação por 20 segundos (Bluephase, Ivoclar Vivadent). Os dentes foram seccionados em palitos 0.9X0.9 mm e após 24 horas foram submetidos ao ensaio de microtração. Os palitos fraturados foram avaliados em MEV para determinação do padrão de falha. O teste de ANOVA e Teste de Tukey ($\alpha=5\%$) mostraram que não houve diferença nos valores de resistência de união entre os adesivos de testados ($p>0.01$). O padrão de falha foi predominantemente misto acima da camada híbrida para os adesivos.

PALAVRAS-CHAVE

-Microtração, Fibrilas colágenas, MEV.

ABSTRACT

The production of stable interface bonding between adhesives and dentin may be considered a further challenge when evaluated after long periods due to the degeneration of collagen fibrils exposed at the base of the hybrid layer are not completely enveloped by adhesive systems. This unprotected layer can undergo hydrolysis by the action of endogenous metalloproteinases (MMP) who degrade collagen impairing the union of resinous materials to dentin by long-term. Dimethylsulfoxide (DMSO) is considered a synthetic inhibitor of MMP who has the advantage the tissue penetration capability in conjunction with property to act as a carrier for active ingredients to the interior tissues, especially the cutaneous. This study purpose to evaluate the influence of the use of DMSO as solvent incorporated in different concentrations in an experimental adhesive system based BISGMA and HEMA on dentin bond strength, as well as to verify the influence of solvent on the amount of remaining collagen fibrils exposed at the base of the hybrid layer. The occlusal surfaces of 40 human third molars were planned to occur an average exposure of dentin were randomly allocated into four groups (n = 10) according to the adhesive used. Were handled four experimental adhesives containing monomers HEMA and BISGMA, total solvent used was 10% by weight and in the control group the solvent used was ethanol. For the experimental groups, the ethanol was gradually replaced by DMSO in concentrations of 10%, 20% and 50%. The control group was restored with the full etch adhesive system 0% DMSO. Polymerization was carried out for 20 seconds (Bluephase , IvoclarVivadent). The teeth were sectioned into sticks 0.9X0.9 mm and after 24 hours were subjected to microtensile test. The fractured sticks were evaluated by SEM to determine the failure pattern. The ANOVA and Tukey test ($\alpha = 5\%$) showed no difference in the values of bond strength between adhesives tested ($p > 0:01$). The pattern of failure was predominantly mixed above the hybrid layer for the stickers.

KEYWORDS

- Microtensile, collagen fibrils, SEM.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO-----	10
2. REVISÃO DE LITERATURA-----	10
3. PROPOSIÇÃO-----	12
4. MATERIAIS E MÉTODOS-----	13
5. RESULTADOS-----	21
6. DISCUSSÃO-----	27
7. CONCLUSÃO-----	28

1. INTRODUÇÃO

A produção de interfaces de união estáveis entre sistemas adesivos e a dentina ainda pode ser considerada um desafio quando avaliada após longos períodos devido à degeneração das fibrilas colágenas expostas na base da camada híbrida que não são completamente envelopadas pelos sistemas adesivos. Essa camada desprotegida pode sofrer hidrólise pela ação de metaloproteinases endógenas (MMP) que degradam colágeno comprometendo a união de materiais resinosos à dentina em longo prazo. O dimetilsulfóxido (DMSO) é considerado um inibidor sintético de MMP que tem como vantagem a capacidade de penetração tecidual em conjunção com a propriedade de agir como um carregador de princípios ativos para o interior de tecidos, especialmente o cutâneo. Em virtude dessas características, a proposta desse estudo foi de avaliar a influência do uso de DMSO como solvente na formulação de sistemas adesivos total-etch na resistência de união à dentina. As hipóteses testadas foram que (i) o uso de DMSO não influencia a resistência de união dentinária, (ii) reduziu tanto a quantidade de fibrilas colágenas expostas na interface adesiva. O trabalho foi realizado em 52 terceiros molares humanos os quais, divididos em grupos pré-determinados, receberam a aplicação de adesivos experimentais contendo DMSO e foram restaurados, cortados em palitos, os quais participaram do ensaio de microtração. Após serem quebrados e preparados para microscopia, os palitos, foram submetidos à análise de padrão de falha em MEV, e análise de fibrilas colágenas expostas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A técnica de hibridização dos tecidos duros, empregando sistemas adesivos, estabeleceu-se como procedimento eficaz a partir da década de 80 para retenção do material restaurador à estrutura dental (1). Atualmente, a união de sistemas adesivos à estrutura dental é de grande importância na odontologia por possibilitar a execução de procedimentos mais conservadores em relação aos permitidos pelos recursos vigentes até o momento.

São inegáveis os altos valores imediatos de resistência de união dentinária alcançados com o emprego de sistemas adesivos modernos. No entanto, avaliações longitudinais das restaurações adesivas têm identificado quedas acentuadas dos valores de resistência reportados, após curtos períodos de tempo (2-5), justificando falhas clínicas, como a recorrência de cárie, a sensibilidade pós-operatória e a descoloração de margens, observadas em avaliações de longo prazo (6-8).

A queda nos valores de resistência mecânica da interface de união, após seu envelhecimento em meio aquoso, tem sido atribuída à (i) degradação das fibrilas colágenas que a compõem, (9, 10), e (ii) também devido à instabilidade do componente resinoso quando submetido às condições que simulam o meio bucal (11-13). A afinidade química dos monômeros resinosos com a água pode ser apontada como causa para tal comportamento. O efeito da água na estrutura dos materiais é usualmente estudado em função de seu reconhecido potencial degradante (14). A água pode participar ativamente na clivagem das ligações poliméricas, como também servir de meio para a ação de enzimas.

Os sistemas adesivos atuais se constituem de uma mistura de monômeros resinosos hidrófilos e hidrófobos, geralmente dissolvidos em solventes voláteis, como acetona e etanol, podendo ainda conter água. Enquanto os monômeros resinosos são responsáveis pela formação da camada híbrida e copolimerização com o compósito restaurador, os solventes respondem pela fluidez da solução e pelo deslocamento da água presente na superfície dentinária desmineralizada, facilitando, dessa forma, a infiltração da mistura monomérica nos espaços microscópicos criados na estrutura dental, após seu condicionamento (15).

Quando adesivos *total-etch* são utilizados, a zona de desmineralização causada pelo condicionamento ácido não é completamente preenchida em toda sua extensão pelos monômeros de dimetacrilatos presentes no sistema adesivo. Assim, uma região com fibrilas colágenas expostas, não encapsuladas pelo sistema adesivo, é formada na base da camada híbrida e se torna sujeita a degeneração hidrolítica pelas MMP. Como consequência, é possível detectar redução na resistência de união em períodos curtos de apenas seis meses de função na cavidade oral (2), o que contribui para o insucesso clínico de procedimentos adesivos. Dessa forma, a inibição de MMP juntamente com

aumento da capacidade de penetração de sistemas adesivos na dentina desmineralizada poderiam melhorar o desempenho clínico de procedimentos adesivos.

O dimetilsulfóxido (DMSO) pode ser considerado um inibidor sintético de MMP (16) sendo muito utilizado como solvente aprótico e polar em laboratórios e na indústria completamente miscível em água, com capacidade de dissolver substâncias polares e apolares (17). Possui baixa toxicidade e é aprovado pelo FDA para uso terapêutico em aplicações tópicas e para tratamento de cistites intersticiais através de infusão direta na bexiga. O DMSO penetra facilmente membranas biológicas, facilita o transporte químico em tecidos e é bem conhecido pelos seus efeitos crioprotetores em sistemas biológicos (17, 18). Em alguns países da Europa, o DMSO é utilizado com agente carregador de princípios ativos tópicos, pois possui a capacidade de penetrar na pele íntegra levando o princípio ativo para camadas teciduais mais profundas sem danificar a epiderme. Em virtude dessas características, a proposta desse estudo foi de avaliar a influência do uso de DMSO como solvente na formulação de sistemas adesivos total-etch na resistência de união à dentina. As hipóteses testadas foram que (i) o uso de DMSO não influencia a resistência de união dentinária, (ii) reduziu tanto a quantidade de fibrilas colágenas expostas na interface adesiva, assim como (iii) a expressão de nanoinfiltração. O trabalho foi realizado em 52 terceiros molares humanos os quais, divididos em grupos pré-determinados, receberam a aplicação de adesivos experimentais contendo DMSO e foram restaurados, cortados em palitos, os quais participaram do ensaio de microtração. Após serem quebrados e preparados para microscopia, os palitos, foram submetidos à análise de padrão de falha em MEV, e análise de fibrilas colágenas expostas.

3. PROPOSIÇÃO

Avaliar a influência do uso de DMSO como solvente incorporado em diferentes concentrações em um sistema adesivo experimental à base de BISGMA e HEMA na resistência de união dentinária, assim como verificar a influência desse solvente na quantidade de fibrilas colágenas expostas remanescentes na base da camada híbrida.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Comentários éticos sobre a pesquisa

Os métodos não afetaram os sujeitos, pois os ensaios metodológicos foram executados em dentes doados previamente extraídos. A indicação de extração não estava relacionada a esse projeto. Não houve contato com os sujeitos durante a execução do projeto. Não houve benefícios diretos ao sujeito de pesquisa uma vez que a indicação de extração não estava relacionada ao projeto de pesquisa. Não houve a participação de sujeitos menores de idade não constituindo grupos vulneráveis. Não houve indenização aos doadores, pois não houve riscos associados ao projeto de pesquisa uma vez que todos os procedimentos laboratoriais foram realizados no elemento dental extraído.

Delineamento experimental

Unidades experimentais: 52 terceiros molares humanos

Características gerais da população a estudar: Não foi possível identificar os indivíduos doadores das amostras biológicas, pois estas foram entregues em recipiente único sem distinção.

Fatores em estudo: sistemas adesivos em 4 níveis [concentração de DMSO no adesivo: 0%, 10%, 20%, 50%].

Variável resposta: (n=10) resistência de união (Mpa) e (n=3) espessura da camada de fibrilas colágenas expostas sem encapsulamento pelo sistema adesivo (μm).

Métodos experimentais: Teste de resistência de microtração, avaliação de fibras colágenas expostas por microscopia de luz.

Descrição detalhada dos métodos que afetam os sujeitos da pesquisa: Os métodos não afetaram os sujeitos, pois os ensaios metodológicos foram executados nos dentes doados que foram previamente extraídos. Não houve contato com os sujeitos durante a execução do projeto.

Aspectos éticos:

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP (protocolo número 080/2011).

Seleção e Preparo Oclusal dos Dentes:

Foram utilizados para esta pesquisa apenas terceiros molares humanos. Cinquenta e dois terceiros molares humanos hígidos foram doados por um dentista com consultório particular situado na cidade de Rio Claro. Os terceiros molares possuíam ápices completamente formados estando completamente ou parcialmente irrompidos, extraídos em pacientes de 17 a 25 anos de ambos os sexos. Os dentes foram armazenados em frasco único contendo água. Os dentes foram limpos por meio de curetagem periodontal e profilaxia com pedra pomes, e armazenados em água, por no máximo 6 meses a 4° C, até a sua utilização. Previamente ao preparo oclusal, cada elemento foi fixado em blocos de resina de poliestireno, 3 mm abaixo da junção cimento-esmalte mantendo as cúspides na mesma altura.

Após a polimerização da resina de poliestireno, a face oclusal de cada elemento dental foi cortada em uma cortadeira de precisão (Isomet 1000 Precision Saw, Buehler, Lake Buff, IL, EUA), com um disco diamantado em 375 RPM, com resfriamento de água constante. Somente o esmalte e parte da dentina superficial foram removidos. Essas superfícies foram examinadas com auxílio de lupa estereoscópica (Leica CLS 100) no aumento de 20x para verificar a completa ausência de esmalte. Caso exista esmalte remanescente, este será removido da mesma forma, sempre com o conjunto dente/resina de poliestireno fixado no suporte. Após realizado o desgaste oclusal, a superfície dentinária foi padronizada, porém, em uma máquina máquina politriz (Aropol 2v, Arotec, SP, Brasil) com lixas de carbureto de silício de granulação 600 (Norton, Campinas, Brasil), sob água corrente por 2 minutos, sendo submetidos a uma leve pressão manual. Os elementos dentais foram limpos em cuba ultrassônica, por 3 minutos e armazenados em água destilada para que não ocorresse desidratação da estrutura dental, permanecendo assim por no máximo duas horas até que se fossem restaurados.

Confecção dos adesivos

Foi manipulada uma mistura de 60% BISGMA, 40% HEMA, 0,6% canforoquinona, 1,2% EDAB, 0,1% BHT, sendo essas porcentagens calculadas por peso. Cinco adesivos experimentais, similares a adesivos *total-etch* de 1 passo, foram manipulados com quantidades crescentes do solvente DMSO (R1<R2<R3<R4). O adesivo R1 terá apenas o etanol como solvente; o adesivo R2 será composto por 10% DMSO + 90% etanol; o adesivo R3, 20% DMSO + 80%; o adesivo R4, 50% DMSO + 50% etanol. Para isso, soluções para solvatação serão preparadas nas concentrações já descritas para serem adicionadas a resina experimental de forma que a quantidade total de solventes foi de 10% (p/p).

Divisão dos grupos:

Quarenta dentes foram divididos aleatoriamente em quatro grupos (Tabela 2), de acordo com o adesivo experimental utilizado. Cada grupo foi restaurado utilizando um dos adesivos experimentais, que foram compostos por 10 dentes (n=10). Os doze dentes restantes foram divididos entre os quatro grupos para serem utilizados na análise de fibrilas colágenas expostas (n=3).

Tabela 1. Divisão dos grupos (n=10).

Grupo	Adesivo
1	R1
2	R2
3	R3
4	R4

Tabela 2. Adesivos e suas características.

Adesivo	Solventes %(p/p)	Composição %(p/p)
R1	<i>Etanol 100%</i>	60% BISGMA 40% HEMA 0,6% canforoquinona 1,2% EDAB 0,1% BHT
R2	DMSO 10% Etanol 90%	60% BISGMA 40% HEMA 0,6% canforoquinona 1,2% EDAB 0,1% BHT
R3	DMSO 20% Etanol 80%	60% BISGMA 40% HEMA 0,6% canforoquinona 1,2% EDAB 0,1% BHT
R4	DMSO 50% Etanol 50%	60% BISGMA 40% HEMA 0,6% canforoquinona 1,2% EDAB 0,1% BHT

Restauração:

Os dentes foram restaurados com um dos quatro sistemas adesivos manipulados de acordo com o grupo em que se encontram. Inicialmente foi realizado o condicionamento ácido com ácido fosfórico 35% (Condac, FGM, SC, Brasil) por 15 segundos seguidos de lavagem com jatos de água da seringa tríplice por 30 segundos. Foi realizado o controle de humidade com tiras de papel absorvente e, o sistema adesivo respectivo ao seu grupo será dispensado sobre a superfície dentinária com auxílio de um microbrush, utilizando a técnica de ativação, movimentos circulares de dentro para fora com uma leve pressão durante 15 segundos, sendo, este procedimento repetido por mais uma vez. Após a aplicação, foi feita a volatilização do solvente por 5 segundos e a remoção de excesso do adesivo, com microbrush. Sendo o tempo de aplicação e de volatilização dos adesivos padronizados por meio de cronômetro digital. A fotoativação foi realizada por meio de um aparelho fotopolimerizador a LED (Bluephase, Ivoclar Vivadent) a uma distância de 1 mm entre a ponta fotoativadora e a superfície dental por 20 segundos. Todos os grupos foram restaurados com a resina composta Filtek Z250 (3M ESPE, St Paul, MN, EUA) cor A2 que foi inserida em 4 incrementos (de 1mm de espessura) formando um bloco com 4,0mm de altura. Cada incremento foi fotoativado por 40 segundos a uma distância de 1 mm entre a ponta fotoativadora e a superfície da resina composta.

Confecção dos Palitos:

Após a restauração, o conjunto dente-restauração foi armazenado em umidade 100% relativa, permanecendo em estufa a 37° C por 24 horas até a secção dos palitos (n=10). Inicialmente, o bloco de resina de poliestireno foi fixado com um adesivo, à base de cianocrilato, a uma placa de acrílico que foi posicionada em uma cortadeira de precisão (Isomet 1000 Precision Saw, Buehler, Lake Buff, IL, EUA). Com um disco diamantado em 350 RPM foram realizadas secções ocluso-gengivais no sentido méso-distal até a junção amelo-cementária de forma que a espessura entre uma secção e outra fosse em torno de 0,8 mm. Em seguida, a placa de acrílico foi reposicionada

rotacionada em 90° e fixada novamente na cortadeira. A porção coronária foi recoberta com cera pegajosa. Similarmente, novas secções ocluso-gengivais foram realizadas, no entanto no sentido vestibulo-lingual respeitando a dimensão de 0,8 mm. A placa de acrílico foi removida da cortadeira de precisão, o conjunto dente-restauração foi descolado. Em seguida, foi feita uma secção paralela à face oclusal da restauração, 1mm abaixo da junção amelo-cementária, separando a porção coronária da porção, com disco diamantado em peça reta. Os palitos de área seccional de aproximadamente 0,8 mm² foram coletados, descartando-se os palitos da periferia. No mínimo 8 palitos compostos exclusivamente por dentina foram obtidos em cada elemento dental. Após essa seleção, os palitos foram lavados em água destilada, analisados em Lupa Estereoscópica (Leica CLS 100) no aumento de 20X para verificar a completa ausência de esmalte e mantidos em água destilada, na estufa a 37°C, por no máximo 24 horas até que se realizasse o ensaio mecânico de microtração.

Ensaio de Microtração:

A dimensão exata de cada palito foi obtida utilizando um micrômetro digital (Digimatic Micrometer, Mitutoyo, Japão). Os palitos foram secos em papel toalha (Snack, Melhoramentos Papéis Ltda., Caieiras, SP, Brasil) e fixados na garra do dispositivo de Geraldelli (Patzlaff Biotechnology, SC, Brasil) com um adesivo a base de cianocrilato gel (Super Bonder Flex Gel, Loctite, SP, Brasil). O adesivo à base de cianocrilato foi colocado entre o palito e o dispositivo, nas extremidades laterais e superiores, e recobrendo a porção superior do palito, sempre evitando o seu contato com a interface adesiva, entre a porção de dentina e a porção de material restaurador. Um acelerador de cura específico para adesivos à base de cianocrilato (Zapit Accelerator, Dental Ventures of America, Corona, CA, EUA) foi espirrado no adesivo à base de cianocrilato, aguardaram-se 3 minutos e então a garra foi levada ao Dispositivo de Geraldelli que se encontrara acoplado a máquina de ensaio mecânico (DL 2000, EMIC, São José dos Pinhais, PR, Brasil). Os palitos foram, então, tracionados a uma velocidade de 0,5 mm/min e o valor da força no momento da ruptura se foi obtida em Newtons (N). Em seguida foi calculada a resistência de união em MPa utilizando a

fórmula: $\text{MPa} = \text{N}/\text{mm}^2$. Os palitos que se soltaram “*gripping failure*”, e os que falharam prematuramente durante o ensaio, não foram considerados estatisticamente, sendo considerados como valores nulos. Um total de oito palitos por dente foi utilizado para o ensaio de microtração. A média desses valores foi determinada constituindo o valor de cada elemento dental para análise estatística. O teste de ANOVA seguido pelo Teste de Tukey foram utilizados para determinar as diferenças estatísticas entre os grupos.

Análise do padrão de falha:

Após a ruptura, os palitos foram preparados para avaliação do padrão de falha por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Estes, foram fixados com resina composta Filtek Z250 (3M ESPE, St Paul, MN, EUA) cor A2 em um *stubs* de alumínio de 37 mm de diâmetro por 3 mm de espessura, os palitos foram desidratados em sílica por doze horas. Os espécimes foram cobertos com ouro em alto vácuo em um processo denominado *sputtering* (MED 010, Balzers Union, Balzers, Liechtenstein) e foram analisados sob a magnificação de 1000-5000X em microscópio eletrônico de varredura (LEO 435 LP, Zeiss, Liechtenstein) operando em modo de elétrons secundários. As imagens foram analisadas por dois pesquisadores duplo-cegos com experiência em microscopia eletrônica de varredura. O padrão de falha foi classificado em: i) coesiva em adesivo, ii) na camada híbrida, iii) coesiva em dentina, iv) mista entre camada híbrida e adesivo, v) mista entre adesivo e resina composta e vi) coesiva em resina composta. (Breschi 2009)

Confecção das fatias:

Os três dentes restantes em cada grupo, inclusos em resina de poliestireno, foram posicionados em uma cortadeira de precisão (Isomet 1000 Precision Saw, Buehler, Lake Buff, IL, EUA). Com um disco diamantado em 375 RPM foram realizadas secções ocluso-gengivais no sentido méso-distal até a junção amelo-cementária de forma que a espessura entre uma secção e outra fosse em torno de 0,2 mm. Um

mínimo de 10 fatias foi obtido em cada dente. Em seguida, um corte no sentido vestibulo-lingual perpendicular ao longo do dente 1 mm abaixo da junção cimento-esmalte foi realizado. As fatias foram armazenadas em água destilada até serem respectivamente preparadas para microscopia ótica.

Análise de fibrilas colágenas expostas:

As fatias foram coladas individualmente em lâminas de vidro para microscopia ótica com um adesivo a base de cianocrilato (Super Bonder Flex Gel, Loctite, SP, Brasil). A espessura da fatia foi reduzida a 50 μm para permitir a passagem de luz para avaliação por meio de microscopia da espessura da camada de fibrilas colágenas que não foram impregnadas pelo sistema adesivo. Para isso, a espessura da fatia e da lâmina de vidro foi mensurada individualmente por meio de um micrômetro digital (Digimatic Micrometer, Mitutoyo, Japão) assim como, a espessura total do conjunto lâmina de vidro, camada de adesivo de cianocrilato. Dessa forma foi possível determinar a espessura da camada de adesivo de cianocrilato para cada amostra e conseqüentemente a espessura da fatia durante o seu desgaste. As fatias coladas nas lâminas de microscopia foram lixadas, sob irrigação constante de água, manualmente, com lixas de carbureto de silício de granulação 800 até que ocorresse a redução da espessura inicial à aproximadamente 100 μm . Em seguida foram lixadas com lixas de carbureto de silício de granulação 1500 até que a fatia atingisse uma espessura aproximada de 50 μm e finalmente foi utilizada uma lixa de granulação 2000. As amostras foram lavadas em cuba ultrassônica por 3 minutos, coradas com Coloração de Masson e avaliadas no microscópio ótico (DLMV, Leica, Áustria) em aumento de 400X. A espessura da camada de fibrilas colágenas exposta foi mensurada em seis pontos distintos equidistantes um do outro ao longo da interface de união do palito. A média desses valores foi determinada constituindo o valor de cada elemento dental para análise estatística. O teste de ANOVA seguido pelo Teste de Tukey HSD foram utilizados para determinar as diferenças estatísticas entre os grupos.

5. RESULTADOS

O teste ANOVA mostrou que houve diferença estatística $p < 0,001$ entre os adesivos testados; segundo o teste de Tukey não houve diferença estatística entre os adesivos de concentrações 0%, 10% e 20 %, já o grupo de 50%, apresentou valores inferiores aos demais. Os resultados estão descritos na tabela abaixo.

Tabela 1. Microtração de adesivos experimentais

Amostra	Média	Desvio padrao	
DMSO 0%	29,948	4,097	A
DMSO 10%	31,421	5,679	A
DMSO 20%	29,325	4,183	A
DMSO 50%	22,79	2,779	B

Valores médios em MPA e desvio padrão. Grupos identificados por letras diferentes na vertical representam diferenças estatisticamente significantes $p < 0,05$.

O padrão de falha foi predominantemente misto acima da camada híbrida para todas as concentrações de adesivos testados. Abaixo segue os tipos de padrão de falha, em MEV.

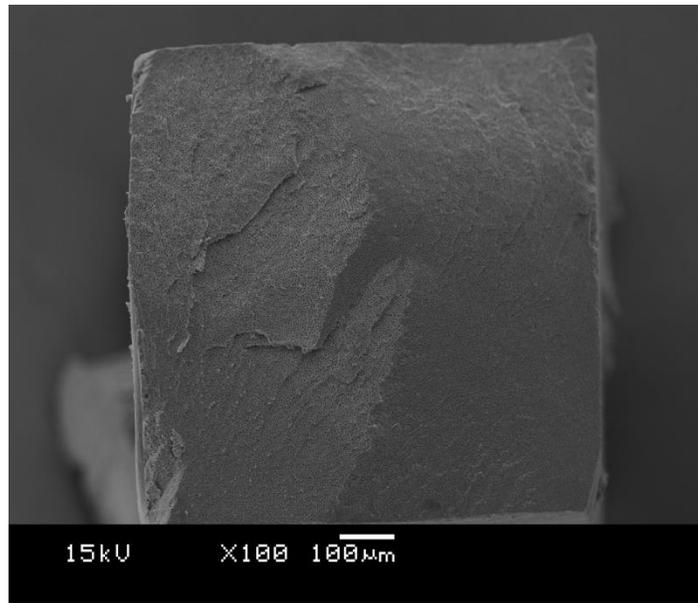


Imagem representativa do tipo de padrão de falha coesiva em dentina.

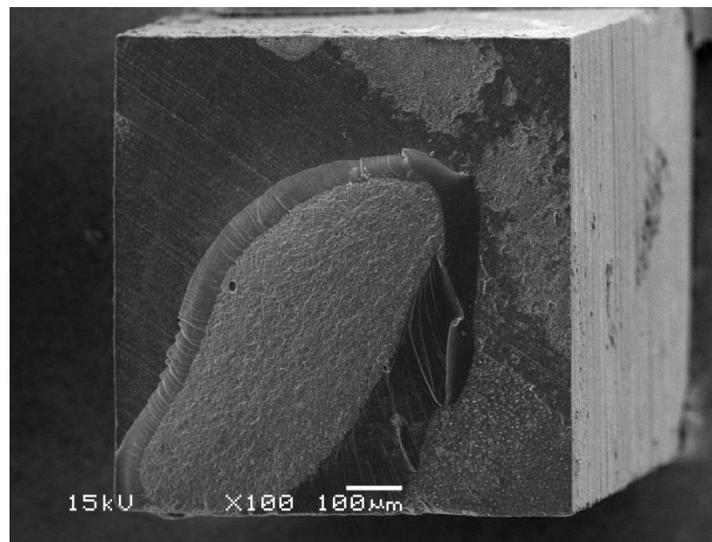


Imagem representativa do tipo de padrão de falha coesiva em adesivo

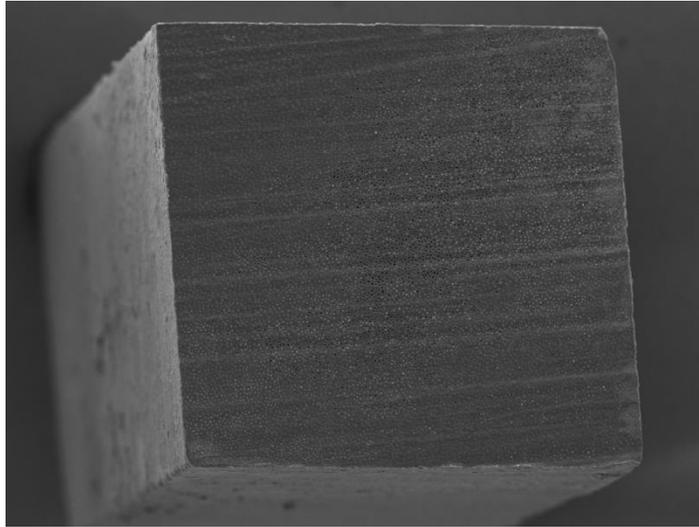


Imagem representativa do tipo de padrão de falha ii) camada híbrida

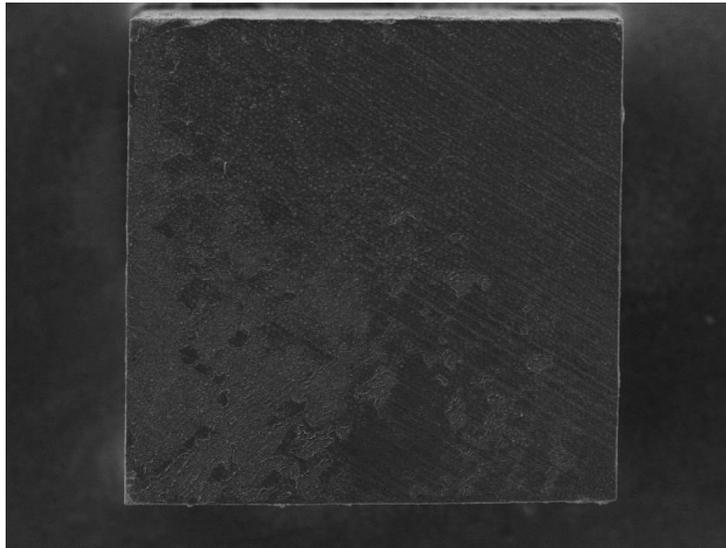


Imagem representativa do tipo de padrão de falha mista entre camada híbrida e adesivo.

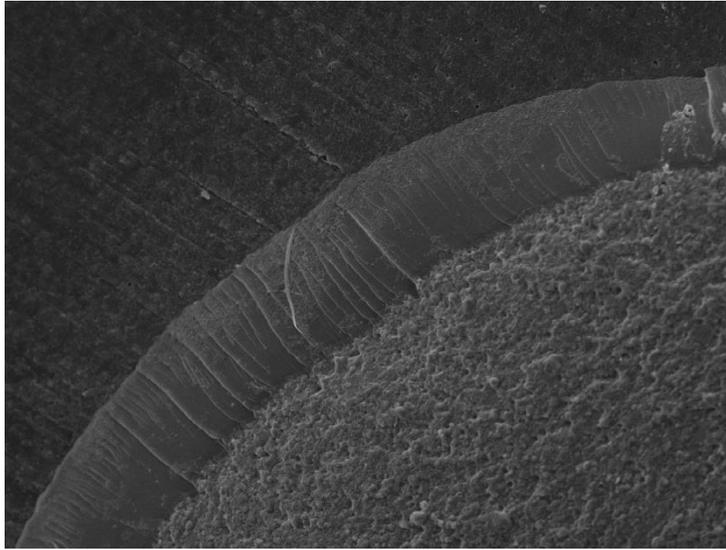


Imagem representativa do tipo de padrão de falha mista entre adesivo e resina composta.

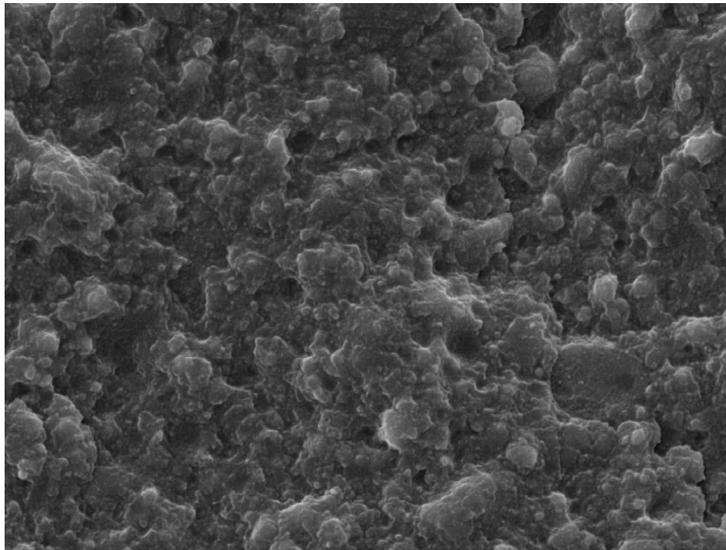


Imagem representativa do tipo de padrão de falha coesiva em resina composta.

A análise da espessura da camada de fibrilas colágenas que não foram impregnadas pelo sistema adesivo por microscopia ótica, não demonstrou diferenças significativas entre os grupos de 0, 10 e 20% de DMSO, mas houve um aumento significativo da camada de fibrilas colágenas expostas no grupo de 50%. Abaixo segue as imagens.

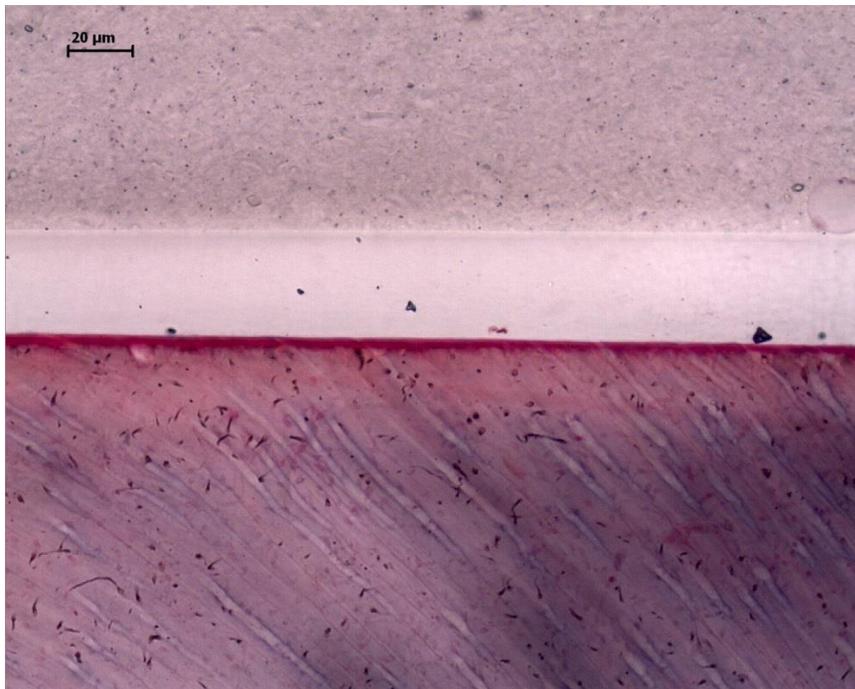


Imagem representativa - adesivo com 0% de DMSO.

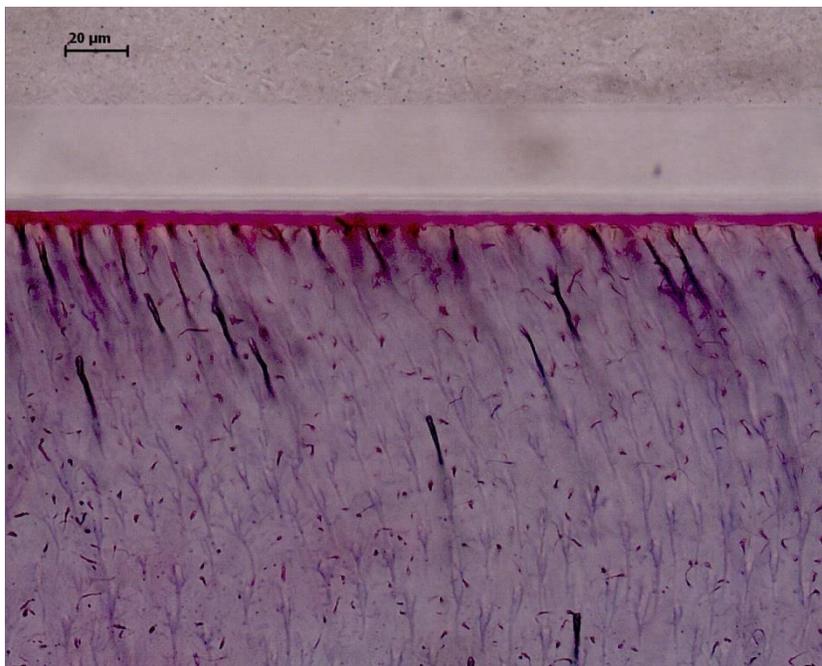


Imagem representativa – adesivo com 10% de DMSO.

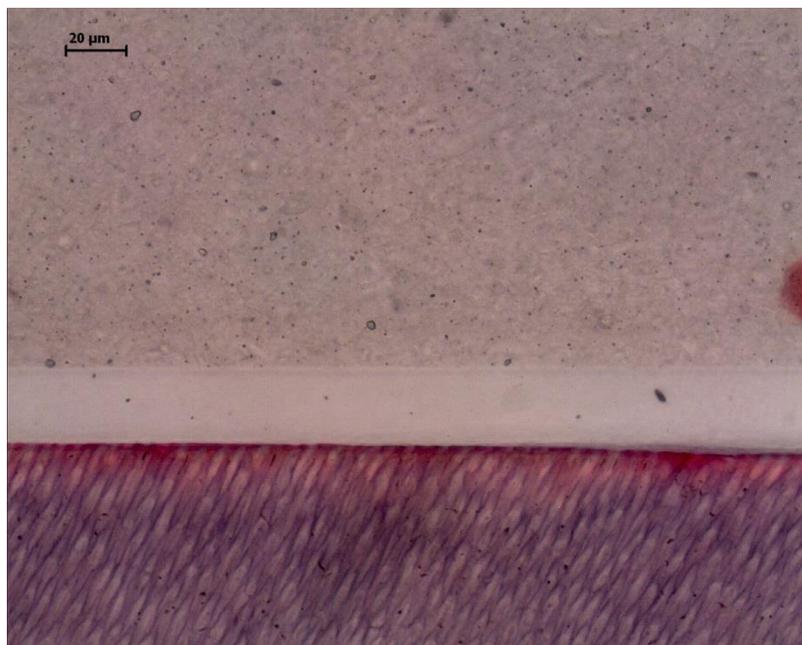


Imagem representativa – adesivo com 20% de DMSO

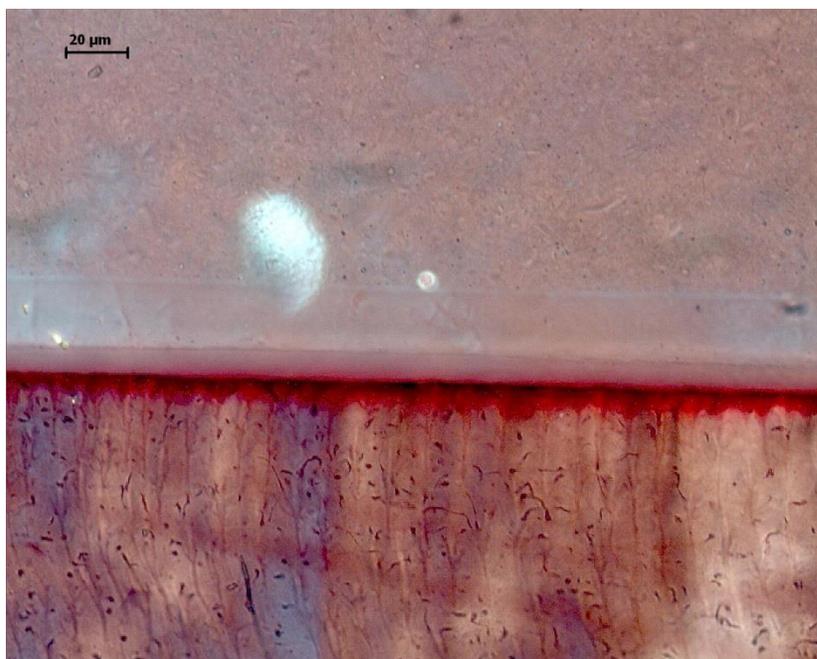


Imagem representativa – adesivo com 50% de DMSO.

6. DISCUSSÃO

Em função das propriedades de atenuar os efeitos deletérios da MMP-9 a regulação negativa, ao nível da transcrição (16) e, por ser um solvente aprótico e polar, a incorporação de DMSO à sistemas adesivos pode contribuir para melhora de suas propriedades.

Segundo nossos resultados, contudo as concentrações de 10% e 20% de DMSO nos adesivos testados não afetaram a resistência de união $p < 0,05$.

No entanto, quando utilizado em concentração 50% houve redução nos valores de resistência de união. Uma possível explicação para essa redução pode ser devido à maior dificuldade de volatilização desse solvente, quando comparado ao etanol. O adesivo composto por 50% de DMSO apresentava uma menor quantidade de etanol, resultando na presença de um maior remanescente de solventes, especialmente o DMSO, após a volatilização desses. Uma maior quantidade de solvente pode ter

influenciado as propriedades mecânicas do adesivo resultando na redução da resistência de união do grupo composto por 50% de DMSO.

Estudos anteriores sugerem que os solventes têm efeitos importantes sobre a resistência de união (20-23). Como esse estudo, onde, os adesivos que continham 10 ou 50% de etanol não obtiveram a penetração efetiva, a penetração dos adesivos aumentou dramaticamente, quando o teor de etanol inicial foi de 30%. (24)

Pode ser especulado, ainda, que a diferença na composição e concentração de solventes pode afetar a penetração de agentes de ligação adesiva e introduzir diferenças na estrutura da ligação formada na interface adesivo/dentina. (24). Esta diferença pode ser relacionada com uma variedade de fatores, incluindo a evaporação do elevado teor inicial de solvente levando a camadas híbridas porosas. Estudos têm indicado que o aumento do conteúdo de alguns solventes em adesivos de passo único reduz a resistência de união dentinária (25).

A formulação de sistemas adesivos tem sido principalmente determinada com base em resultados de estudos de resistência de união, combinados com análise morfológica em MEV. No presente estudo, foi associada uma metodologia para verificar de forma indireta a penetração dos sistemas adesivos experimentais através da avaliação do remanescente de fibras colágenas expostas. O que demonstrou maior exposição de fibrilas colágenas no grupo de 50%, que também obteve valores de microtração reduzidos.

7. CONCLUSÃO

Baseado nos resultados e levando em conta as limitações das metodologias utilizadas, podemos concluir que a utilização de DMSO como solvente não influenciou a resistência de união dos adesivos nas concentrações 10% e 20%, as concentrações maiores de 50% não devem ser utilizadas, pois, possivelmente provocam redução na resistência de união, ocasionando insucesso nas restaurações.

REFERÊNCIAS

1. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res*. 1982 May;16(3):265-73.
2. Carrilho MR, Geraldeli S, Tay F, de Goes MF, Carvalho RM, Tjaderhane L, et al. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res*. 2007 Jun;86(6):529-33.
3. Carrilho MR, Carvalho RM, Tay FR, Pashley DH. Effects of storage media on mechanical properties of adhesive systems. *Am J Dent*. 2004 Apr;17(2):104-8.
4. Hashimoto M, Fujita S, Kaga M, Yawaka Y. In vitro durability of one-bottle resin adhesives bonded to dentin. *Dent Mater J*. 2007 Sep;26(5):677-86.
5. Torkabadi S, Nakajima M, Ikeda M, Foxton RM, Tagami J. Bonding durability of HEMA-free and HEMA-containing one-step adhesives to dentine surrounded by bonded enamel. *J Dent*. 2008 Jan;36(1):80-6.
6. Mjor IA. The reasons for replacement and the age of failed restorations in general dental practice. *Acta Odontol Scand*. 1997 Jan;55(1):58-63.
7. Mjor IA, Moorhead JE, Dahl JE. Reasons for replacement of restorations in permanent teeth in general dental practice. *Int Dent J*. 2000 Dec;50(6):361-6.
8. Peumans M, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Five-year clinical effectiveness of a two-step self-etching adhesive. *J Adhes Dent*. 2007 Feb;9(1):7-10.
9. Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H. Degradation patterns of different adhesives and bonding procedures. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2003 Jul 15;66(1):324-30.
10. 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 Sep;24(21):3795-803.
11. Burrow MF, Satoh M, Tagami J. Dentin bond durability after three years using a dentin bonding agent with and without priming. *Dent Mater*. 1996 Sep;12(5):302-7.

12. Tay FR, Hashimoto M, Pashley DH, Peters MC, Lai SC, Yiu CK, et al. Aging affects two modes of nanoleakage expression in bonded dentin. *J Dent Res*. 2003 Jul;82(7):537-41.
13. Carrilho MR, Carvalho RM, Tay FR, Yiu C, Pashley DH. Durability of resin-dentin bonds related to water and oil storage. *Am J Dent*. 2005 Dec;18(6):315-9.
14. 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.
15. Carvalho RM, Pegoraro TA, Tay FR, Pegoraro LF, Silva NR, Pashley DH. Adhesive permeability affects coupling of resin cements that utilise self-etching primers to dentine. *J Dent*. 2004 Jan;32(1):55-65.
16. Majtan J, Majtan V. Dimethyl sulfoxide attenuates TNF-alpha-induced production of MMP-9 in human keratinocytes. *J Toxicol Environ Health A*. 2011 Oct 15;74(20):1319-22.
17. Jacob SW, Herschler RJ, Rosenbaum EE. Dimethyl sulfoxide (DMSO): laboratory and clinical evaluation. *J Am Vet Med Assoc*. 1965 Dec 15;147(12):1350-9.
18. Scaduto RC, Jr. Oxidation of DMSO and methanesulfinic acid by the hydroxyl radical. *Free Radic Biol Med*. 1995 Feb;18(2):271-7.
19. Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M. Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. *J Dent Res*. 2002 Jul;81(7):472-6.
20. Perdigao J, Frankenberger R. Effect of solvent and rewetting time on dentin adhesion. *Quintessence Int* 2001;32:385–390.
21. Reis A, Loguercio AD, Carvalho RM, Grande RH. Durability of resin dentin interfaces: Effects of surface moisture and adhesive solvent component. *Dent Mater* 2004;20:669–676.
22. Reis A, Oliveira MT, Giannini M, De Goes MF, Rueggeberg FA. The effect of organic solvents on one-bottle adhesives' bond strength to enamel and dentin. *Oper Dent* 2003;28:700– 706.
23. Gallo JR, Burgess JO, Xu X. Effect of delayed application on shear bond strength of four fifth-generation bonding systems. *Oper Dent* 2001;26:48–51.

24. Effect of solvent content on resin hybridization in wet dentin bonding Yong Wang,¹ Paulette Spencer,^{1,2} Xiaomei Yao,¹ Bohaty Brenda².

25. Cho BH, Dickens S. Effects of the acetone content of single solution dentin bonding agents on the adhesive layer thickness and the microtensile bond strength. Dent Mater 2004; 20:107–115.



**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 "**Avaliação de sistemas adesivos experimentais contendo DMSO na resistência de união dentinária e na morfologia da camada híbrida**", protocolo nº 070/2012, dos pesquisadores Luis Roberto Marcondes Martins, Mariana Costa Sartori e Thiago Henrique Scarabello Stape, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 05/11/2012.

The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project "**Influence of DMSO on dentin bond strength and hybrid layer morphology of experimental adhesive systems**", register number 070/2012, of Luis Roberto Marcondes Martins, Mariana Costa Sartori and Thiago Henrique Scarabello Stape, 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 11/05/2012.

Profa. Dra. Livia Maria Andaló Tenuta
Secretária
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.

PROGRAMA DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA – QUOTA INSTITUCIONAL UNICAMP

(quota de agosto de 2012 a julho de 2013)

PARECER SOBRE RELATÓRIO FINAL DE ATIVIDADES

Bolsista: MARIANA COSTA SARTORI – RA 105363

Orientador(a): Prof.(a) Dr.(a) LUIS ROBERTO MARCONDES MARTINS

Projeto: Avaliação de sistemas adesivos experimentais contendo DMSO na resistência de união dentinária e na morfologia da camada híbrida

PARECER

A bolsista conseguiu cumprir as etapas propostas no cronograma da pesquisa.

Conclusão do parecer:

**APROVAR(SIM)
REFORMULAR(NÃO)
REJEITAR(NÃO)**

Pró-Reitoria de Pesquisa, 16 de setembro de 2013



**Mirian Cristina Marcançola
PRP / PIBIC - Unicamp
Matr. 299062**