

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: DENTÍSTICA RESTAURADORA**

YASMINE BITENCOURT EMILIO MENDES

**EFEITO DA VARIABILIDADE REGIONAL DO SUBSTRATO DENTINÁRIO E
MODO DE APLICAÇÃO DE SISTEMAS ADESIVOS NAS PROPRIEDADES
MECÂNICAS DA CAMADA ADESIVA**

PONTA GROSSA

2010

YASMINE BITENCOURT EMILIO MENDES

**EFEITO DA VARIABILIDADE REGIONAL DO SUBSTRATO DENTINÁRIO E
MODO DE APLICAÇÃO DE SISTEMAS ADESIVOS NAS PROPRIEDADES
MECÂNICAS DA CAMADA ADESIVA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, no Curso de Mestrado em Odontologia - Área de concentração em Dentística Restauradora.

Orientador: Prof. Dr. João Carlos Gomes
Co-orientadores: Dr. Milton Domingos Michél
Profa. Dra. Osnara Maria Mongruel Gomes

PONTA GROSSA

2010

Ficha catalográfica elaborada pelo Setor de Processos Técnicos BICEN/UEPG

M538e Mendes, Yasmine Bitencourt Emilio
Efeito da variabilidade regional do substrato dentinário e modo
de aplicação de sistemas adesivos nas propriedades mecânicas da
camada adesiva. / Yasmine Bitencourt Emilio Mendes. Ponta Grossa,
2010.
94f.

Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de Concentração :
Dentística Restauradora)- Universidade Estadual de Ponta Grossa.
Orientador: Prof. Dr. João Carlos Gomes
Co-orientadores : Dr. Milton Domingos Michel e Profa. Dra.
Osnara Maria Mongruel Gomes

1. Sistemas adesivos. 2. Propriedades mecânicas .
3. Nanoindentação. I. Gomes, João Carlos. II. Michel, Milton
Domingos. III. Gomes, Osnara Maria. III. T

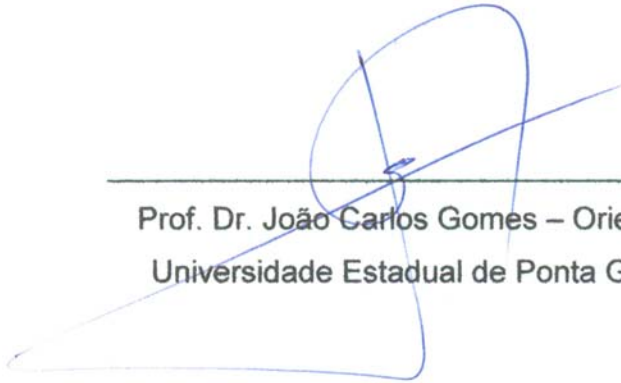
CDD : 617.67

YASMINE BITENCOURT EMILIO MENDES

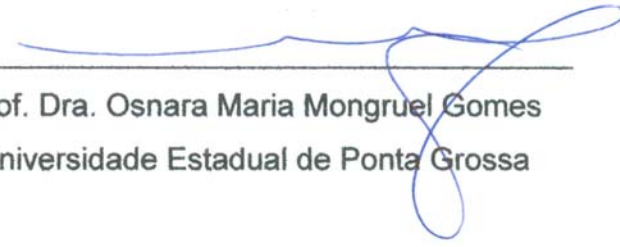
**EFEITO DA VARIABILIDADE REGIONAL DO SUBSTRATO DENTINÁRIO E
MODO DE APLICAÇÃO DE SISTEMAS ADESIVOS NAS PROPRIEDADES
MECÂNICAS DA CAMADA ADESIVA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, no Curso de Mestrado em Odontologia - Área de concentração em Dentística Restauradora.

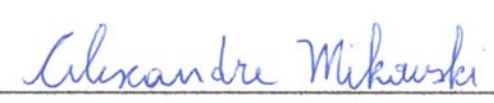
Ponta Grossa, 11 de fevereiro de 2010



Prof. Dr. João Carlos Gomes – Orientador
Universidade Estadual de Ponta Grossa



Prof. Dra. Osnara Maria Mongruel Gomes
Universidade Estadual de Ponta Grossa



Prof. Dr. Alexandre Mikowski
Universidade Federal do Paraná

Agradecimentos

A Deus, por ser capaz de iluminar minha existência e me fazer acreditar na possibilidade e na conquista do sucesso. Agradeço por me dar coragem para superar momentos difíceis, me protegendo para que eu possa continuar alcançando meus objetivos.

*Com todo carinho, amor e admiração, aos meus pais, **João Amílton Mendes** e **Marjorie Bitencourt Emílio Mendes**. Agradeço pela vida e por me ensinarem a viver com dignidade, por iluminarem meus caminhos obscuros por muitas vezes, com amor e dedicação para que prosseguisse sem medo. Agradeço pelo incentivo em minha educação e por muitas vezes abdicarem de seus próprios sonhos e aspirações em favor dos meus. Admiro suas forças por sempre manterem a felicidade em nosso lar, proporcionando momentos agradáveis ao lado dos meus irmãos e familiares! Vocês são meus exemplos de vida! Aos que eu amo muito, meu sincero agradecimento!*

*À minha querida irmã **Jessica**, minha amiga e companheira, muito obrigada por toda a força e alegria que nos mantém unidas. Admiro muito tua inteligência e teu dom da palavra, pois muitas vezes em poucas palavras, você diz tudo que eu precisava ouvir. E ao meu irmão, **Eríck**, que me dá todo amor e carinho que preciso para continuar o meu caminho. Quero estar sempre ao lado de vocês, trocar idéias e poder ajudá-los em seus objetivos, assim como sempre me ajudam! Eu amo muito vocês, obrigada por existirem em minha vida!*

*Ao meu esposo e grande amor, **Fabrizio Palermo Pupo**, que desde o primeiro dia que nos conhecemos, durante minha graduação, me incentivou a carreira docente. Durante esses oito anos me amou, me ajudou e ensinou a deixar meus trabalhos mais bonitos, sempre com suas idéias e suas motivações. Compreendeu que precisa dividir seu espaço entre meus livros, artigos e computador, sempre me ouvindo e me incentivando. Muito obrigada meu amor! Eu te amo e sempre vou te amar!*

*À **Universidade Estadual de Ponta Grossa**, na pessoa de seu reitor Prof. Dr. João Carlos Gomes pela oportunidade de realização do curso de Mestrado.*

À Universidade Federal do Paraná, na pessoa do Prof. Dr. Carlos Maurício Lepiêski, que gentilmente cedeu o aparelho nanoindentador utilizado nesta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pelo suporte financeiro concedendo bolsa de estudos durante todo o transcorrer do curso.

Ao meu orientador Prof. Dr. João Carlos Gomes, sempre prestativo e com palavras de incentivo na superação de desafios e dificuldades. Muito obrigada por me deixar à vontade para desenvolver o meu trabalho, me dar idéias, me ouvir e acima de tudo colaborar em todo o meu engrandecimento pessoal e profissional. Agradeço também o aprendizado no estágio do curso de Especialização em Dentística da ABO-PG.

À minha co-orientadora Prof^a. Dr^a. Osnara Maria Mongruel Gomes pela dedicação ao Curso de Mestrado em Odontologia da UEPG, mas principalmente pelos ensinamentos compartilhados e pela preocupação em deixar meu trabalho claro e conciso, nunca medindo esforços para me ouvir e sempre me recebendo com carinho.

Ao meu Co-orientador e amigo Dr. Milton Domingos Michél, uma pessoa brilhante, que aprendi a admirar e que me mostrou o quanto podemos crescer pessoal e profissionalmente quando temos vontade. Doou seu tempo e sua sabedoria para o desenvolvimento desta pesquisa. Não deixou passar uma palavra, corrigindo uma a uma com muito esmero e dedicação. Com paciência, ensinou passo a passo o que precisava fazer em meus testes e o porquê de cada etapa. Muito obrigada por toda sua generosidade, amizade e confiança.

Aos Profs. Dr. Alessandro Dourado Loguercio e Dr^a. Alessandra Reis, que sempre demonstram vontade em ajudar a todos pelo comprometimento e garra no crescimento do nosso curso. Agradeço por nunca hesitarem em compreender minhas dificuldades e por me ensinarem os primeiros passos para o desenvolvimento de uma pesquisa. Vocês abriram meus olhos com relação à análise estatística e interpretação de resultados, me forneceram explicações tornando o que para mim era extremamente complexo, algo simples e fantástico.

À minha grande amiga Juliana Aparecida de Campos Lawder, que desde o primeiro dia que a conheci me acolheu de braços abertos,

sempre com uma palavra doce, uma palavra amiga, nos dias de alegria, mas principalmente nos dias de tristeza. Desviava seu caminho para aproveitarmos os minutos até o Campus trocando nossas idéias e matando a saudade. Um exemplo de pessoa que deixa de seus afazeres por seus amigos e até mesmo pelos que nem sempre são tão amigos assim, por ser humana e acreditar nas pessoas. Sempre cultivarei nossa amizade com muito carinho!!!

*À minha grande amiga **Giovana Mongruel Gomes**, sempre me motivando para produzirmos mais e mais. Admiro muito sua inteligência e seu poder de conduzir as situações por mais difíceis que sejam. Apesar de nos conhecermos desde crianças, nestes dois anos de convivência vi o quanto você é amiga, sincera e companheira. Passamos por momentos difíceis juntas e soubemos conduzir sempre com uma palavra amiga e um simples gesto de carinho.*

*À minha amiga **Gislaine Martins**, pelo seu carinho e de sua mãe, sempre alegre e companheira orientando e sempre disponível a colaborar nos trabalhos desenvolvidos em nossas disciplinas.*

*À **Prof. Márcia Helena Baldani Pinto**, pela amizade e sabedoria transmitida, sempre me incentivando a pesquisar e a contribuir com a pesquisa científica na área de Saúde Bucal e Coletiva.*

*À querida **Prof. Vânia Queiroz**, pela amizade, conhecimentos compartilhados e momentos alegres juntamente com os alunos da Disciplina de Dentística Operatória durante o estágio docente. Sempre me recebeu com um carinho imenso, com palavras doces e uma educação inigualável. Admiro muito sua habilidade e capacidade em tudo que faz.*

À Morgana e ao Celso, pela atenção, competência, disposição e amizade.

*Aos Professores do Curso de Mestrado em Odontologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, **Abraham Lincoln Calixto**, **Benjamin de Melo Carvalho**, **Carlos Roberto Berger**, **Denise Stadler Wambier**, **Elizabete Brasil dos Santos**, **Fábio André dos Santos**, **Gislaine Denise Czulniak**, **Gibson Luiz Pilatti**, **Leide Mara Schmidt**, **Nara Hellen Campanha**, **Vitoldo Kozłowski Júnior** que dedicaram seu tempo, compartilharam experiências, para que nossa formação fosse*

também um aprendizado de vida. Àqueles que souberam ser mestres, e acima de tudo, grandes amigos.

Às bibliotecárias Ivani, Maria Luzia e Eunice, pela incessante busca aos artigos e atenciosa revisão das normas de formatação deste trabalho.

Às empresas 3M ESPE e IVOCLAR VIVADENT, por fornecerem os materiais necessários para realização desta pesquisa.

Aos meus queridos amigos e colegas de mestrado, Daniel, Yileng, Rícélia, Luis Alfonso, Miguel, Alexandra, Carlos, João Paulo, Stella, Síndianara, Tatiana e Rafael, sempre me recebendo com um sorriso e unidos na busca de sermos os melhores. Agradeço pela alegria irradiada por todos vocês, pelos conhecimentos adquiridos e trocas de informações, que me fizeram crescer pessoalmente. Parabéns a todos por todas as conquistas desses últimos dois anos, atingindo os objetivos requeridos pelo nosso curso. Espero sempre podermos contar um com os outros e sempre deixar que a saudade nos faça lembrar o que passamos no transcorrer desses dois anos, das dificuldades que superamos, mas principalmente da felicidade de saber que construímos amigos e que precisamos cultivar estas amizades por mais distantes que estivermos.

Ao Prof. Dr. Alexandre Mikowski, por ter gentilmente aceitado o convite para participar de minha banca examinadora e pelas valiosas contribuições prestadas.

A todas as pessoas que de uma forma ou de outra contribuíram para realização deste estudo.

DADOS CURRICULARES
Yasmine Bitencourt Emilio Mendes

NASCIMENTO 23.12.1983	Ponta Grossa, Paraná – Brasil
FILIAÇÃO	Marjorie Bitencourt Emilio Mendes João Amilton Mendes
2002 – 2006	Curso de Graduação em Odontologia Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) – Ponta Grossa – PR, Brasil
2004 – 2004	Curso de Aperfeiçoamento em Oclusão. Centro Paranaense de Formação Técnica, CENTPAR. Curitiba – PR, Brasil.
2006 – 2006	Curso de Aperfeiçoamento em Odontologia Estética Adesiva. Escola de Aperfeiçoamento Profissional. Associação Brasileira de Odontologia – Regional Ponta Grossa – PR, Brasil.
2007 - 2008	Curso de Aperfeiçoamento em Endodontia de Molares. Escola de Aperfeiçoamento Profissional. Associação Brasileira de Odontologia – Regional Ponta Grossa – PR, Brasil.
2008 – 2010	Curso de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração em Dentística Restauradora. Nível Mestrado. Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). Ponta Grossa – PR, Brasil.

RESUMO

Mendes YBE. Efeito da variabilidade regional do substrato dentinário e modo de aplicação de sistemas adesivos nas propriedades mecânicas da camada adesiva. [Dissertação Mestrado em Dentística Restauradora – Faculdade de Odontologia]. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa; 2010.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da forma de aplicação do sistema adesivo convencional Adper™ Single Bond 2 [SB] e dos sistemas adesivos autocondicionantes Adper™ SE Plus [SE] e AdheSE® [AD] e da profundidade dentinária nas propriedades mecânicas de dureza e módulo de elasticidade da camada adesiva por meio do teste de nanoindentação. As superfícies oclusais de 48 terceiros molares humanos hígidos foram seccionadas e a *smear layer* padronizada para a obtenção de uma superfície dentinária plana, em dois níveis: dentina superficial (DS) ou dentina profunda (DP). Os adesivos foram aplicados sobre a superfície dentinária em duas camadas de forma ativa (AA) ou forma passiva (AP) e fotoativados (10 s / 500 mW/cm²). Em seguida, foram restaurados incrementalmente e armazenados em água destilada por 24h. Os dentes foram seccionados em eixos “x” e “y” para obtenção de espécimes em forma de palitos de aproximadamente $0,8 \pm 0,1$ mm² de secção transversal, separando o palito central de cada dente para serem fixados em porta-amostra e polidos metalograficamente. O teste de nanoindentação foi realizado nas regiões da resina composta, camada adesiva e dentina. Os valores de dureza e módulo de elasticidade (GPa) da camada adesiva foram submetidos a uma análise de variância de três fatores e ao teste de Tukey para contraste das médias ($\alpha=0,05$), e também realizou-se a análise de variância de 2 fatores para cada adesivo isoladamente. As médias e os desvios padrões da dureza e do módulo de elasticidade (GPa) da resina composta foram respectivamente ($0,94 \pm 0,05$) e ($13,41 \pm 0,52$). Em dentina, a dureza foi ($0,82 \pm 0,06$) e o módulo de elasticidade ($17,51 \pm 0,71$). Para o grupo do SB na camada adesiva, os maiores valores de dureza ($0,32 \pm 0,02$) e módulo de elasticidade ($5,54 \pm 0,47$) foram obtidos no grupo DS. O módulo de elasticidade da camada adesiva do SE ($4,11 \pm 0,10$) foi menor para o grupo AA. Para a região da camada adesiva do AD, apenas a forma de aplicação foi estatisticamente significativa ($p=0,0041$), sendo a AA ($0,29 \pm 0,01$) maior que a AP ($0,26 \pm 0,01$) ($p=0,0042$). Concluiu-se que: 1) aplicação passiva em dentina superficial obteve maiores valores de dureza e módulo de elasticidade do SB e do SE, 2) a aplicação ativa em dentina profunda resultou em maiores valores das propriedades em estudo do SB, 3) aplicação ativa influenciou significativamente os valores de dureza na região da camada adesiva do AD tanto em dentina superficial quanto em profunda, porém não influenciou o módulo de elasticidade.

Palavras-chave: Sistemas adesivos. Propriedades mecânicas. Nanoindentação.

ABSTRACT

Mendes YBE. Effect of the regional variability of dentinal substrate and modes of application of adhesive systems in the mechanical properties of the adhesive layer. [Dissertação Mestrado em Dentística Restauradora – Faculdade de Odontologia]. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa; 2010.

The aim of this study was to assess the effect of different modes of application of a conventional adhesive system AdperTM Single Bond [SB] and of two self-etch adhesives AdperTM SE Plus [SE] and AdheSE® [AD] and influence of dentin depth on mechanical properties of hardness and elastic modulus of adhesive layer using the nanoindentation technique. The surfaces occlusal of 48 caries-free human third molars were removed and the *smear layer* standardized for the obtaining of a flat superficial dentin surface, in two levels: superficial dentine (DS) or deep dentine (DP). The adhesives were applied on the dentin surface in two layers, under active (AA) or passive (PA) application and photoactivated (10 s / 500 mW/cm²). After composite build-ups were constructed incrementally and were stored in water by 24 h. The teeth were sectioned in perpendicular direction to obtain specimens in form of bonded sticks with a cross-sectional area of $0.8 \pm 0.1 \text{ mm}^2$, separating the central bonded sticks of each tooth for they be fastened in sample holder and metallographic polishing. The test of nanoindentation was made on composite resin, adhesive system and dentin regions. The results of hardness and elastic modulus (GPa) of adhesive layer were analyzed by a three-way ANOVA and Tukey's multiple comparison tests ($\alpha=0.05$) and also took place the two-way ANOVA for each adhesive separately. The mean and standard deviation of hardness and elastic modulus values of composite resin (GPa) were respectively (0.94 ± 0.05) and (13.41 ± 0.52). In dentin, the hardness was (0.89 ± 0.06) and the elastic modulus (17.51 ± 0.71). In the adhesive layer, the highest hardness (0.32 ± 0.02) and elastic modulus (5.54 ± 0.47) of SB were obtained in DS group. The elastic modulus in the adhesive layer of SE (4.11 ± 0.10) was lowest in AA group. For the adhesive layer of AD, just the mode of application was statistically significant ($p=0.0041$), being AA (0.29 ± 0.01) larger than PA (0.26 ± 0.01) ($p=0.0042$). It was concluded that: 1) passive application in superficial dentine got greater values of hardness and modulus of elasticity of the SB and of SE, 2) the active application in deep dentine resulted in bigger values of the properties in study of SB, 3) active application significantly influenced the values of hardness in the area of the adhesive layer of the AD ones in such a way in superficial dentine how much in deep, but didn't influence the modulus.

Keywords: Adhesive systems. Mechanical properties. Nanoindentation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1-	A) Geometria do Indentador. B) Representação esquemática da curva típica da carga aplicada (mN) versus profundidade de penetração (nm) realizada para cada indentação na amostra. C) Perfil da superfície durante o processo de nanoindentação: P_{max} = carga máxima aplicada; h_{max} = profundidade de penetração; h_c = profundidade de contato (a altura do contato entre a ponta e a amostra); h_f = profundidade final; S = rigidez elástica de descarregamento.....	51
Figura 2-	Diagrama de funcionamento de um nanoindentador.....	52
Figura 3-	Esquema do desenho experimental do estudo.....	58
Figura 4-	A) Radiografia periapical para análise da proximidade da câmara pulpar; B) Molar hígido; C) Corte da superfície oclusal.....	59
Figura 5-	A) Dente após corte da superfície oclusal. B) Remoção do esmalte ao redor do dente.....	59
Figura 6-	Superfície do dente preparada com lixas de granulação #180 e #600, padronizando a <i>smear layer</i>	59
Figura 7-	Seqüência da aplicação do sistema adesivo convencional de 2 passos Adper™ Single Bond 2 [3M ESPE].....	61
Figura 8-	Seqüência da aplicação do sistema adesivo autocondicionante de 2 passos Adper™ SE Plus [3M ESPE].....	62
Figura 9-	Seqüência da aplicação do sistema adesivo autocondicionante de 2 passos AdheSE® [Ivoclar/Vivadent].....	63
Figura 10-	A) Dente restaurado e a região do palito a ser removido para o teste de nanoindentação delimitada pela cor vermelha. B) Dente fixado em suporte plástico com cera pegajosa.....	64
Figura 11-	Seqüência do corte dos espécimes. A) Máquina de corte Isomet 1000 ajustada para realização dos cortes; B) Realização dos cortes para obtenção dos espécimes; C) Obtenção dos espécimes; D) Espécimes em forma de palitos.....	65
Figura 12-	Polimento metalográfico. A) Polimento da amostra com lixas de decrescentes abrasividades. B) e C) Polimento da amostra com discos de feltro e pasta diamantada.....	66
Figura 13-	A) Porta-amostra com palitos polidos. B) Observação em microscópio óptico das superfícies devidamente polidas necessárias para o experimento de nanoindentação.....	66

Figura 14-	Vista do conjunto Nano Indenter® XP. A) Nano Indenter® XP. B) Porta-amostra com os palitos, situado sobre uma mesa que se movimenta, em relação ao microscópio ou ao penetrador. C) Conjunto de programação e controle formado pela estação de trabalho com seus periféricos. D) Cabine isoladora.....	67
Figura 15-	Microscópio óptico OLYMPUS–BX 51 (Olympus, Tokyo, Japão)...	69
Figura 16-	A) Metalizador (Shimadzu, Kyoto, Japão). B) Microscópio Eletrônico de Varredura (Shimadzu, Kyoto, Japão).....	69
Figura 17-	Fotomicrografias por MEV de nanoindentações na região da dentina (DE). A) 12 indentações dispostas em forma de matriz (4x3) na DE, com magnificação de 600X. B) Indentação na DE, com magnificação de 2400X.....	76
Figura 18-	Fotomicrografias por MEV de nanoindentações na região da resina composta (RC). A) 12 indentações dispostas em forma de matriz (4x3) na RC, com magnificação de 600X. B) Indentação na RC, com magnificação de 2400X.....	76
Figura 19-	Fotomicrografias por MEV de nanoindentações na região da camada adesiva (CA). A) Indentações realizadas em linha reta, no centro da camada adesiva, com magnificação de 700X. B) Indentação na CA, com magnificação de 1000X.....	77
Figura 20-	Fotomicrografias por MEV de nanoindentações na região da camada adesiva (CA). A) Indentações realizadas em linha reta, no centro da CA, com magnificação de 600X. B) Indentação na CA, com magnificação de 2000X.....	77
Gráfico 1-	Curvas da carga aplicada P (mN) versus profundidade de penetração h (nm), com 12 indentações na amostra, em que cada cor representa uma indentação.....	75
Quadro 1-	Materiais utilizados no estudo, fabricante, composição e lote.....	57
Quadro 2-	Modo de aplicação dos sistemas adesivos.....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Valores das médias e desvios padrões da dureza (GPa) da camada adesiva para as diferentes condições experimentais do estudo.....	71
Tabela 2-	Valores das médias e desvios padrões do módulo de elasticidade (GPa) da camada adesiva para as diferentes condições experimentais do estudo.....	72
Tabela 3-	Valores das médias e desvios padrões da dureza (GPa) da camada adesiva para o sistema adesivo Adper TM Single Bond 2...	73
Tabela 4-	Valores das médias e desvios padrões do módulo de elasticidade (GPa) da camada adesiva para o sistema adesivo Adper TM Single Bond 2.....	73
Tabela 5-	Valores das médias e desvios padrões da dureza (GPa) da camada adesiva para o sistema adesivo Adper TM SE Plus.....	73
Tabela 6-	Valores das médias e desvios padrões do módulo de elasticidade (GPa) da camada adesiva para o sistema adesivo Adper TM SE Plus.....	74
Tabela 7-	Valores das médias e desvios padrões da dureza (GPa) da camada adesiva para o sistema adesivo AdheSE®.....	74
Tabela 8-	Valores das médias e desvios padrões do módulo de elasticidade (GPa) da camada adesiva para o sistema adesivo AdheSE®.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Área de contato
AA	Aplicação ativa
AP	Aplicação passiva
ANOVA	Análise de variância
ANCOVA	Análise de covariância
Bis-EMA	Bis-fenol polietileno glycol dimetacrilato (Bis-phenol polyethyleno glycol dimethacrylate)
Bis-GMA	Bis-fenol A-Glicidil Metacrilato (Bisphenol A-Glycidyl Methacrylate)
CCD	Dispositivo de carga acoplada
cm	Centímetro
cm ²	Centímetro quadrado
E	Módulo de elasticidade
E_i	Módulo de elasticidade do indentador
E_r	Módulo de elasticidade reduzido
ERD	Espessura de Remanescente Dentinário
EUA	Estados Unidos da América
Gf	grama-força
GPa	Gigapascal
H	Dureza
h_c	Profundidade de contato
HEMA	2-Hidroxietilmetacrilato
h_f	Profundidade final
h_{max}	Profundidade de penetração
LSD	Menor diferença significativa
MDP	10 Metacriloxidecil diidogeno fosfato
MDT	Microradiografia Digital Transversal
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MFA	Microscópio de Força Atômica
Mm	Milímetro
mm ²	Milímetro quadrado
mm/min	Milímetro por minuto

mN	Milínewton
MN/m ²	Meganewton por metro quadrado
MPa	Megapascal
mW/cm ²	Miliwatt por centímetro quadrado
nm	Nanômetro
nm/s	Nanômetro por segundo
<i>p</i>	Significância
<i>P_{max}</i>	Carga máxima aplicada
PLSD	Comparações múltiplas de diferenças mínimas significativas
PVC	Policloreto de vinila
Rpm	Rotação por minuto
<i>RU</i>	Resistência de União
s	Segundo
S	Rigidez elástica de descarregamento
TEGDMA	Trietilenoglicol dimetacrilato
TMPTM	Trimetilpropano trimetacrilato
UDMA	Uretano dimetacrilato
UEPG	Universidade Estadual de Ponta Grossa
UFPR	Universidade Federal do Paraná
<i>v</i>	Razão de Poisson da amostra
<i>v_i</i>	Razão de Poisson do penetrador
vs	Versus
μL	Microlitro
μm	Micrometro
μN	Micronewton
μTBS	Resistência de união à microtração

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa (nível de significância)
$\sim$	Aproximadamente
X	Aumento da lente óptica
$^{\circ}\text{C}$	Grau Celsius
=	Igual
$\pm$	Mais ou menos
>	Maior
<	Menor
TM	Marca registrada
#	Número
%	Porcentagem
®	Registrado

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1	Variabilidade regional do substrato dentinário.....	19
2.2	Sistemas adesivos.....	28
2.3	Nanoindentação.....	33
2.3.1	Princípios Gerais da Técnica de Nanoindentação.....	50
3	PROPOSIÇÃO.....	55
3.1	Proposição geral.....	55
3.2	Proposição específica.....	55
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	56
4.1	Delineamento experimental e materiais utilizados.....	56
4.2	Preparação das amostras.....	58
4.3	Fixação e polimento das amostras para o teste de nanoindentação.....	65
4.3.1	Ensaio de Nanoindentação.....	67
4.4	Análise das amostras: Microscopia Óptica e Eletrônica de Varredura.....	68
4.5	Análise Estatística.....	70
5	RESULTADOS.....	71
5.1	Dentina.....	71
5.2	Resina composta.....	71
5.3	Camada adesiva.....	71
5.4	Fotomicrografias obtidas em Microscopia Eletrônica de Varredura.....	75
6	DISCUSSÃO.....	78
7	CONCLUSÕES.....	86
	REFERÊNCIAS.....	87
	ANEXO A- Aprovação da Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa. COEP – UEPG.....	93

1 INTRODUÇÃO

Desde o início da Odontologia adesiva estabelecida com o condicionamento ácido do esmalte por Buonocore¹ (1955) tem-se buscado uma adesão em dentina tão eficiente quanto à obtida na estrutura de esmalte para o sucesso da crescente demanda de restaurações estéticas de resina composta. Sendo assim, diversos sistemas adesivos são lançados e pesquisados com o objetivo de buscar uma união efetiva com os diferentes substratos dentinários, resultando no desenvolvimento de vários sistemas de união, diferentes técnicas de condicionamento e tipos de aplicação.

A presença da *smear layer* e a composição da dentina dificultam os procedimentos adesivos (Swift et al.² 1997). Sendo assim, diferentes tratamentos da superfície de dentina para viabilizar a ação dos sistemas adesivos conduziram aos chamados sistemas adesivos convencionais que consistem na remoção total da *smear layer* por ácido e aplicação de *primer* que se impregna no substrato; e sistemas adesivos autocondicionantes que removem parcialmente a *smear layer* por um *primer* acidificado que desmineraliza a dentina e se mistura com a *smear layer* remanescente promovendo adesão ao substrato dentinário (Pashley et al.³ 1995).

Os adesivos autocondicionantes têm o intuito de reduzir os passos da técnica, diminuindo erros durante aplicação e manipulação. Outra vantagem é o fato de que a infiltração do sistema adesivo ocorre simultaneamente com o processo autocondicionante, sendo o risco de discrepância entre a área desmineralizada e a área infiltrada baixo ou inexistente (Van Meerbeek et al.⁴ 2003, Carvalho et al.⁵ 2004). Assim, evita-se o colapso das fibrilas de colágeno pela secagem com ar e a ocorrência de fibrilas desprotegidas pela resina aplicada (Carvalho et al.⁶ 2005).

À medida que as cavidades vão tornando-se mais profundas e mais próximas da polpa, ocorre variação na quantidade de túbulos, aumentando a umidade superficial da dentina e tornando crítica a ação dos *primers* (Uceda-Gómez et al.⁷ 2003). No sistema adesivo autocondicionante, como o ácido é incorporado ao *primer*, ao iniciar sua ação desmineralizadora, pode causar aumento da permeabilidade e, como consequência, tornar menos crítica a união à dentina (Pashley et al.⁸ 1996). Os adesivos que empregam condicionamento ácido são aparentemente mais sensíveis às diferenças regionais que os adesivos autocondicionantes (Owens, Johnson⁹ 2007).

Para melhorar o desempenho dos adesivos convencionais e autocondicionantes, algumas alternativas podem ser empregadas como a aplicação ativa do sistema adesivo (Miyazaki et al.¹⁰ 1996, Dal-Bianco et al.¹¹ 2006), o aumento do tempo de aplicação até o dobro ou triplo do recomendado (el-Din, Abd el-Mohsen¹² 2002, Miyazaki et al.¹³ 2002, Cardoso et al.¹⁴ 2005) e o aumento do número de camadas do adesivo aplicadas sobre o substrato dentinário (Frankenberger et al.¹⁵ 2001, Hashimoto et al.¹⁶ 2004, Ito et al.¹⁷ 2005, Nakaoki et al.¹⁸ 2005). Estas alternativas aceleram a evaporação dos solventes presentes nos sistemas adesivos e da água residual da superfície dentinária, além de permitir uma maior infiltração dos monômeros na dentina desmineralizada, o que pode contribuir para a formação de um polímero mais resistente e estável hidroliticamente (Carvalho et al.⁵ 2004).

Uma das técnicas recentemente utilizada para caracterizar as propriedades mecânicas dos materiais em regiões muito pequenas, é a técnica da nanoindentação, que consiste em fazer penetrar uma ponta de diamante no material, controlando e registrando a carga e a profundidade de penetração (Van Meerbeek et al.¹⁹ 1993, Higashi et al.²⁰ 2009). Os dados produzidos são colocados num diagrama força-deslocamento, que descreve uma curva denominada carga-descarga (Angker et al.²¹ 2005). A partir do método de Oliver e Pharr²² (1992), obtêm-se grandezas como, por exemplo, a dureza e o módulo de elasticidade (Van Meerbeek et al.¹⁹ 1993).

A resistência de união da interface resina-dentina, imediatamente e a longo prazo, foi significativamente melhorada aplicando vigorosamente sistemas adesivos convencionais (Dal Bianco et al.¹¹ 2006, Reis et al.²³ 2007). Pode-se atribuir este achado para a melhoria das propriedades mecânicas do polímero formado dentro da dentina desmineralizada (Higashi et al.²⁰ 2009). Desta maneira, o presente estudo tem como objetivo avaliar as propriedades mecânicas, dureza e módulo de elasticidade, na camada adesiva formada por adesivos convencionais e autocondicionantes, em função de diferentes formas de aplicação e em diferentes profundidades do substrato dentinário, utilizando a técnica de nanoindentação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Variabilidade regional do substrato dentinário

O desempenho clínico dos sistemas adesivos depende do substrato em que está sendo aplicado, devido às diferenças morfológicas existentes, sendo que a adesão ao esmalte apresenta uma tendência de ser considerada muito efetiva (Swift et al.² 1997). A adesão ao substrato dentinário é bem mais complexa, constituindo-se em um grande desafio, devido suas características intrínsecas e heterogêneas, da presença da *smear layer* e de suas características físicas e estruturais, como sua permeabilidade, grau de umidade e a área de dentina intertubular e peritubular que participarão da interface de união (Pashley & Carvalho²⁴ 1997).

Garberoglio e Brännstrom²⁵ (1976) realizaram um estudo por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para avaliar a composição e morfologia da dentina coronária em função da idade e distância da polpa. Dentes humanos permanentes (24 pré-molares, 5 molares e 1 incisivo) foram utilizados no estudo. Dezesesseis dentes foram obtidos de pacientes com 8 a 25 anos de idade e os outros quatorze dentes de pacientes com 40 a 60 anos de idade. Todos os dentes foram fixados em 10% de formalina imediatamente após a extração. Sete dos dentes foram fraturados com fórceps após congelamento em nitrogênio líquido ou propano por 2 minutos e então desidratados. Em 23 dentes, a cúspide vestibular ou a parte oclusal da coroa foi demarcada nos dois lados por uma ranhura feita com roda de diamante. Treze dos vinte e três dentes também foram fraturados longitudinalmente através do centro da superfície oclusal. Na extremidade entre as duas superfícies fraturadas, os túbulos foram fotografados em várias distâncias da polpa. A distância da polpa para a área estudada foi mensurada no MEV e com microscopia óptica de luz refletida. Nos outros dentes, a distância da área estudada por meio do MEV até a polpa foi mensurada em várias sessões descalcificadas através da polpa, ao longo de uma linha estudada por MEV na superfície fraturada. Perto da polpa o número de túbulos por milímetro quadrado foi 45.000 e com diâmetro de 2,5 µm; no meio da dentina havia 29.500 túbulos por mm², com diâmetro de 1,2 µm; na periferia os valores correspondentes foram 20.000 túbulos por mm² com diâmetro de 0,9 µm. O volume

dos túbulos na dentina coronal foi calculado como 10% do volume total de dentina coronal. Não foram encontradas grandes diferenças entre dentes velhos e jovens. O diâmetro dos túbulos aumentou consideravelmente nas superfícies fraturadas descalcificadas, devido à total remoção da dentina peritubular. Processos odontoblásticos foram vistos apenas nos túbulos próximos da polpa.

Pashley et al.²⁶ (1995) estabeleceram um modelo para calcular resistência de união de um sistema adesivo convencional em relação a profundidade de dentina e resistência coesiva da resina. A hipótese testada era que a resistência de união total era a soma das resistências dos prolongamentos resinosos, camada híbrida e da adesão superficial; sendo que cada uma destas três variáveis tem uma gama de valores que podem influenciar sua contribuição relativa. Estabeleceu-se como parâmetro o comprimento de um túbulo condicionado em 10 µm de profundidade, com um diâmetro na base de 3 µm e de 1 µm no extremo. Para calcular teoricamente a resistência de união, o número e dimensões dos túbulos dentinários seguiram os valores publicados por Garberoglio & Brännstrom²⁴ (1976). Sendo assim, para dentina profunda, que apresenta 0,1 - 0,5 mm de Espessura de Remanescente Dentinário (ERD), a área de dentina tubular é de 36% e as áreas intertubulares com resina infiltrada e adesão de superfície diminuem para 32% cada uma. Já na dentina superficial (ERD = 3,1-3,5 mm) a área de dentina tubular estaria presente em 6% na adesão e a dentina intertubular em 94%, sendo dividida em 50% para permeável e os outros 50% participaria da adesão superficial. A relativa contribuição da formação de prolongamentos resinosos, camada híbrida e adesão superficial, considerando a resistência coesiva da resina de 60 MN/m² em dentina superficial e profunda foi de 9, 68 e 23%, e 46, 41 e 14%, respectivamente. Os cálculos resultantes indicam o potencial para mais alta resistência de união em dentina profunda do que para dentina superficial e a importância de resistência coesiva da resina no desenvolvimento de fortes uniões. Os resultados de resistência de união estavam dentro da mesma ordem de magnitude de valores publicados anteriormente. Concluíram que tal modelo teórico de união dentinária pode identificar a importância relativa de variáveis envolvidas no substrato, resinas e adesão de superfície na resistência de união total.

Pashley e Carvalho²⁴ (1997) tiveram como objetivo revisar as variáveis existentes na estrutura da dentina e descrever a importância da penetração da resina nos túbulos dentinários e nos espaços criados entre as fibras colágenas pelo condicionamento ácido durante união a resina. Com relação à variabilidade existente entre as diferentes regiões da dentina, ressaltaram que em dentina superficial, a quantidade de túbulos é menor do que na dentina profunda, sendo a penetração na dentina intertubular, dependente do grau de porosidade que ocorre na matriz colágena devido ao condicionamento. Na dentina profunda, devido o maior número de túbulos, a permeabilidade intratubular da resina será responsável pela retenção e selamento, podendo sofrer interferência do fluído existente nos túbulos sob pressão pulpar. A camada de esfregaço apresenta limitada resistência, portanto somente duas opções existem para melhorar a resistência de união à dentina como remover esta camada ou desenvolver agentes que penetrem por meio da mesma dentro da matriz dentinária subjacente. Algumas alternativas, como técnica adesiva úmida têm apresentado vantagens devido à menor contração e ao aumento do módulo de elasticidade da matriz, desde que os solventes proporcionem uma perda gradual da água permitindo a ocupação dos poros com monômeros. Outro aspecto é o condicionamento ácido da dentina que produz mudanças profundas na composição química e nas propriedades físicas da matriz que podem influenciar a qualidade da união resina-dentina, sua resistência e durabilidade. Evidências estão comprovando que estas mudanças estruturais produzem profundas mudanças na permeabilidade da matriz de dentina para infiltração de monômeros resinosos.

Yoshikawa et al.²⁷ (1999) afirmaram que durante polimerização de resina composta, tensões de contração competem com a união resina-dentina até certo ponto podendo causar falhas na adesão, dependendo da configuração da cavidade, profundidade dentinária e técnica restauradora. Desta forma, avaliaram o fator da configuração cavitária (fator C) e espessura de remanescente dentinário (ERD) na resistência de união (RU) da resina a dentina em paredes de fundo de cavidades Classe I. O esmalte oclusal foi removido para expor uma dentina superficial plana como um controle (dentina superficial, fator C = 1) em terceiros molares humanos extraídos. Cavidades com 3 mm de altura x 4 mm de largura foram preparadas a uma profundidade de 2 mm abaixo da superfície de dentina (dentina profunda dentro de paredes de fundo, fator C = 3). Para avaliar a relação

entre fator C e ERD, removeram as paredes das cavidades, confeccionando uma superfície plana profunda para união (dentina profunda, fator C = 1). Os dentes foram restaurados com Clearfil Liner Bond II (LB II), One-Step (OS), ou Super-Bond D Liner D (DL), seguido da restauração em resina composta através de Clearfil Photo Posterior. Depois de 24 h de armazenamento em água, os dentes foram seccionados verticalmente em fatias de 0,7 mm de espessura e aparados para o teste de resistência a microtração, determinando a *RU* da resina unida a parede de fundo. Todos os grupos resultaram em *RU* alta na dentina superficial, mas OS e DL foram significativamente mais baixas as *RU* para a dentina profunda, fator C = 1. Utilizando o fator C = 3, pela criação de um preparo de cavidade tridimensional, as *RU* de todos os materiais diminuíram em torno de 21 a 35%, mas com diferença significativa ($p < 0,05$) apenas com DL. A padronização do substrato se mostrou homogênea durante a obtenção da dentina profunda com valores de espessura de remanescente dentinário entre $1,5 \pm 0,4 \mu\text{m}$ (LB II) e $1,2 \pm 0,2 \mu\text{m}$ (OS), no entanto para a dentina superficial foi mais irregular entre $1,9 \pm 0,5 \mu\text{m}$ (DL) e $3,1 \pm 0,5 \mu\text{m}$ (LB II), apresentando diferenças significativas. Observações por MEV de padrões de fratura mostraram que espécimes com *RU* altas, tenderam a exibir fraturas coesivas dentro da camada híbrida, enquanto espécimes que exibem baixas *RU* mostraram fraturas ao topo da camada híbrida. Concluíram que alguns adesivos não possuem adequada adesão em dentina profunda, tornando-se mais suscetíveis para tensão de contração de polimerização desenvolvida em cavidades que apresentam fator C alto.

Phrukkanon et al.²⁸ (1999) determinaram a influência da estrutura de dentina na resistência de união a microtração entre resina e dentina de dois sistemas adesivos dentinários Single Bond (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) e MF-102 (primer autocondicionante experimental, GC Corporation, Tóquio, Japão). O estudo foi separado em duas partes principais: mensuração da resistência de união e investigação da interface adesiva. Vinte e dois pré-molares humanos foram usados para a mensuração da resistência de união. Cada dente foi verticalmente seccionado, separando os dentes em mesial e distal. Uma metade do dente foi usada para adesivar a superfície perpendicular aos túbulos dentinários e outra metade adesivar a superfície paralela aos túbulos. Para cada metade, seis locais de dentina eram adesivados. Cada material era usado de acordo com as instruções do

fabricante. Foram confeccionados espécimes em forma de ampulheta cilíndricos de 1,2 mm de diâmetro à interface adesiva. Os espécimes foram tracionados a uma velocidade de aplicação de carga de 1 mm/min. Médias de resistência de união foram comparadas utilizando teste de comparação múltipla LSD (menor diferença significativa) de Fisher, ANOVA e o t-teste de Student. As superfícies fraturadas foram examinadas em MEV, e a frequência de modos de fratura foi comparada usando os testes Kruskal-Wallis e Mann-Whitney. Para a investigação da interface adesiva, quatro dentes foram preparados pelo mesmo procedimento usado para os espécimes de teste de resistência de união. As interfaces adesivas foram observadas após o tratamento ácido-base ou da fratura da interface adesiva, antes da investigação com um MEV. No sistema adesivo Adper Single Bond 2, a resistência de união para dentina de meia-raiz dentinária foi significativamente menor que para outros locais ($p < 0,05$). Porém, no sistema adesivo MF-102, não houve nenhuma diferença significativa para todos os locais ($p > 0,05$). MF-102 produziu uma boa adesão a todos os locais de dentina enquanto Adper Single Bond 2 mostrou uma zona porosa à base da camada híbrida. A adesão não foi influenciada através da orientação dos túbulos. Os resultados indicam que a união ao Adper Single Bond 2 pode ser afetada por sua capacidade de penetrar na dentina desmineralizada em locais diferentes de um dente. Concluíram que a adesão à estrutura do esmalte não é crítica como na dentina, pois os componentes estruturais e propriedades da dentina podem afetar diretamente a adesão, sendo as forças de união em dentina profunda, mais baixas que para dentina superficial. A penetração do *primer* e do adesivo pode ser afetada, assim como a união pelas diferentes localizações da dentina e orientação dos túbulos. Os fatores biológicos e clínicos, como dentina esclerosada e permeabilidade da dentina, também podem afetar a adesão dentinária.

Segundo Kaaden et al.²⁹ (2002), existe grande variabilidade nos diferentes substratos dentinários e que, idealmente, o sistema adesivo deveria ter igual comportamento em todas as regiões. Devido estas particularidades, avaliaram a resistência de união dos adesivos Clearfil SE Bond (SE), Prompt LPop (LP), e Etch&Prime 3.0 (EP). Padronizaram os diferentes substratos a partir da distância pulpar, seccionando os dentes longitudinalmente no sentido mesio-distal em uma máquina de cortes seriados. Em seguida, removeram o tecido pulpar com

instrumento cortante manual e embutiram os dentes com resina acrílica autopolimerizável em um cilindro de PVC (policroto de vinila) sem cobrir a câmara pulpar, que era preenchida com algodão úmido. As superfícies dos dentes foram lixadas em politriz com lixas de carbetto de silício 600. Assim, foram obtidos três substratos diferentes: esmalte ($n=30$), dentina superficial (2,0–2,5 mm distanciam a polpa) ($n=30$), e dentina profunda (0,5–1,0 mm para polpa) ($n=30$). Os valores médios (MPa) de *RU* para esmalte foram: SE (29,1), LP (22,4) e EP (21,5), sendo os resultados do EP significativamente superiores em esmalte com relação as outras regiões. Em dentina superficial as *RU* foram: SE (27,3), LP (8,4) e EP (3,2). Para dentina profunda: SE (20,2), LP (5,7) e EP (1,3). Concluíram que os resultados mais efetivos foram obtidos no esmalte, mas apenas o SE apresentou resistência de união promissora em dentina superficial e profunda.

A dureza e o módulo de elasticidade da dentina de molares decíduos, em diferentes profundidades, foram avaliados por Angker et al.³⁰ (2003). Oito primeiros molares decíduos foram seccionados axialmente no sentido méso-distal, embutidos em resina epóxica e polidos. Duas seqüências lineares de indentações foram determinadas da parede pulpar em direção a junção esmalte-dentina, paralelas aos túbulos dentinários, aplicando uma carga de 25 mN. Verificaram que não houve diferença significativa da dureza em regiões superficiais e de média profundidade ($0,91 \pm 0,15$ GPa e $0,85 \pm 0,19$ GPa, respectivamente), as quais foram superiores à dureza na dentina mais próxima à polpa ($0,52 \pm 0,24$ GPa). As mesmas observações foram válidas para o módulo de elasticidade, de $16,91 \pm 3,85$ GPa em dentina superficial, $17,06 \pm 3,09$ GPa em profundidade média e $11,59 \pm 3,95$ GPa em dentina profunda. Concluíram que a dureza e o módulo de elasticidade diminuem quando se aproximam da polpa, sendo isto de importância para o clínico na remoção de tecido em direção a câmara pulpar e na escolha do material restaurador mais apropriado em cavidades mais profundas, conduzindo melhor apoio mecânico a uma restauração.

Toledano et al.³¹ (2003) verificaram a resistência de união em dentina superficial e profunda de cinco sistemas adesivos, Adper Single Bond 2 (SB), Prime&Bond NT (PBNT), Excite (EX), Clearfil SE Bond (CSEB) e Etch&Prime 3.0 (E&P). As diferentes superfícies dentinárias foram obtidas por meio de cortes

transversais de terceiros molares confeccionados abaixo da junção esmalte-dentina ou acima da junção cimento-esmalte. Obteve-se a resistência de união dos sistemas adesivos pelo teste de microtração e análise da interface resina-dentina profunda e da nanoinfiltração por meio de microscopia eletrônica de transmissão (MET). Os resultados de múltipla comparação para o teste de microtração (MPa) e desvio padrão mostraram: SB (superficial $41,8 \pm 10,8$) e (profunda $41,1 \pm 15,3$); PBNT (superficial $44,4 \pm 14,6$) e (profunda $66,9 \pm 17,0$); EX (superficial $36,7 \pm 14,4$) e (profunda $51,5 \pm 10,6$); CSEB (superficial $43,7 \pm 23,9$) e (profunda $56,5 \pm 18,8$); E&P (superficial $27,9 \pm 11,8$) e (profunda $36,3 \pm 11,9$). Os dados obtidos não mostraram diferença estatística significativa entre as profundidades de dentina nos adesivos SB, CSEB e E&P, no entanto, para dentina profunda, os adesivos PBNT e EX mostraram melhor desempenho do que em dentina superficial. Os menores valores foram obtidos com E&P. A nanoinfiltração foi manifestada em extensão variável no interior das camadas híbridas examinadas. Para todas as profundidades todos os adesivos apresentaram predomínio de falhas mistas sobre as adesivas, com exceção do adesivo E&P que apresentou para ambas as profundidades um predomínio de fraturas adesivas sobre as mistas. Não foi observada falha coesiva, sendo que para o SB a porcentagem de falhas mistas na dentina superficial foi de 63,2% e na profunda de 62,8%. SB mostrou uma camada híbrida de aproximadamente 4 μ m de espessura, formação de prolongamentos resinosos, hibridização de túbulos laterais e uma face de separação do copolímero de ácido polialquenóico resultando em formações globulares eletrodensas dentro da camada de adesivo e sobre a camada de dentina desmineralizada. Também mostrou depósitos espessos de prata resultados da nanoinfiltração entre a camada híbrida e a dentina mineralizada. A μ TBS para dentina é dependente de ambos adesivos e substratos. O sistema autocondicionante mostrou desempenho similar em qualquer profundidade da dentina.

Sattabanasuk et al.³² (2004) investigaram os efeitos de características de superfície de dentina na resistência de união entre resina e dentina. A resistência de união ao cisalhamento mediadas por dois sistemas adesivos dentinários (Clearfil SE Bond e OptiBond Solo Plus) foi avaliado. Para cada material, superfícies planas de dentina foram preparadas de pré-molares superiores humanos alocados em oito grupos de acordo com três caracterizações; localização na dentina (oclusal ou

cervical), profundidade de dentina (superficial ou profunda) e orientação de túbulos de dentina (perpendicular ou paralelo). Para obter superfícies perpendiculares aos túbulos dentinários, cortes oclusais e da junção cimento-esmalte em direção a polpa forneciam fatias de 0,7 mm de dentina superficial e profunda. Na obtenção dos cortes paralelos aos túbulos dentinários, pré-molares eram seccionados ao meio separando cúspides vestibulares e linguais e destas metades eram originadas fatias de dentina superficial e profunda, sendo desta forma realizados os procedimentos adesivos paralelos aos túbulos. As áreas de dentina eram adesivadas de acordo com as instruções de cada fabricante. Cilindros plásticos de 0,75 mm de diâmetro e 0,5 mm de altura, previamente preparados, foram utilizados para auxiliar a inserção de resina composta. A união foi testada a uma tensão de cisalhamento com uma velocidade de aplicação de carga de 1 mm/min. As médias de resistência de união foram comparadas utilizando ANOVA e t-teste independente. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada em resistência de união ao cisalhamento baseado em localização de dentina. Clearfil SE Bond apresentou resistência de união mais alta a espécimes de dentina profunda, unidos perpendicular aos túbulos comparado aos que foram adesivados paralelos aos túbulos. Considerando que, resultados opostos foram achados para espécimes de dentina profunda unidos com OptiBond Solo Plus. No caso de dentina superficial, não havia nenhuma diferença entre os dois materiais quando resistência de união foi comparada entre as orientações de diferentes túbulos. Os resultados indicaram que resistência de união ao cisalhamento pode ser afetada através de profundidade de dentina, orientação dos túbulos e o material utilizado, mas não por localização na dentina.

Loguercio et al.³³ (2005) verificaram se a dimensão de um espécime adesivo armazenado antes do teste de microtração e sua variação regional podem afetar a resistência de união (*RU*) resina-dentina com o passar do tempo. Trinta terceiros molares humanos tiveram uma superfície de dentina plana exposta e todo o esmalte periférico removido. Dois sistemas adesivos (Single-Bond e One-Step) foram aplicados e coroas de resina composta (Z250) foram construídas. Dentes foram divididos em três grupos ($n=5$). No grupo A espécimes foram seccionados para obter palitos para serem testados imediatamente por meio de ensaios mecânicos de microtração, com velocidade de aplicação de carga constante de 0,5 mm/min. No grupo B espécimes foram armazenados em água por 6 meses, antes

de seccionar e testar. O grupo C espécimes eram seccionados; os palitos armazenados durante 6 meses e testados. Nos grupos A e B, a origem dos palitos, periferia e regiões internas eram controladas. *RU* foi expressa como um índice que considera fraturas coesivas e valores calculados de desunião prematura dos espécimes. ANOVA de um fator e teste de Tukey ($\alpha = 0,05$) foram usados para comparar grupos A, B e C, e uma segunda aproximação analítica (A e B) empregou ANOVA de dois fatores (tempo vs diferenças regionais) para cada sistema adesivo. Para Single-Bond (SB), a *RU* para espécimes do grupo A era mais alta que para espécimes dos grupos B e C. Para One-Step (OS), a *RU* no grupo A era mais alto que para B no qual foi mais alto que para C. Na segunda aproximação de grupo, nenhuma diferença foi encontrada quando o teste foi executado imediatamente. Porém, depois de 6 meses, os palitos internos do grupo B mostraram *RU* significativamente mais alta. A quantia de diminuição em *RU* é dependente do tamanho do espécime; a diminuição em *RU* era maior para espécimes periféricos que espécimes situados mais centralmente.

Lopes et al.³⁴ (2006) compararam a resistência de união ao cisalhamento de três sistemas adesivos simplificados aplicados em dentina superficial e dentina profunda. Para dentina superficial, 30 molares humanos foram seccionados com um disco de diamante para expor a dentina imediatamente abaixo da junção esmalte-dentina. Para dentina profunda, 30 molares foram seccionados 3 mm abaixo da junção esmalte-dentina. Os dentes foram embutidos, polidos com lixa 600, e randomizados em 3 grupos (n=10): Single Bond e OptiBond Solo, adesivos condicionantes, e Clearfil Liner Bond 2V, adesivo autocondicionante. Após aplicação dos sistemas adesivos, os dentes foram restaurados com Filtek Z250. Depois de 24 horas em água a 37°C, a resistência de união foi mensurada com uma Máquina de Ensaio Universal Instron, utilizando o Software MTS Testworks para registrar os dados. A velocidade de aplicação de carga foi de 5 mm/min. Os dados foram analisados com ANOVA dois fatores e teste post-hoc de Duncan. Os resultados mostraram as seguintes resistências de união (média $\pm$ DP em MPa): Single Bond / dentina superficial = 22,1 $\pm$ 2,8; Single Bond / dentina profunda = 14,2 $\pm$ 7,0; OptiBond Solo / dentina superficial = 18,9 $\pm$ 4,1; OptiBond Solo / dentina profunda = 18,4 $\pm$ 4,8; Clearfil Liner Bond 2V / dentina superficial = 21,0 $\pm$ 7,4; Clearfil Liner Bond 2V / dentina profunda = 17,6 $\pm$ 5,9. Não houve diferenças significantes entre as

médias da resistência de união para o fator “sistema adesivo” ($p=0,822$). O teste de Duncan mostrou que o Single Bond resultou em mais alta resistência de união em dentina superficial do que em dentina profunda. A média da resistência de união para Clearfil Liner Bond 2V e OptiBond Solo não foi influenciada pela profundidade de dentina. Quando foram agrupados dados para profundidade dentinária, dentina profunda resultou em mais baixa resistência de união estatisticamente que dentina superficial ($p<0,01$). Concluiu-se que a influência da profundidade de dentina na resistência de união depende da composição específica do adesivo dentinário.

2.2 Sistemas adesivos

A adesão dos materiais restauradores à estrutura dentinária modificou os horizontes da odontologia moderna. Desde que Buonocore¹, em 1955, propôs o uso de ácidos inorgânicos para tornar a superfície do esmalte mais receptiva para a adesão, diversas estratégias foram desenvolvidas, buscando uma união estável e duradoura (Swift³⁵ 2002). Sendo assim, diversos estudos com sistemas adesivos convencionais e autocondicionantes propõem diferentes formas de aplicação desses materiais junto aos substratos dentais, com o objetivo de melhorar o desempenho clínico destes materiais.

Atualmente, os principais mecanismos de adesão se baseiam na remoção de minerais da estrutura dentária e sua substituição por monômeros resinosos, os quais polimerizam e se entrelaçam mecanicamente às porosidades criadas (Van Meerbeek et al.³⁶ 2005, De Munck et al.³⁷ 2005). Entretanto, o esmalte é um substrato relativamente estável, altamente mineralizado e com conteúdo reduzido de água, condições estas favoráveis à polimerização de monômeros, mesmo que estes sejam hidrofóbicos (Van Meerbeek et al.³⁸ 2001).

Yoshiyama et al.³⁹ (1998) em seu estudo propuseram observar a interface dentina-adesivo por meio de MEV após o tratamento com ácido fosfórico e hipoclorito de sódio e, medir a resistência de união à tração de dois sistemas adesivos autocondicionantes em diferentes regiões do esmalte e da dentina humana. Vinte incisivos hígidos humanos extraídos foram utilizados para medir a

resistência adesiva e 4 dentes adicionais foram usados para avaliação em MEV. Foi removida a porção vestibular da coroa ao ápice, preservando o esmalte do 1/3 incisal. Após procedimento adesivo com o sistema Clearfil Liner Bond 2 (LB2) e o Fluoro Bond (FB) os espécimes foram cortados serialmente em 15 secções (0,8 mm cada). As secções foram desbastadas, com auxílio de ponta diamantada super fina em alta rotação, contornando a região da interface adesiva dando uma forma curva nessa região e resultando em fatias com áreas de união de 1,0 mm². Doze espécimes foram preparados por região (4 dentes x 3 espécimes por região). As médias da resistência adesiva no LB2 e do FB foram maiores nas regiões da dentina coronária (28,9 e 30,5 MPa respectivamente). Entre as regiões da dentina coronária, cervical e do meio da raiz as diferenças não foram estatisticamente significativas, porém significativas quando essas regiões foram comparadas ao esmalte e a região apical ($p < 0,05$). Além disso, o exame com MEV revelou que a camada híbrida apresentou-se mais espessa na dentina coronária do que na dentina radicular, todavia, a resistência adesiva foi similar. Assim sendo, pode-se dizer que não existiu uma correlação entre a resistência adesiva e a espessura da camada híbrida.

Segundo Reis et al.⁴⁰ (2001) a forma de aplicação do adesivo também influencia no seu desempenho. De forma geral, os adesivos devem ser “esfregados” na superfície de dentina para facilitar a penetração dos monômeros pelas fibrilas de colágeno. Adesivos à base de água/álcool possuem menor pressão de vapor quando comparados com aqueles à base de acetona. Isso significa dizer que adesivos com solventes menos voláteis levam mais tempo para que ocorra a evaporação de todo o solvente e água residual fica presente na superfície desmineralizada. Sendo assim, esta água residual pode permanecer dentro da camada híbrida e da camada adesiva, diminuindo as propriedades mecânicas do polímero formado e consequentemente reduzindo os valores de resistência de união (Reis et al.²³ 2007). Hilton e Schwartz⁴¹ (1995) apontam outro aspecto de extrema importância que está relacionado à quantidade de aplicação dos adesivos. Usualmente, os pincéis empregados para aplicar o adesivo carregam quantidades muito maiores do que a necessária. Sendo assim, remove-se o excesso das camadas adesivas com jatos de ar. Essa prática pode comprometer a qualidade da união, pois a aplicação de jatos de ar resulta na incorporação de oxigênio, o que

compromete a polimerização e adesão. Ausiello et al.⁴² (2002) empregaram análise de elementos finitos tridimensional para simular se existe influência da espessura do adesivo no relaxamento do estresse da força de contração de polimerização da resina composta, afirmando que funcionam como uma camada resiliente capaz de absorver parte das tensões mastigatórias. Sendo assim, sugerem que o estresse gerado pela força de contração de polimerização da resina composta possa ser minimizado quando sistemas adesivos de baixo módulo de elasticidade são aplicados em camada menor; já os de maior módulo de elasticidade, deveriam ser aplicados em maior espessura para alcançar tal propósito.

Dal-Bianco et al.¹¹ (2006) avaliaram o efeito da umidade e forma de aplicação na resistência de união (RU) resina-dentina à microtração por meio de adesivos convencionais a base de etanol/água (Single Bond - SB) ou a base de acetona (One Step - OS). Foram utilizados sessenta terceiros molares humanos hígidos extraídos. A superfície dentinária superficial foi exposta por abrasão em água com lixa de carbetto de silício com granulação 180 e após com lixa de granulação 600 por 60 s para padronizar a *smear layer*. Foram coladas nas superfícies dentinárias uma fita adesiva com um orifício central de 4,1 mm de raio. Com o intuito de colapsar as fibras colágenas, as superfícies foram lavadas com água destilada por 15 s e secadas por 30 s. Duas camadas dos adesivos foram aplicadas na superfície seca ou reumedecida com diferentes quantidades de água destilada (1,5 µl para o SB e 3,5 µl para OS). A variação na quantidade de água seguiu os parâmetros de solubilidade de Hansen dos solventes presentes nos adesivos e às diferenças na pressão de vapor. Em seguida, os sistemas adesivos foram aplicados da seguinte forma: aplicação sem agitação (NRA), por aproximadamente 3 s e mantidos na superfície por 7 s para posterior jato de ar por 10 s; aplicação com suave agitação (SRA), levemente aplicado por 10 s seguido de jato de ar por 10 s, respeitando a força da pressão manual padronizada pelo operador na superfície de uma balança analítica em aproximadamente $4,0 \pm 1,0$ g; aplicação com vigorosa agitação (VRA), na qual o adesivo é vigorosamente agitado na superfície dentinária por 10 s, seguido de jato de ar por mais 10 s, com pressão manual padronizada em aproximadamente $34,5 \pm 6,9$ g. Após aplicação das duas camadas de adesivos, as superfícies dentinárias foram polimerizados (600 mW/cm^2)

por 10 s, restauradas com resina composta Z250 (3M ESPE, EUA) com incrementos de 1 mm fotoativados por 30 s e armazenadas em água destilada a 37°C por 24 h. Os espécimes preparados foram seccionados obtendo palitos com área de aproximadamente 0,8 mm² para serem submetidos ao teste de microtração na velocidade de aplicação de carga de 0,5 mm/min. Resultantes da *RU* foram expressos como um índice que inclui valores de *RU* dos diferentes padrões de fratura e foram eliminados os espécimes que fraturaram durante a preparação para o teste. Os dados foram analisados por ANOVA de três fatores e o teste de comparações múltiplas de Tukey ($\alpha=0,05$). As interações umidade/aplicação e adesivo/aplicação foram estatisticamente significantes ($p<0,05$). No grupo de dentina seca, a *RU* mais alta foi obtida em VRA ($37,11 \pm 7,3$). Em grupo de dentina úmida, a resistência de união em SRA ($41,82 \pm 8,4$) e VRA ($38,89 \pm 8,2$) foi semelhante. Para o sistema SB, os grupos SRA ($33,6 \pm 8,3$) e VRA ($41,26 \pm 5,9$) apresentaram *RU* semelhante enquanto para OS a VRA era essencial para alcançar alta *RU* ($34,2 \pm 8,4$). Sendo assim, conclui-se que alta *RU* para dentina seca pode ser obtida quando sistemas a base de etanol/água e sistemas a base de acetona são vigorosamente aplicados na superfície dentinária. Em dentina úmida, aplicação suave parece ser suficiente para proporcionar alta *RU* em dentina.

Gokce et al.⁴³ (2008) avaliaram o efeito do condicionamento ácido antes da aplicação do primer autocondicionante e o efeito de diferentes técnicas de aplicação do primer em dentina na resistência de união (*RU*) ao cisalhamento. As regiões cervicais de quarenta terceiros molares humanos foram usadas neste estudo. Os dentes foram divididos aleatoriamente em quatro grupos ($n=10$) com diferentes condições experimentais: grupo A: Clearfil Protect Primer aplicado suavemente (inativo) + Clearfil Protect Bond; grupo B: ácido fosfórico 38% por 15 s, lavagem 15 s, e jato de ar 15 s + Clearfil Protect Primer aplicado suavemente (inativo) + Clearfil Protect Bond; grupo C: Clearfil Protect Primer aplicado com agitação através de microbrush (ativo) + Clearfil Protect Bond; grupo D: ácido fosfórico 38% por 15 s, lavagem 15 s, e jato de ar 15 s + Clearfil Protect Primer aplicado com agitação através de microbrush (ativo) + Clearfil Protect Bond. O teste de *RU* ao cisalhamento foi executado com uma máquina de ensaio universal a uma velocidade de aplicação de carga de 1 mm/min. Os dados foram analisados com ANOVA de um fator e teste de comparações múltiplas de Tukey. Os valores das

médias e desvios padrões da SBS (MPa) foram: grupo A: $36,0 \pm 8,3$; grupo B: $24,0 \pm 3,9$; grupo C: $35,0 \pm 3,3$; grupo D: $30,6 \pm 6,7$. Concluiu-se que o condicionamento ácido diminuiu a *RU* ao cisalhamento do sistema adesivo autocondicionante a dentina. Aplicação ativa do primer autocondicionante, juntamente com o condicionamento ácido, aumentou a *RU* ao cisalhamento com relação ao grupo que foi feito o condicionamento, porém o primer foi aplicado suavemente.

Amaral et al.⁴⁴ (2009) avaliaram, *in vitro* resistência de união (*RU*) por microtração e análise ultramorfológica pela impregnação de nitrato de prata [INP] em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), variando a forma de aplicação (ativa e passiva) de adesivos autocondicionantes de passo único na dentina nos tempos imediato (*baseline*) (IM) e após seis meses (6M). Os três sistemas adesivos autocondicionantes de passo único utilizados foram Clearfil S3 Bond (S3), Xeno III (XE) e Adper Prompt L-Pop (AD). O esmalte oclusal de 30 molares humanos foi removido para expor a superfície de dentina. Os adesivos eram aplicados de dois modos: aplicação ativa (AA) ou aplicação passiva (AP). Depois de fotopolimerizados (600 mW/cm^2 por 10 s), foram construídas incrementalmente restaurações de resina composta e seccionados para obtenção de palitos ($0,8 \text{ mm}^2$) para serem testados em tração IM ou 6M de armazenamento em água. Para INP, três palitos de cada dente em cada momento foram recobertos com verniz de unha, colocados em nitrato de prata e polidos com lixas de carbetto de silício. Os dados de *RU* foram submetidos a ANOVA de dois fatores e ao teste de comparações múltiplas de Tukey para cada adesivo ($\alpha=0,05$). A AA mostrou *RU* mais alta em dentina quando comparada a AP em ambos os períodos de tempo ($p=0,001$). Apenas para AD, mais baixa *RU* foi verificada após 6M para as aplicações AA e AP. Os adesivos XE e S3 em AP mostraram uma quantia mais alta de penetração de nitrato de prata ao longo da camada híbrida. Baixa deposição de nitrato de prata foi vista para estes adesivos em aplicação AA. Depois de 6M, AD mostrou uma quantia mais alta de captação de nitrato de prata nas aplicações AA e AP. Concluiu-se que AA melhorou o desempenho adesivo de todos os sistemas adesivos autocondicionantes de passo único testados imediatamente e esta tendência foi mantida com o passar do tempo.

Botta et al.⁴⁵ (2009) avaliaram o efeito do preparo cavitário e métodos de aplicação de primer na adesão de resina composta a dentina utilizando um

sistema autocondicionante. Quarenta e oito molares humanos hígidos extraídos foram divididos em seis grupos ($n=8$) variando o método usado para a preparação de superfície dos dentes (lixa d'água de granulação 600, ponta de diamante e laser de Er:YAG) e o método de aplicação do primer (ativa ou passiva). Após o procedimento adesivo utilizando um sistema autocondicionante, 5 mm de altura foram construídas incrementalmente com resina composta Z-250. Depois de armazenamento em água a 37°C durante 24 horas, os espécimes eram verticalmente seccionados em forma de palitos de 1 mm² e testados para resistência a microtração. Nove molares adicionais eram preparados para análise morfológica por MEV. A análise estatística mostrou que a técnica de preparação da superfície ($p<0,00$) e métodos de aplicação do primer ($p<0,001$) influenciaram a resistência de união do sistema autocondicionante testado. A melhor adesão foi alcançada com espécimes que têm a dentina asperizada com lixa seguida por pontas de diamante. A união menos efetiva foi obtida com laser Er:YAG por ablação a dentina. O método de aplicação de primer ativo aumentou o desempenho da união comparado ao método passivo. Sendo assim, o tratamento de superfície pode influenciar a resistência de união do sistema autocondicionante testado e o método de aplicação do primer ativo é mais efetivo alcançando sucesso na união a dentina quando comparado com o método de aplicação passivo. Com relação à significação clínica, verificaram a eficácia do método de aplicação ativa do primer autocondicionante ácido moderado junto com uma preparação da superfície do dente apropriada para facilitar a resistência de união entre dentina e resina composta.

2.3 Nanoindentação

Van Meerbeek et al.¹⁹ (1993) empregaram a técnica de nanoindentação para investigar a interface adesiva formada por quatro sistemas adesivos sobre a dentina (All Bond 2 [Bisco], Clearfil Liner Bond [Kuraray], Mirage Bond [Chameleon] e Scotchbond Multi-Purpose [3M]), para confirmar o conceito de parede cavitária elástica, empregando uma carga de 1 mN e pontas indentadoras triangulares diminutas, monitoradas por computador. Terceiros molares humanos extraídos foram armazenados por 4 semanas a 4°C em solução aquosa contendo cloramina 0,5%. Foram preparados discos de dentina coronal com espessura de aproximadamente 1

a 1,5 mm. Para padronizar a *smear layer* foi utilizado lixa de carbetto de silício de granulação 600 friccionando a superfície dentinária por 60 s. Os sistemas adesivos foram aplicados de acordo com as indicações do fabricante, com exceção dos sistemas Clearfil Liner Bond e Scotchbond Multi-Purpose, que para aumentar a zona de interdifusão dentina-resina, foram condicionados por ácido fosfórico 40% em gel por 60 s. As superfícies adesivadas foram restauradas com uma resina composta de baixa viscosidade (Clearfil Protect Liner [Kuraray]). Em seguida, os discos de dentina restaurados foram cortados perpendicularmente a interface de união resina-dentina e individualmente embebidos em uma resina epóxica quimicamente polimerizável. Dois espécimes obtidos de diferentes dentes foram preparados para cada sistema adesivo. Após 14 h, os moldes de resina epóxica foram metalograficamente polidos com lixas de carbetto de silício de decrescente abrasividade (600, 1200 e 4000) e discos de feltros com suspensões diamantadas de 3 e 1 micras em combinação com uma solução lubrificante. Resíduos do polimento foram removidos ultrassonicamente por 5 min em cada amostra. Para iniciar o teste de nanoindentação, foram selecionadas as posições em que seriam realizadas as indentações a partir de uma câmera adaptada ao microscópio óptico, com magnificação máxima de 5000X, presente no conjunto do Nano Indenter (Nano Instruments, Inc., Knoxville, TN). Na dentina, indentações foram posicionadas na dentina intertubular precisamente entre os túbulos dentinários. Na zona de interdifusão resina-dentina, as posições foram selecionadas o mais próximo possível da camada de adesivo. Indentações foram também posicionadas no centro da massa de espessura relativa do adesivo e na camada de resina de baixa viscosidade. Como no nanoindentador, pequenas cargas de 1 a 20 mN podem ser aplicadas, foi necessário a calibração das indentações com dimensões adequadas para as diferentes regiões em estudo piloto. A velocidade de aproximação do indentador em direção à superfície da amostra foi de 5 nm/s. Após o contato, uma taxa de carregamento de 50 nm/s e uma carga limite de 5 mN foram programadas. Para a zona de inter-difusão dos sistemas adesivos condicionados com ácido fosfórico 40% gel por 60 s esta carga limite foi diminuída para 1 mN reduzindo o tamanho da indentação e posicionando completamente dentro da área da camada híbrida. A dureza de 0,496 GPa foi determinada para a área de dentina intertubular, que diferiu significativamente das zonas de interdifusão resina-dentina (0,148 a 0,196 GPa), dependendo do sistema adesivo utilizado. A resina microparticulada de baixa viscosidade obteve dureza de 0,197 GPa, enquanto que a

dureza dos diferentes adesivos variaram de 0,102 a 0,113 GPa. Quando a carga de 5 mN foi aplicada, o módulo de elasticidade da dentina inalterada (19,259 GPa) foi significativamente diferente dos valores da zona de interdifusão (8,157 a 9,687 GPa). Para os sistemas adesivos aplicados de forma modificada foi encontrada diferença significante no módulo de elasticidade quando uma carga de 1 ou 5 mN foi aplicada. A resina microparticulada de baixa viscosidade obteve módulo de elasticidade de 5,872 GPa e os adesivos dentinários sem carga com um baixo módulo de elasticidade de 4,171 GPa comportaram-se mais elasticamente. Sendo assim, este estudo revelou um gradiente do módulo de elasticidade através da área de união resina-dentina, validando assim o conceito de paredes cavitária elástica formulado por Kemp-Scholte e Davidson⁴⁶ (1990) em que a camada híbrida juntamente com a camada adesiva formam uma parede cavitária elástica artificial entre a contração da restauração e o substrato dentinário rígido e declararam que o estresse de contração não excederá a forte união dentinária se a camada adesiva possuir elasticidade suficiente para competir com a mudança dimensional do material restaurador durante a polimerização.

Willems et al.⁴⁷ (1993) utilizaram a técnica de nanoindentação para determinar a dureza e módulo de elasticidade de pequenas partículas de carga de treze compósitos posteriores (Adaptic II, Bis Fil P, Estilux Posterior CVS, Ful Fil Compules, Marathon, P-10, P-30 APC, P-50 APC, Post Comp II, Clearfil Ray Posterior, Restolux SP-4, Visiomolar Radiopaque, resina de partículas pré-polimerizadas), 3 cerâmicas dentais para restaurações CAD/CAM (Vita Mark I, Vita Mark II, Vita VMK 68N), 1 porcelana sinterizada (Dicor MGC) e 1 amálgama (Cavex non gamma 2). Os resultados foram comparados a dureza e módulo de elasticidade determinados pela nanoindentação em esmalte humano. Cada experimento de indentação consiste de seis segmentos. No primeiro segmento, a taxa de aproximação utilizada foi fixada em 5 nm/s. No seguinte segmento de carregamento, uma taxa de carregamento de 50 nm/s e uma carga limite de 10 mN foram impostas. Os dados foram submetidos a ANOVA e teste de Scheffé. Os valores de dureza atingiram de 0,16 GPa em resinas de partículas pré-polimerizadas para 8,84 GPa em partículas de quartzo na Visiomolar Radiopaque. O módulo de elasticidade variou de 15,8 GPa em resina de partículas pré-polimerizadas para 90,59 GPa no esmalte. Dos materiais testados, apenas cinco (Dicor MGC, P-30, Ful-Fil compules,

Post Comp II e Adaptic II) não contêm partículas de carga inorgânicas com nanodureza estatisticamente diferente do esmalte. Os dados de módulo de elasticidade mostraram não haver diferença estatisticamente significativa entre esmalte e amálgama. Os materiais restauradores odontológicos com exceção a fase de liga em amálgama, foram compostos de partículas com um módulo de elasticidade significativamente mais baixo quando comparado ao esmalte humano.

No estudo de Kinney et al.⁴⁸ (1996), um microscópio de força atômica foi utilizado para medir a dureza de dentina peritubular e intertubular completamente hidratada e em duas localizações de terceiros molares humanos: 0,5 a 1 mm da junção amelo-dentinária e 0,5 a 1 mm da polpa. Após os cortes nas alturas desejadas, as superfícies foram polidas com alumina 0,05 μm e limpas ultrassonicamente para remover a *smear layer* visível. Um microscópio de força atômica Nanoscope III (Instrumentos Digitais, Santa Barbara, CA, EUA) foi utilizado. Uma ponta convencional de Si_3N_4 montada em um suporte de silicone foi substituída por uma ponta de diamante em um suporte de aço inoxidável que tem significativamente maior dureza. Com um líquido celular desenvolvido especialmente, foi possível deixar a dentina debaixo de água, assegurando que as amostras permanecessem completamente hidratadas durante as medidas de dureza. Porém, devido à lentidão dos testes (tempo maior que 10 h) e a necessidade de longo tempo para obter a estabilidade térmica as indentações em água foram impedidas. Quarenta e duas indentações, dispostas em forma de matriz 6×7 , foram feitas em cada dente utilizando ponta de diamante piramidal Berkovich de base triangular. A distância deixada entre cada indentação foi de 10 μm e foram feitas em três profundidades: 500, 200 e 50 nm. Cada indentação teve nove diferentes segmentos. No primeiro segmento, a ponta aproximou da amostra a 10 nm/s. Após o contato ter sido estabelecido, a carga era calibrada para recuar o espécime a 10 nm/s até a profundidade especificada ser alcançada. Então a carga era constantemente monitorada até baixar para 0,1 nm/s. Nos últimos seis segmentos, a carga era calibrada para produzir três segmentos de descarregamento, dois segmentos que recarregam e um segmento mantendo a carga máxima aplicada em 20%. A calibração repetida de força foi utilizada para investigar a presença de deformação inelástica e o segmento de manutenção foi utilizado para observar alteração térmica. A velocidade da ponta durante os segmentos de recarregamento

e descarregamento eram aproximadamente 10 nm/s. A dureza da dentina peritubular completamente hidratada foi independente da localização e variou de 2,23 a 2,54 GPa. A dureza da dentina intertubular completamente hidratada dependeu da localização e foi significativamente maior próximo da junção esmalte-dentina (valores variaram de 0,49 a 0,52 GPa) do que próximo da polpa (0,12 a 0,18 GPa). Os valores de módulo alcançaram média de 29,8 GPa para a dentina peritubular (considerado ser um limite mais baixo) e variou de 17,7 a 21,1 GPa para a dentina intertubular, com os mais baixos valores obtidos para dentina próxima da polpa.

Sugizaki e Hanaoka⁴⁹ (2002) afirmaram que a variabilidade da dentina tem efeito na integridade da camada híbrida e no desempenho de sistemas adesivos. Sendo assim, tiveram como objetivo avaliar a camada híbrida formada em dentina afetada por cárie, comparado com dentina hígida, por meio de dureza, módulo de elasticidade, morfologia ultra-estrutural e distribuição de cálcio. Foram utilizados dois métodos de remoção de cáries: remoção mecânica convencional usando um Detector de Cáries e um método de remoção químico-mecânica (Carisolv). A dentina de cada dente foi condicionada com ácido fosfórico 35% durante 30 segundos e aplicou-se o sistema Scotchbond Multi-Purpose. Teste de nanoindentação foi realizado com uma carga de 2 mN. Obteve-se valor da dureza significativamente mais baixo para dentina afetada por cárie tratado com Carisolv (0,399 GPa), comparado com dentina hígida (0,776 GPa) e com Detector de Cáries (0,650 GPa). Porém, nenhuma diferença significativa foi observada em nos valores de dureza e módulo de elasticidade, obtidos da camada híbrida entre os três grupos, independente de diferenças no substrato de dentina. Valores de dureza ligeiramente mais alto (0,246-0,283 GPa) foram obtidos em camada híbrida quando comparado com a camada adesiva (0,216 GPa). O módulo de elasticidade da camada híbrida (10,7-11,4 GPa) foi de aproximadamente 1,6 vezes o valor da camada adesiva (6,8 GPa).

Takahashi et al.⁵⁰ (2002) avaliaram a relação entre a resistência de união a microtração para dentina e as propriedades mecânicas (máxima resistência a microtração, dureza e módulo de elasticidade) de adesivos resinosos. Vinte terceiros molares humanos extraídos tiveram suas superfícies de dentina coronal

preparadas, tratadas com quatro sistemas adesivos autocondicionantes (Clearfil SE Bond [Kuraray, Japão]; UniFil Bond [GC, Japão]; Tokuso Mac-Bond II [Tokuyama, Japão]; e Imperva Fluoro Bond [Shofu, Japão]) e restauradas incrementalmente com resina composta Clearfil AP-X [Kuraray, Japão] até 4 mm de espessura. Depois de 24 h de armazenamento em água a 37°C, os espécimes foram seccionados em 5 fatias de aproximadamente 0,7 mm de espessura. Cada fatia foi preparada em forma de ampulheta para criar uma área de união de aproximadamente 1 mm². Os espécimes foram fixados a um dispositivo para serem submetidos ao teste de resistência de união a microtração a uma velocidade de aplicação de carga de 1mm/min. As superfícies fraturadas foram observadas por MEV. Para testar as propriedades mecânicas, os adesivos foram colocados entre duas lâminas de vidro contendo espaçadores de silicone de 0,7 mm para controlar a espessura do adesivo que era polimerizado por 30 s. Após armazenamento por 24 h em 37°C para evitar sorção de água e liberação de monômeros não polimerizados em água, foram fixados os espécimes e preparados na forma de ampulheta. A máxima resistência de união a microtração foi medida a uma velocidade de aplicação de carga de 1 mm/min. Os experimentos de nanoindentação para obtenção da dureza e do módulo de elasticidade foram realizados usando um Nano Indenter (ENT-1100, Elionics Co., Hachioji, Japão) também utilizando adesivos polimerizados preparados da mesma maneira como descrito acima. Os dados de resistência de união a microtração para dentina, máxima resistência a microtração do adesivo resinoso, dureza e módulo de elasticidade dos adesivos polimerizados foram analisados por ANOVA de um fator. A correlação entre resistência de união a microtração e outras propriedades mecânicas foram avaliadas com o teste de correlação de Pearson. A frequência dos modos de fratura foi analisada pelo teste qui-quadrado. As médias da resistência de união a microtração para dentina e máximas resistências de união a microtração dos adesivos não foram significativamente diferentes entre todos os sistemas ($p>0,05$). Porém, a dureza (H) e módulo de elasticidade (E) dos sistemas adesivos Clearfil SE Bond ($H=0,154$ GPa e $E=4,7$ GPa) e Imperva Fluoro Bond ($H=0,127$ GPa e $E=4,9$ GPa) eram significativamente mais altas que UniFil Bond ($H=0,089$ GPa e $E=3,9$ GPa) e Tokuso Mac-Bond II ($H=0,081$ GPa e $E=3,1$ GPa) ($p<0,05$). A resistência de união a microtração a dentina correlacionou significativamente com a máxima resistência a microtração dos adesivos ($r^2=0,77$; $p<0,05$), mas não correlacionou significativamente com a dureza ou módulo de elasticidade ($p>0,05$). A observação

das superfícies em MEV revelou um tipo de fratura mista com uma combinação de interface e fratura coesiva no adesivo. Os quatro sistemas autocondicionantes exibiram similar resistência de união a dentina e também correlacionaram com a máxima resistência dos adesivos resinosos.

Cuy et al.⁵¹ (2002) utilizaram a técnica da nanoindentação para traçar as propriedades do esmalte dental em corte transversal axial em dois segundos molares superiores e em um terceiro molar superior. Variações locais nas características mecânicas foram correlacionadas com mudanças no conteúdo químico e microestrutural, pela profundidade total e duração de uma amostra. Antes do teste, cada um dos três dentes foi embutido em blocos de acrílico ou em resina epóxica. Os blocos foram cortados perpendicularmente no sentido vestibulo-lingual com um disco de diamante obtendo-se duas metades. Em seguida foram polidos até 1 μm com lixas de carvão de silício de tamanhos específicos (240, 320, 400, 600, 800 e 1200). Suspensões de pasta de diamante ou alumina com granulações decrescentes (9, 6, 3, e 1 μm) foram utilizadas para finalizar o polimento. Entre cada etapa do polimento, a superfície das amostras foi limpa suavemente utilizando água corrente, uma solução de sabão moderada e aplicadores de algodão. As metades mesiais das amostras preparadas eram escolhidas para o teste de nanoindentação, ao longo do qual foi investigado o perímetro exterior do esmalte (a superfície oclusal) e em seguida dirigidas a junção de esmalte-dentina. Indentações foram feitas a uma profundidade de 400 ou 800 nm e a ponta de diamante utilizada foi a Berkovich. As curvas das indentações foram obtidas por meio do Nanoindenter (MTS Systems Corp., Nano Instruments Innovation Center, Oak Ridge, TN). Dureza (H) foi calculada utilizando uma carga máxima e a respectiva área de contato, módulo de elasticidade (E) foi calculado utilizando um valor de 0,25 para coeficiente de Poisson. Para cada local na superfície de esmalte, valores de H e E foram determinados utilizando uma média de 5-10 indentações. No total, foram executados 2000-3000 nanoindentações por toda superfície do esmalte. Os espaçamentos entre as indentações individuais eram tipicamente 10-15 μm na área onde as propriedades mecânicas mudavam nitidamente (por exemplo, perto da superfície oclusal) e maior ($>20 \mu\text{m}$) em regiões onde as propriedades variaram gradualmente. Na superfície do esmalte $H > 6 \text{ GPa}$ e $E > 115 \text{ GPa}$, enquanto que na junção esmalte-dentina $H < 3 \text{ GPa}$ e $E < 70 \text{ GPa}$. Estas variações corresponderam às mudanças na química, microestrutura e

alinhamento de prismas de esmalte. No entanto mostrou correlações mais fortes com mudanças na química comum do esmalte. Por exemplo, as concentrações dos componentes da hidroxiapatita (P_2O_5 e CaO) era mais alta na dureza da superfície oclusal e diminuiu no sentido da junção esmalte-dentina. Na_2O e MgO mostraram uma tendência oposta. As propriedades mecânicas do esmalte eram também encontradas para diferir o lado lingual do lado vestibular do molar. Na superfície oclusal do esmalte era mais duro e mais rígido no lado lingual do que no lado vestibular. Porém, o esmalte interior era mais maleável e mais complacente no lado lingual que no lado vestibular, uma variação também correspondeu com diferenças na média química e poderia ser relacionado a diferenças em função.

Kinney et al.⁵² (2003) mediram a dureza e módulo de elasticidade de dentina normal e de dentina alterada, em condições úmidas e secas, por meio da técnica de nanoindentação com microscopia de força atômica. O objetivo foi determinar se estas propriedades interagem linearmente com a concentração mineral do substrato dentinário. Concentrações minerais na metade da coroa de dentina normal e alterada eram 44,4 vol% e 30,9 vol%, respectivamente. Ao redor da polpa, na dentina alterada, era uma região de mais alta mineralização (40,5 vol%). O módulo de indentação de dentina normal foi $23,9 \pm 1,1$ GPa para dentina seca e $20,0 \pm 1,0$ GPa para dentina úmida. Em regiões da metade da coroa em dentina alterada, o módulo de elasticidade foi $13,8 \pm 2,0$ GPa para dentina seca e $5,7 \pm 1,4$ GPa para dentina úmida. Nas regiões mais mineralizadas da dentina alterada, o módulo foi $20,4 \pm 1,8$ GPa para dentina seca e $5,3 \pm 0,8$ GPa para dentina úmida; as propriedades da dentina úmida alterada não correlacionaram com concentração mineral. A dureza de dentina normal não alterou com umidade (0,83-0,85 GPa), considerando que a dureza da dentina alterada exibiu o mesmo comportamento de umidade/seca para o módulo de elasticidade. Os resultados deste estudo questionam se a concentração mineral sozinha é um fator suficiente para avaliar o sucesso ou fracasso da remineralização em odontologia restauradora.

Yamauti et al.⁵³ (2004) avaliaram a dureza e o módulo de elasticidade de um adesivo resinoso fotopolimerizável, Clearfil SE Bond (SE), polimerizado com quatro aparelhos fotopolimerizadores em distâncias diferentes. As unidades usadas eram: Candelux (halógeno de quartzo-tungstênio), Lux-O-Max (diodo emissor de luz

azul), Arc-light (arco-plasma), e Rayblaze (lâmpada halógena). Discos de adesivo resinoso (4,5 mm de diâmetro) foram preparados utilizando moldes de vinil (0,4 mm de espessura) e fotopolimerizados na superfície de topo com a ponteira posicionada a três distâncias diferentes (contato, 2 e 4 mm). Depois de 24 horas de armazenamento em água a 37°C, os espécimes eram seccionados ao meio, embutidos em resina epóxica e polidos. A dureza e módulo de elasticidade do adesivo resinoso foram obtidos por meio do teste de nanoindentação. Seis espécimes foram preparados para cada grupo. Os dados foram estatisticamente analisados por ANOVA de dois fatores e teste de comparações múltiplas de Tukey ($p < 0,01$). A dureza de SE foi afetada significativamente ($p < 0,001$) pela fonte luminosa e distância do aparelho, assim como o módulo de elasticidade. No caso da dureza, o teste de comparações múltiplas de Tukey indicou que aumentando a distância da ponta para a superfície irradiada diminuem os valores de dureza ($p < 0,001$). Quando a ponta estava em contato com a superfície irradiada, SE apresentou altos valores de dureza comparado com a ponta nas distâncias de 2 mm e 4 mm. Porém, não houve diferenças significantes entre os valores de dureza irradiando a superfície do SE nas distâncias das pontas de 2 mm e 4 mm. Com relação aos aparelhos fotopolimerizadores, não houve diferença significativa entre os valores de dureza do SE quando foi polimerizado com Candelux e Rayblaze. Entretanto, estas duas fontes apresentaram valores significativamente mais altos que Lux-O-Max e Arc-light. No caso do módulo de elasticidade, ambos os fatores (fonte luminosa e distância do aparelho) afetaram os resultados ($p < 0,001$). Quando a ponta estava em contato com a superfície irradiada, não houve diferença significativa entre os módulos de elasticidade do SE com Rayblaze ($7,61 \pm 0,03$ GPa), Candelux ($7,49 \pm 0,12$ GPa) e Arc-light ($7,26 \pm 0,12$ GPa), entretanto foram significativamente mais altos que Lux-O-Max ($6,41 \pm 0,48$ GPa). Na distância de 2 mm, não houve diferença significativa entre os grupos, exceto entre Candelux ($7,09 \pm 0,33$ GPa) e Arc-light ($6,64 \pm 0,40$ GPa). Quando a ponta foi mantida afastada 4 mm da superfície, não houve diferença significativa entre Rayblaze ($6,92 \pm 0,05$ GPa) e Arc-light ($6,57 \pm 0,07$ GPa) e entre Arc-light ($6,57 \pm 0,07$ GPa) e Candelux ($6,39 \pm 0,09$ GPa). Nesta distância, Lux-O-Max apresentou mais baixo valor de módulo de elasticidade ($5,62 \pm 0,13$ GPa), o qual foi significativamente diferente dos outros grupos. Sendo assim, ambas as propriedades apresentaram valores altos quando a ponta do aparelho foi mantida em contato com a superfície irradiada, ou seja,

aumentando a distância entre a ponta do aparelho e a superfície irradiada diminuiu a dureza e o módulo de elasticidade do SE.

Chung e Yap⁵⁴ (2005) relataram a possível influência da superfície final dos materiais nas suas propriedades. Sendo assim, investigaram os efeitos da superfície final no módulo de elasticidade (E) e na dureza (H) de materiais resinosos odontológicos. Os materiais utilizados incluíram resinas compostas microhíbrida (Z100, 3M ESPE), microparticulada (A110, 3M ESPE) e poliácido modificada (F2000, 3M ESPE). No experimento, 42 espécimes para cada material foi confeccionado a partir de um molde específico medindo 3 mm de altura, 3 mm de largura e 2 mm de profundidade. A superfície dos espécimes foram polimerizadas por 40 s conforme as instruções do fabricante, com uma intensidade de luz verificada em radiômetro de $423,2 \pm 3,8 \text{ mW/cm}^2$. Após, os espécimes foram imersos em água destilada a $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Os espécimes eram polidos sucessivamente utilizando lixas de carbetto de silício de diferentes granulações e suspensões diamantadas para alcançar rugosidade variada da superfície. A média aritmética da rugosidade foi mensurada utilizando profilometria. No teste de sensibilidade de profundidade a microindentação, espécimes ($n=7$) foram indentados a 10 N com indentador Vickers e os dados de carga-deslocamento ($P-h$) foram obtidos utilizando o sistema de testes universal. O módulo de elasticidade (E) e a dureza (H) foram computados usando o desenvolvimento de soluções analíticas. Dados foram analisados pelo teste ANOVA e post-hoc Scheffe, considerando um nível de significância $\alpha=0,05$. Os espécimes polidos tiveram aspereza de superfície que variou de 0,02 mm a 0,81 mm. A rugosidade de F2000 era significativamente mais alta que A110 e Z100. O E e H para Z100 variaram de 14,02 a 14,83 GPa e 1,18 a 1,27 GPa, respectivamente. E para F2000 e A110 variou de 12,25 a 13,82 GPa e 5,26 a 5,52 GPa e H variou de 0,89 a 0,98 GPa e 0,52 a 0,55 GPa, respectivamente.

Zhou e Hsiung⁵⁵ (2007) investigaram as variações potenciais da dureza e do módulo de elasticidade do esmalte humano aumentando a profundidade de penetração do indentador de 100 a 2000 nm. O esmalte de um segundo molar extraído foi dissecado em pequenos fragmentos de aproximadamente 2 mm de largura e 1 mm de espessura. Os blocos de esmalte pequenos foram embutidos em resina autopolimerizável. Após, foram friccionados com lixas de carbetto de silício de

granulações de 400 a 1200 e polidos utilizando pasta de diamante coloidal de 9, 3, e 1 μm em seqüência. Em seguida, realizou-se um polimento final com pasta de diamante coloidal de 0,25 μm e limpos com água deionizada. Os espécimes foram armazenados em estufa por 72 h antes do teste de nanoindentação. O equipamento utilizado para o teste foi Nanoindenter MTS XP1 (MTS Nano Instrument, Oak Ridge, TN). Os resultados foram então avaliados e comparados com estudos prévios. Verificaram que o módulo de elasticidade diminuiu continuamente em 30% de 104 a 70 GPa, e a dureza diminuiu por mais de 30% de 5,7 a 3,6 GPa. Desta forma, consideraram que esta diminuição dos valores pode estar associada à mudança microestrutural do esmalte induzida pela ponta do nanoindentador.

Hosoya et al.⁵⁶ (2008) avaliaram a qualidade da interface de dentes decíduos hígidos e cariados unidos com dois adesivos autocondicionantes de passo único 4-META. Doze molares decíduos hígidos e doze cariados foram adesivados com AQ Bond Plus (AQBP; Sun Medical) ou Hybrid Bond (HB; Sun Medical) e restaurados com Clearfil Protect Liner F (Kuraray Medical Inc.). Depois de 24 horas de imersão de água, os dentes eram seccionados e polidos. Os valores de dureza e módulo de elasticidade das interfaces resina-dentina foram calculados pelo teste de nanoindentação. Os dados foram analisados usando análise de variância de um ou dois fatores e o teste PLSD de Fischer com $\alpha=0,05$. As interfaces resina-dentina também foram observadas em MEV e MET. Nitrato de prata amoníaco foi usado como um auxiliar para observação de MET. Dureza e módulo de elasticidade da interface dentinária eram significativamente mais baixos que a dentina intacta subjacente com exceção do grupo de cárie-AQBP. Porém, não houve nenhuma diferença significativa de dureza e módulo de elasticidade da interface de dentina entre todos os grupos. MET revelou extensa nanoinfiltração interfacial em dentina hígida unida com AQBP ou HB. Para os dentes cariados, nanoinfiltração estava ausente nas camadas híbridas com os dois adesivos. Porém, foram identificados depósitos prateados extensos na subsuperfície, de dentina afetada por cárie.

Pongprueksa et al.⁵⁷ (2008) avaliaram o módulo de elasticidade de um adesivo resinoso sem carga (Adper Single Bond) e um adesivo resinoso com carga (Adper Single Bond 2) utilizado com e sem uma resina de baixa-viscosidade (LVR) (Filtek Flow) como uma parede de cavidade elástica em restaurações compostas de

classe V, restaurada com uma resina composta híbrida (Z250). Cavidades de classe V foram preparadas em pré-molares extraídos e forrados com (1) adesivo resinoso sem carga, (2) adesivo resinoso com carga, (3) adesivo resinoso sem carga e resina flow, e (4) adesivo resinoso com carga e resina flow. Todas as cavidades foram restauradas com resina composta híbrida. Os espécimes eram cortados vestibulo-lingualmente, embutidos em resina epóxica e polidos. Os espécimes polidos foram avaliados para o módulo de elasticidade com o teste de nanoindentação na camada de dentina, camada híbrida, adesivo, resina, resina de baixa-viscosidade e resina composta. O módulo de elasticidade foi 25,111 GPa para dentina, 12,243 GPa para camada híbrida de Adper Single Bond; 11,765 GPa para camada híbrida de Adper Single Bond 2, 7,595 GPa para Adper Single Bond, 8,430 GPa para Adper Single Bond 2, 13,543 GPa para Filtek Flow e 24,494 GPa para resina composta Filtek Z250. A análise estatística demonstrou que o módulo elástico era significativamente diferente entre camadas ($p < 0,05$) exceto entre camadas híbridas de adesivos sem carga e com carga ($p = 1,0$). Concluiu-se que a aplicação de adesivo com carga não aumentou o módulo de elasticidade da camada híbrida quando comparado com o adesivo resinoso sem carga. O módulo elástico de adesivo resinoso com carga era significativamente mais alto que para adesivo resinoso sem carga.

Wei et al.⁵⁸ (2008) avaliaram a resistência de união ao microcisalhamento de três adesivos atuais em dentina normal e dentina cariada, e examinaram a correlação entre dureza da dentina obtida pelo teste de nanoindentação e resistência de união. Os sistemas adesivos em estudo foram Clearfil SE Bond, Clearfil Tri-S Bond (Kuraray Medical) e Single Bond (3M ESPE). Dezoito molares humanos com lesões cárie na superfície oclusal e sem nenhuma restauração realizada foram utilizados. Os dentes foram armazenados por menos de três meses a 4°C em solução salina normal na qual eram adicionados vários cristais de timol. O esmalte oclusal era removido com um disco de diamante em baixa-velocidade. As raízes dos dentes eram cortadas na junção cimento-esmalte. Espécimes eram seccionados para obter duas fatias, cada uma com aproximadamente 2,5 mm de espessura em direção vestibulo-lingual. Obteve-se um total de 36 fatias incluindo uma lesão de cárie. Foram selecionadas trinta fatias de dentina, sendo dez de cada sistema adesivo e foram polidas com lixas de carbetto de silício e pasta de diamante de 0,25 µm. Um evidenciador de cáries era aplicado para

identificar o tipo de dentina e demarcava-se 6 pontos na região da dentina intertubular em que seria realizado o teste de nanoindentação para obtenção da dureza. As fatias foram mantidas em água destilada durante e depois da nanoindentação para evitar desidratação. As mesmas fatias de dentina usadas para nanoindentação foram utilizadas para o teste de resistência de união. As fatias eram suavemente polidas em lixas de granulação 600# para padronizar a *smear layer*. O detector de cáries era aplicado novamente para ter certeza que o substrato de dentina seguia critérios de dentina normal ou cariada. Os sistemas adesivos foram aplicados de acordo com as instruções dos fabricantes e cilindros de polietileno padronizados (0,5 mm de altura e 0,75 mm de diâmetro) foram colocados nas áreas de dentina utilizadas para o teste de nanoindentação. Resina composta Clearfil AP-X (Kuraray Medical) foi inserida cuidadosamente nos cilindros. Os espécimes foram armazenados em água destilada a 37°C e os cilindros foram cuidadosamente removidos após uma hora utilizando uma lâmina de bisturi. Para o teste de microcisalhamento, foi utilizado como dispositivo o fio ortodôntico (0,2 mm de diâmetro), a uma velocidade de aplicação de carga de 1 mm/min até que ocorresse a fratura. Os modos de fratura foram observados para os testes de união e as interfaces resina/dentina utilizando MEV. Foram registrados significativamente menores valores de dureza para dentina cariada (32 a 62 mgf/ μm^2) comparada à dentina normal (60 a 81 mgf/ μm^2). Os valores de nanoindentação (mgf/ μm^2) para dentina cariada foram: SE Bond (55,14 $\pm$ 6,74), Single Bond (51,60 $\pm$ 8,62) e Tri-S Bond (52,12 $\pm$ 6,96); para dentina normal foram: SE Bond (68,33 $\pm$ 5,46), Single Bond (52,12 $\pm$ 6,96) e Tri-S Bond (69,44 $\pm$ 4,95). ANOVA de dois fatores mostrou que sistema adesivo ($F=3.880$, $p<0,05$), tipo de dentina ($F=149.132$, $p<0,05$) e as interações destes dois fatores ($F=3.864$, $p<0,05$) tiveram significantes efeitos na resistência de união. Uma correlação significativa foi encontrada entre dureza de dentina e resistência de união ao microcisalhamento. Porém, análise de ANCOVA revelou que o efeito do tipo de dentina não foi somente devido às propriedades mecânicas da dentina. ANOVA de um fator com o teste de comparações múltiplas de Tukey revelou que a média da resistência de união de dentina normal com Tri-S Bond era significativamente menor do que com SE Bond e Single Bond ($p<0,05$); porém, resistência de união em dentina cariada não mostrou diferença significativa entre os três adesivos ($p>0,05$). Os três adesivos mostraram menor resistência de união em dentina cariada do que em dentina normal. As diferenças entre adesivos

não foi significativa com dentina cariada como substrato de união. Propriedades mecânicas da dentina não são os únicos fatores responsáveis pela menor resistência de união em dentina cariada.

Higashi et al.²⁰ (2009) variaram a umidade dentinária e forma de aplicação dos sistemas adesivos convencionais Adper Single Bond 2 [SB] (solvente: água/etanol) e One Step Plus [OS] (solvente: acetona) para avaliar as propriedades mecânicas de dureza (H) e módulo de elasticidade (E) da interface de união resina-dentina por meio da técnica de nanoindentação. Foram utilizados vinte e quatro terceiros molares humanos hígidos. Primeiramente removeu-se o esmalte oclusal com lixas de carbeto de silício de granulação 180 para a obtenção de superfícies dentinárias planas. Para obtenção da padronização da *smear layer*, as superfícies foram tratadas com lixas de carbeto de silício de granulação 600 por 60 s e sob irrigação. O condicionamento ácido foi realizado com os respectivos ácidos dos sistemas adesivos. Contrariamente as instruções dos fabricantes, as superfícies foram lavadas com água destilada por 15 s e secas por 30 s utilizando ar comprimido livre de óleo para evitar o colapso das fibras colágenas. Duas gotas do adesivo SB ou OS foram aplicadas por 10 s cada, de forma ativa [AA] ou passiva [AP] sobre uma dentina seca [S] ou reumedecida [U] com água destilada (aproximadamente 1,5 ou 3,5 μl , para SB e OS, respectivamente). Com relação à forma de aplicação, na AP os adesivos foram apenas espalhados sobre a dentina por um período de aproximadamente 3 s e mantidos na superfície por 7 s. Em seguida, um jato de ar foi aplicado por 10 s a uma distância de 20 cm. Na aplicação ativa o adesivo foi vigorosamente esfregado na superfície dentinária por aproximadamente 10 s. Um jato de ar foi aplicado por 10 s a uma distância de 20 cm. A pressão de aplicação ativa do sistema adesivo foi padronizada por um único operador em uma balança analítica. Após a fotopolimerização dos adesivos (600 $\text{mW}/\text{cm}^2/10$ s) os dentes foram restaurados incrementalmente com a resina Z250 (3M ESPE) e armazenados em água destilada a 37°C por 24 h. Os dentes foram seccionados longitudinalmente no sentido mesio-distal para obtenção de fatias de aproximadamente 1,5 mm de espessura. A fatia central de cada dente ($n=3$ por condição experimental) foi separada para a realização do teste de nanoindentação. Procedeu-se o embutimento com resina de poliéster indicada para moldes das fatias individualmente e, após 24 horas foram polidas com lixas de carbeto de silício (600,

1000, 1200, 1500 e 2000) e discos de feltro com suspensões de diamante (1 e 0,25 μm). Após calibração da ponta indentadora foram realizadas nanoindentações nas regiões da resina composta, sistema adesivo, camada híbrida e dentina. Os valores de H e E (GPa) do sistema adesivo e camada híbrida foram submetidos a uma análise de variância de três fatores de medidas repetidas e ao teste de comparações múltiplas de Tukey ($\alpha=0,05$). A média e desvio padrão dos valores de H e E da resina composta (GPa) foram $(1,02 \pm 0,07)$ e $(14,94 \pm 0,67)$, respectivamente. Na dentina, a $H = 0,69 \pm 0,10$ e o $E = 17,94 \pm 1,84$. O número total de mensurações para resina composta e dentina mineralizada foi 27 nanoindentações por condição experimental. Na camada híbrida, a H e E foram geralmente mais altos para o adesivo OS. O modo de aplicação não afetou as propriedades estudadas dentro da camada híbrida quando a dentina foi mantida úmida antes da aplicação do adesivo. Por outro lado, AA aumentou a H e E de ambos os adesivos aplicados em dentina seca desmineralizada; porém, este aumento foi apenas estatisticamente significativo para OS ($H= 0,64 \pm 0,27$ e $E=14,2 \pm 5,2$). Na camada de adesivo, os maiores valores de dureza ($0,39 \pm 0,04$) e módulo de elasticidade ($7,13 \pm 0,80$) do SB foram obtidos em U e AA. Nesta mesma região, o módulo de elasticidade do OS ($5,72 \pm 0,82$) foi menor para o grupo AA. Concluiu-se que: 1) a AA de ambos os adesivos em dentina seca resultou em altos valores de H e E na camada híbrida e 2) na camada adesiva, umidade associada com AA aumentou a H e E do Adper Single Bond 2.

Sadr et al.⁵⁹ (2009) utilizaram a técnica de nanoindentação para caracterizar as propriedades viscoelásticas de camadas de adesivos dentinários. Os adesivos utilizados foram Clearfil SE Bond (CSE) e Clearfil Tri-S Bond (CTS) da Kuraray Medical e Single Bond (SIB) e Single Bond Plus (SBP) da 3M ESPE. Um filme fino de cada adesivo foi realizado em uma micro lâmina de vidro, e foram testados em um nanoindentador (ENT 1100, Elionix) com uma ponta Berkovich a uma taxa de carregamento constante de 0,1mN/s até uma carga máxima de 1,8 mN. Os dados de carga-deslocamento do segmento verificaram a fluência e o módulo de elasticidade. SIB e CTS mostraram mais alta fluência comparada a SBP e CSE. Os valores de módulos obtidos foram 4,0; 2,6; 2,4 e 4,2 GPa para CSE, CTS, SIB, e SBP, respectivamente. O software padrão da nanoindentação é projetado para materiais independente do tempo, superestimando significativamente os valores de módulos até 2,5 vezes. Concluiu-se, portanto que como geralmente se espera para

materiais poliméricos, os adesivos testados mostraram comportamento viscoelástico dependente de tempo. As técnicas de avaliação mecânica desenvolveram materiais independente do tempo, ignorando este comportamento e talvez não sejam apropriadas para adesivos dentais.

Tajima et al.⁶⁰ (2009) tiveram como objetivo avaliar os efeitos de cobrir superfícies de raiz dentinária com sistemas adesivos para prevenção de desmineralização. Foram utilizadas 35 raízes intactas de pré-molares humanos, extraídas por razões ortodônticas. As raízes foram armazenadas em água destilada a -20°C até o uso e separadas em sete grupos de cinco dentes cada. O cimento foi removido para expor as superfícies dentinárias da raiz que eram friccionadas com lixas de carbetto de silício de granulação #600. Três encaixes (0,3 mm de largura e 3 mm de profundidade) foram preparados na dentina vestibular ou lingual da superfície de cada raiz utilizando uma máquina de corte seriados e disco de diamante de baixa-velocidade, com uma distância entre cada encaixe de aproximadamente 5 mm. Uma resina a base de metil-metacrilato (Super-Bond C&B, Sun Médical, Siga, Japão) foi utilizada para encher os encaixes sem qualquer pré-tratamento de dentina. Estas superfícies foram re-polidas com lixas de carbetto de silício #600. Em seguida, as superfícies dos espécimes foram cobertas com duas camadas de verniz de unha com a exceção da superfície de fundo. Quatro sistemas adesivos (Clearfil SE Bond [SE], Clearfil Tri-S Bond [TS], G-Bond [GB], Hybrid Bond [HB-1]) foram utilizados neste estudo e aplicados em uma única camada e o sistema adesivo Hybrid Bond (HB-2) aplicado em duas camadas. As superfícies sem resina de revestimento foram utilizadas como controle. Os espécimes foram imersos em uma solução desmineralizante artificial, seccionados pelo centro da raiz e polidos com lixas de carbetto de silício (600, 800, 1000 e 1200) e pastas de diamante (6, 3, 1 e 0,25 µm). As espessuras da camada de revestimento e profundidade da camada de dentina desmineralizada foram observadas em um microscópio confocal de varredura a laser. Valores de dureza da camada de revestimento e dentina subjacente foram obtidos utilizando a técnica de nanoindentação. Para cada espécime foram realizadas: 6 indentações à 1 µm de intervalo imediatamente abaixo da camada de materiais, 5 indentações à 3 µm de intervalo na camada de dentina na profundidade de 5 µm, e 13 indentações à 5 µm de intervalo na profundidade de 20 µm. Estas medidas foram repetidas duas vezes para cada espécime render um

total de 48 indentações. Os dados obtidos para cada região foram estatisticamente analisados por ANOVA de dois fatores e t-teste de Bonferroni. Os valores das médias de dureza da superfície da camada de materiais foram SE ($45,6 \pm 2,5$), TS ($38,8 \pm 2,1$), GB ($41,2 \pm 1,2$), HB-1 ($31,2 \pm 1,9$) e HB-2 ($44,4 \pm 1,3$). SE foi significativamente mais duro que os outros materiais ($p < 0,05$), considerando que o mais baixo valor de dureza foi obtido com HB-1. A dureza de HB-2 foi significativamente mais alta que de HB-1 ($p < 0,05$). Desmineralização de dentina não foi observada na superfície dos grupos com exceção de HB-1, e nanodureza da dentina subjacente foi comparável a dentina normal. Baseado nos resultados obtidos verificou-se que camada adesiva na superfície dentinária da raiz é uma prática promissora para prevenir desmineralização.

Pugach et al.⁶¹ (2009) investigaram as propriedades físicas e microestruturais da dentina cariada em 4 diferentes zonas para determinar diferenças importantes reveladas no processo de evidenciação pelo detector de cáries. Seis lesões de cáries de dentina interrompidas e duas dentinas controle normais foram submetidas ao detector de cáries, cada zona foi identificada de acordo com a aparência óptica e grau de evidenciação (rosa, rosa claro, transparente, aparentemente normal). As imagens das microestruturas foram visualizadas por meio de microscopia de força atômica (MFA), a obtenção das propriedades mecânicas pelo teste de nanoindentação de MFA e microradiografia digital transversal (MDT) para análise de conteúdo mineral. Mudança microestrutural, propriedades nanomecânicas e conteúdo de mineral diminuíram significativamente por zonas. Módulo elástico hidratado e conteúdo mineral de dentina normal para dentina evidenciada pelo detector de cáries como rosa variaram de $19,5 [10,6-25,3]$ GPa para $1,6 [0,0-5,0]$ GPa e de $42,9 [39,8-44,6]$ vol% para $12,4 [9,1-14,2]$ vol%, respectivamente. Em conclusão, a caracterização com detectores de cárie das zonas de lesão cariosa indicando as diferentes propriedades mecânicas e microestruturais são valiosas para diagnóstico de cáries. Porém, análise dos dados do presente estudo denota que a zona rosa que geralmente é removida pelo clínico, apresentou considerável conteúdo mineral residual.

2.3.1 Princípios Gerais da Técnica de Nanoindentação

A nanoindentação, também chamada indentação instrumentada em nano e micro escala, é uma técnica eficaz e versátil utilizada principalmente na obtenção de propriedades mecânicas de materiais que possuem pequenas dimensões, mas também é muito utilizada em materiais que possuem a superfície modificada, filmes finos ou revestimentos. Durante o teste uma ponta dura, normalmente diamante, é pressionada sobre a amostra com uma carga conhecida. Depois de algum tempo a carga é removida, provocando uma depressão no substrato, a qual, depois de analisada por parâmetros específicos, fornece informações sobre as propriedades do sólido, a partir de medidas de força e deslocamento (Doerner, Nix⁶² 1986).

A ponta de diamante normalmente utilizada é tipo Berkovich, a qual possui uma geometria piramidal de três lados (Figura 1-A). Carga e deslocamento são monitorados continuamente durante o processo de indentação, resultando em uma curva de carga-deslocamento, como mostrado na Figura 1-B. A interação entre a ponta e a amostra durante o processo de indentação é ilustrado na Figura 1-C, em que, da mesma forma que nos ensaios de compressão, a dureza é uma função da carga aplicada e da profundidade de penetração do penetrador na amostra (Ebenstein, Pruitt⁶³ 2006).

Um registro de experimento da indentação geralmente consiste de um único ciclo de carregamento-descarregamento. Quando o espécime é carregado a uma carga máxima $P_{\max}$, a profundidade da indentação aumenta até um máximo $h_{\max}$ (curva de carregamento). À medida que a carga vai sendo retirada, uma curva é registrada até o final do descarregamento. A profundidade final não será zero, mas algum valor finito h_f , devido à deformação plástica do material durante a indentação, que não é recuperada e é a impressão final que fica na amostra (Figuras 1-B e 1-C).

Os dados de força-deslocamento obtidos são bem similares aos dos ensaios de compressão, assim como, apresentam o mesmo tipo de informações que estes fornecem. A maior diferença reside na geometria do contato entre o sistema de carga e a amostra, demonstrado pelo diagrama de funcionamento de um

nanoindentador na Figura 2. Durante o processo de indentação, aplica-se uma carga crescente sobre o indentador através do atuador eletromagnético numa área da amostra que se encontra fixada em um porta-amostras sobre uma mesa que se movimenta nas direções x e y conforme visualização em microscopia óptica, a qual faz parte do equipamento e o sensor de penetração capacitativo controla com precisão elevada e registra os valores da carga aplicada e da profundidade da penetração.

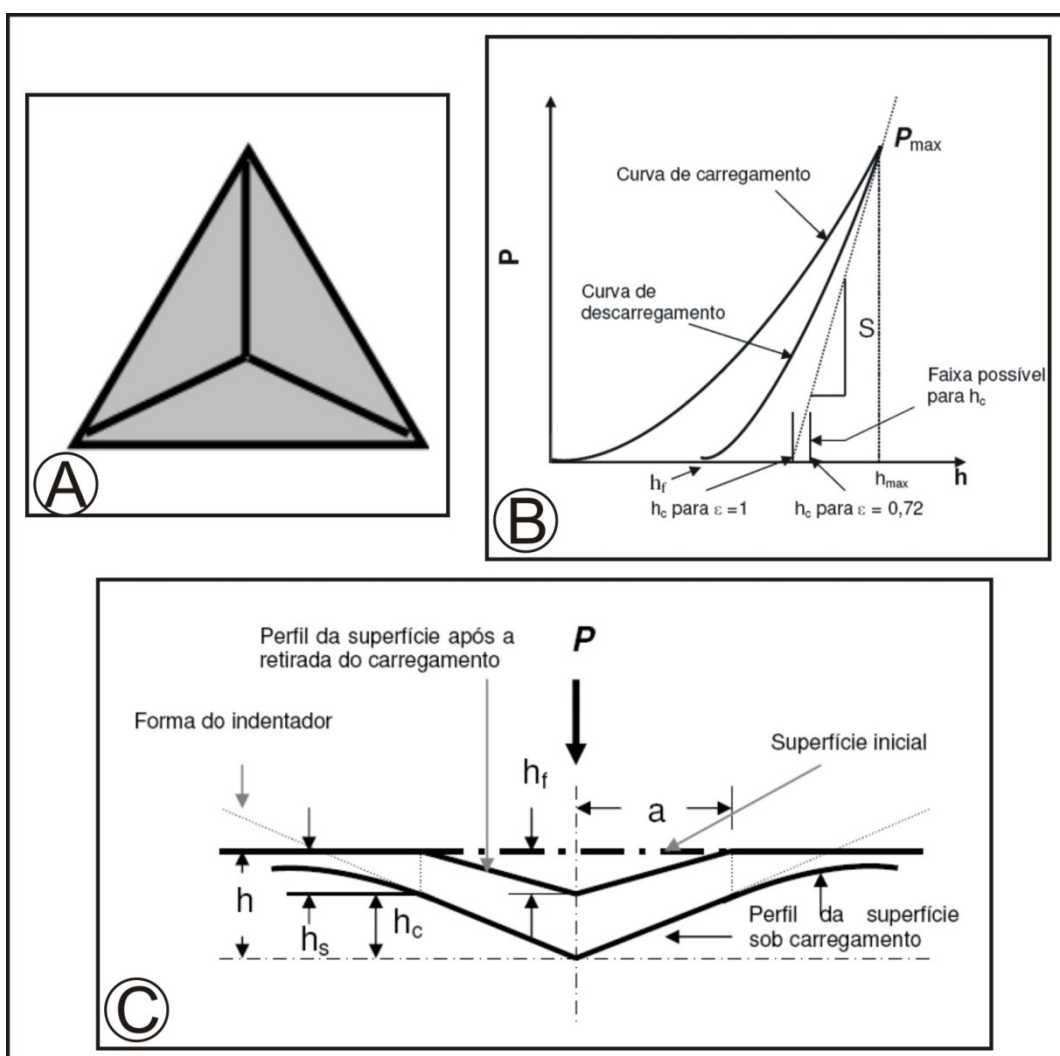


Figura 1- A) Geometria do Indentador. B) Representação esquemática da curva típica da carga aplicada (mN) versus profundidade de penetração (nm) realizada para cada indentação na amostra. C) Perfil da superfície durante o processo de nanoindentação: P_{max} = carga máxima aplicada; h_{max} = profundidade de penetração; h_c = profundidade de contato (a altura do contato entre a ponta e a amostra); h_f = profundidade final; S = rigidez elástica de descarregamento

Doerner e Nix⁶² (1986) publicaram o primeiro trabalho de aproximação experimental e analítica para uma forma generalizada de análise de nanoindentação

de dados de carga-deslocamento para penetradores não-rígidos de todas as geometrias. Oliver e Pharr²² (1992) avançam generalizando sua aproximação, resultando no método de complacência extensamente usado para análise da indentação. Módulos também podem ser extraídos de curvas carga-deslocamento seguindo o método de Field e Swain⁶⁴ (1995). Estes foram métodos revisados completamente, junto com limitações e calibrações de instrumentos necessários, em várias publicações recentes (Fischer-Cripps⁶⁵ 2002).

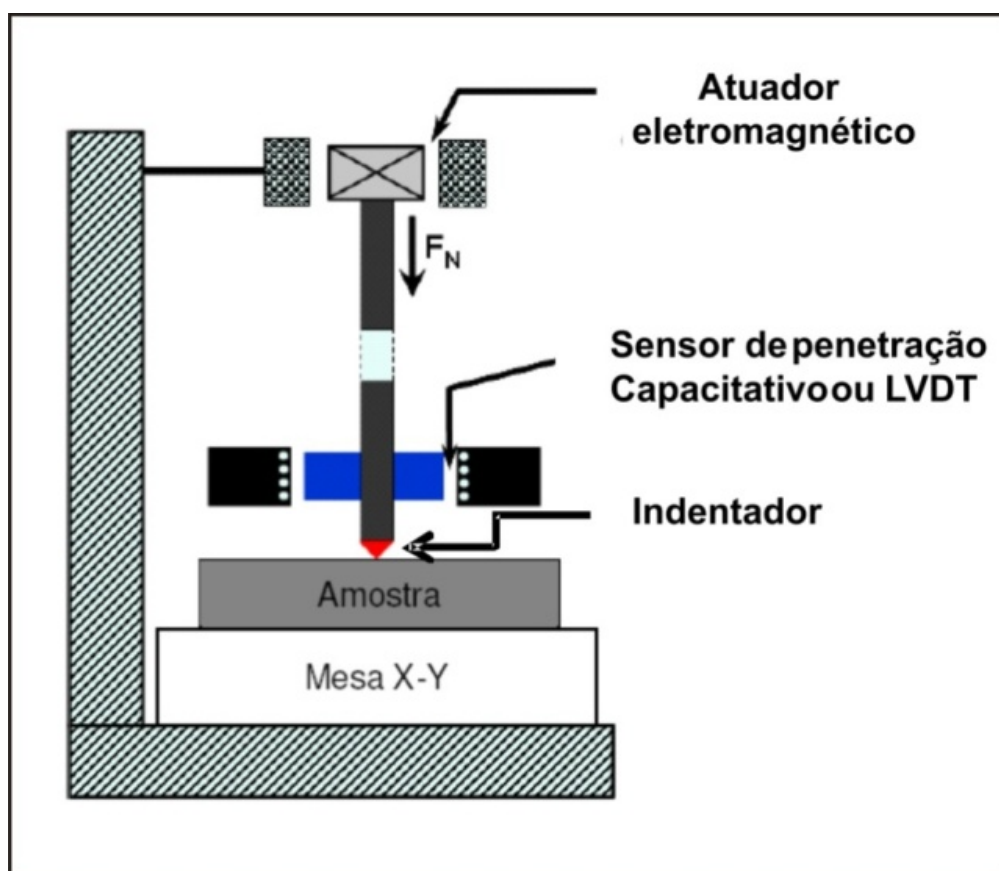


Figura 2- Diagrama de funcionamento de um nanoindentador

Utilizando a técnica de nanoindentação a dureza, o módulo de elasticidade, a fluência, a tenacidade à fratura, entre outras propriedades mecânicas podem ser obtidas (Doerner, Nix⁶² 1986). No entanto, as duas propriedades mais freqüentemente medidas utilizando esta técnica são o módulo de elasticidade e a dureza. Uma das vantagens desta técnica é obter as propriedades elásticas e plásticas de materiais que possuem áreas e profundidades reduzidas, como por exemplo, a camada adesiva (Garcia et al.⁶⁶ 2002).

A dureza é uma propriedade mecânica amplamente utilizada na caracterização e comparação de diversos materiais. Entretanto, o conceito físico de dureza não possui uma definição absoluta, mas é citada como sendo uma medida da resistência do material à deformação plástica (Brotzen⁶⁷ 1994). Para obter o valor de dureza de um material pela técnica de nanoindentação é necessário medir a área da indentação. Um modo para fazer isto é usar a área de contato projetada em carga máxima, a qual é calculada avaliando uma função de área determinada numa profundidade de contato $f(h_c)$, isto é:

$$A = f(h_c) \quad (1)$$

onde, $f(h_c)$ é obtida durante a calibragem da ponta. Para um penetrador ideal, tem-se que:

$$A = 24,5 h_c^2 \quad (2)$$

onde, h_c na equação 2 é a profundidade de contato.

A dureza, em nanoindentação é então definida como a razão entre a carga máxima aplicada durante o teste e a área projetada do contato, sendo obtida da seguinte equação:

$$H = \frac{P_{\max}}{24,5 h_c^2} \quad (3)$$

Esta definição de dureza é diferente da definição convencional. Na nanoindentação a dureza é calculada utilizando a área de contato em carga máxima enquanto que num teste convencional é utilizada a área da impressão residual obtida após o descarregamento (Oliver, Pharr²² 1992).

As características elásticas e plásticas dos materiais, denominada módulo de elasticidade (E) são obtidas a partir da inclinação do início da curva de descarregamento gerada no experimento de indentação. O módulo de elasticidade é definido como sendo a medida da rigidez elástica do material e depende fundamentalmente das forças de ligação interatômicas, da composição química e da estrutura cristalográfica (Oliver, Pharr²² 1992; Field, Swain⁶⁴ 1995). Desta forma, quanto maior o módulo, mais rígido será o material e menor será a deformação elástica resultante da aplicação de uma força (Ebestein, Pruitt⁶³ 2006). Uma

equação foi derivada para o módulo de elasticidade reduzido, E_r (Oliver, Pharr²² 1992):

$$E_r = \frac{\sqrt{\pi}}{2\beta} \frac{S_{\max}}{\sqrt{A}} \quad (4)$$

onde, β é uma constante que depende da geometria do penetrador, sendo 1,034 para o penetrador Berkovich. $S_{\max}=(dP/dh)$ é a rigidez elástica obtida experimentalmente da parte superior da curva de descarregamento, ou seja, dada pela derivada da curva de descarregamento em relação à profundidade no ponto de carga máxima. A é a área de contato. O módulo de elasticidade reduzido E_r , atribuído aos efeitos de indentadores não rígidos, é substituído juntamente com as grandezas do material penetrador através da seguinte equação:

$$\frac{1}{E_r} = \frac{1-\nu_i^2}{E_i} + \frac{1-\nu^2}{E} \quad (5)$$

na qual E_r é o módulo de elasticidade reduzido, E_i e ν_i são o módulo de elasticidade e a razão de Poisson do penetrador e E e ν são o módulo de elasticidade e a razão de Poisson da amostra, respectivamente. Para o penetrador de diamante Berkovich o coeficiente de Poisson ν_i é 0,07 e o módulo de elasticidade E_i é 1141 GPa. O coeficiente de Poisson ν para materiais poliméricos é 0,4 (Callister⁶⁸ 2002).

A sensibilidade de profundidade com precisão da ponta indentadora e resolução de carga, permitem que sejam analisadas áreas relativamente estreitas, como a camada adesiva e camada híbrida. A análise das propriedades mecânicas da camada adesiva, particularmente o módulo de elasticidade, permite demonstrar que esta tem uma capacidade de deformação que poderia ser suficiente para atenuar as tensões geradas pela contração de polimerização da resina composta, preservando, ao menos em teoria, a união com a dentina (Garcia et al.⁶⁶ 2002).

3 PROPOSIÇÃO

3.1 Proposição geral

O propósito deste estudo foi avaliar as propriedades mecânicas da camada adesiva em função do modo de aplicação dos sistemas adesivos em diferentes substratos dentinários.

3.2 Proposição específica

1. Avaliar os valores de dureza e módulo de elasticidade da camada adesiva utilizando três adesivos (um convencional e dois autocondicionantes de “dois passos”) variando as formas de aplicação (ativa e passiva);
2. Avaliar os valores de dureza e módulo de elasticidade da camada adesiva utilizando três adesivos (um convencional e dois autocondicionantes de “dois passos”) em duas profundidades do substrato dental (dentina superficial e dentina profunda).

HIPÓTESE

É esperado que a camada adesiva utilizando sistemas adesivos convencional e autocondicionante apresentem maiores valores de dureza quando aplicados de forma ativa, com valores mais altos em dentina superficial do que na dentina profunda.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento experimental e materiais utilizados

Foram utilizados 48 terceiros molares humanos extraídos e armazenados a 37°C em solução de timol 3%, obtidos no Banco de Dentes da Universidade Estadual de Ponta Grossa, com o devido termo de solicitação de dentes, anexado junto ao projeto. O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa – COEP – UEPG, pelo Protocolo 09908/08, de Parecer nº37/2008 (Anexo A).

Neste estudo foram avaliados três sistemas adesivos: Adesivo Adper™ Single Bond 2 (3M ESPE, St. Paul, MN, USA), um sistema adesivo convencional de frasco único que requer condicionamento com ácido fosfórico; Adper™ SE Plus (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) e AdheSE® (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein, DDR), sistemas adesivos autocondicionantes de dois passos, ou seja, primeiro é aplicado um primer ácido e em seguida o adesivo. Os materiais utilizados nessa pesquisa, bem como fabricante, composição e lote estão descritos no Quadro 1.

As amostras foram divididas em 12 grupos experimentais (n=4). Os fatores em estudo foram o tipo de sistema adesivo, a profundidade do substrato dentinário (dentina superficial e dentina profunda) e as formas de aplicação dos sistemas adesivos (ativa e passiva) (Figura 3). Portanto, de cada dente foi removido um espécime (palito) para serem submetidos ao ensaio de nanoindentação que foi realizado na camada adesiva.

MARCA COMERCIAL	FABRICANTE	COMPOSIÇÃO	LOTE
Adper™ Single Bond 2 	3M ESPE, St. Paul, MN, USA	Etanol, Bis-GMA, silano tratado com filler de sílica 2 -hidroxietilmetacrilato, glicerol 1, 3 dimetacrilato, copolímero de ácido acrílico e ácido itacônico e diuretano dimetacrilato.	7MN
Adper™ SE Plus 	3M ESPE, St. Paul, MN, USA	Líquido A - Primer (Solução aquosa): água ~80%, HEMA: ~20%, corante Rose Bengal, surfactante. Líquido B - Bond: resinas de metacrilato (UDMA/TEGDMA/TMPTM), HEMA Fosfatado e MDP (Componentes acídicos), Nanopartículas de zircônia (20%), fotoiniciadores.	8AP
AdheSE® 	Ivoclar/Vivadent, Schaan, Liechtenstein, DDR	AdheSe Primer: Dimetacrilato, acrilato do ácido fosfônico, iniciadores e estabilizadores em solução aquosa. AdheSE Bond: HEMA, dimetacrilato, dióxido de silício, iniciadores e estabilizadores.	KA1839 KA 0597
Filtek™ Z350 	3M ESPE, St. Paul, MN, USA	Bis-GMA, UDMA, TEGDMA e Bis-EMA	8 UF
Ácido Fosfórico 	3M ESPE, St. Paul, MN, USA	Ácido fosfórico 37%	7KU

Quadro 1- Materiais utilizados no estudo, fabricante, composição e lote

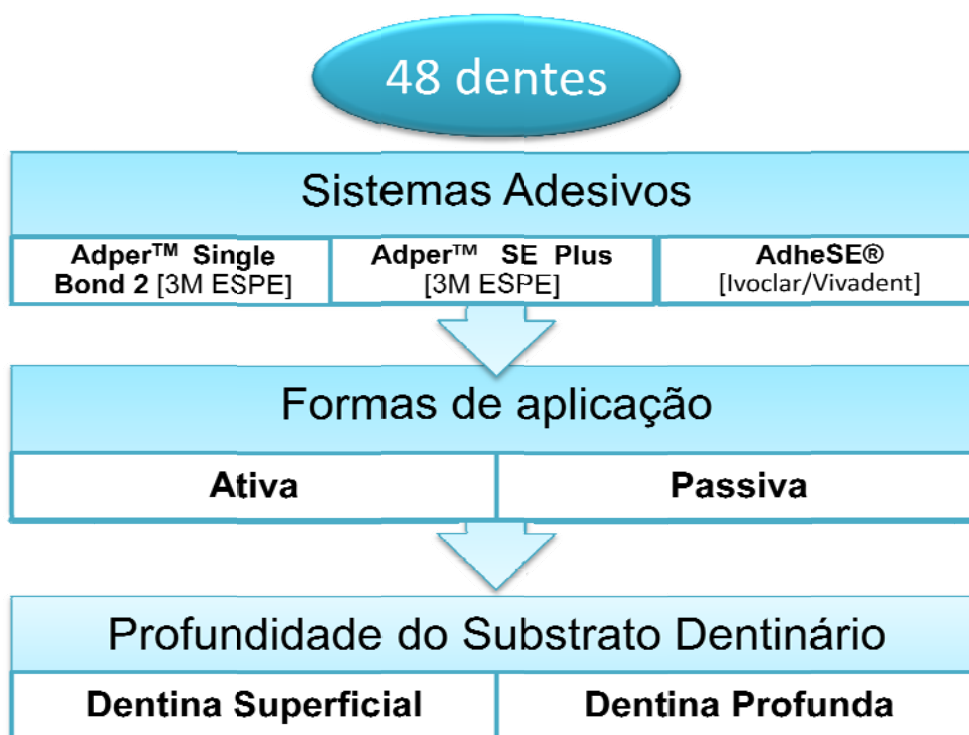


Figura 3- Esquema do desenho experimental do estudo

4.2 Preparação das amostras

Para obter os diferentes níveis de profundidade, a superfície oclusal dos dentes foi cortada em uma máquina de corte seriado (Isomet 1000, Buehler Ltda, Lake Bluff, IL, EUA) com um disco de diamante (#7020, KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil), na velocidade de 350 rpm, sob refrigeração com água constante. Os cortes foram feitos abaixo da base das cúspides, no sentido transversal, perpendicular ao longo eixo do dente, padronizando dentina superficial (DS) e dentina profunda (DP), em dois níveis: 1 mm abaixo das cúspides DS e 3 mm abaixo das cúspides DP, auxiliados também por meio de radiografias periapicais dos dentes com análise da proximidade da câmara pulpar, sendo entre 2,0-2,5 mm para DS e de 0,5-1,0 mm do corno-pulpar mais alto para DP (Kaaden et al.²⁹ 2002) (Figuras 4 – A, B e C). Após corte da superfície oclusal (Figura 5-A), removeu-se o esmalte ao redor do dente com ponta diamantada cilíndrica #3216 em alta rotação (Figura 5-B).



Figura 4- A) Radiografia periapical para análise da proximidade da câmara pulpar. B) Molar hígido. C) Corte da superfície oclusal

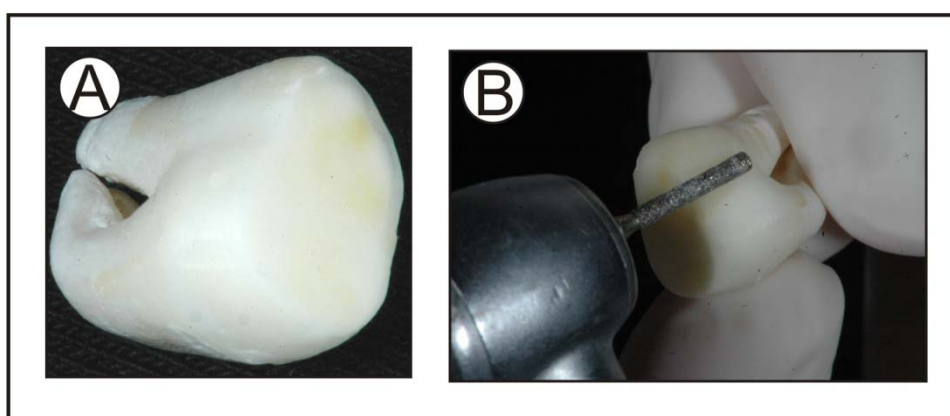


Figura 5- A) Dente após corte da superfície oclusal. B) Remoção do esmalte ao redor do dente

As superfícies dentinárias foram submetidas à abrasão, com lixas de granulação #180, com umidade, até a planificação da dentina oclusal. A camada de *smear layer* foi padronizada por meio do lixamento da superfície de dentina com lixa de granulação #600 por 60 s (Figura 6).

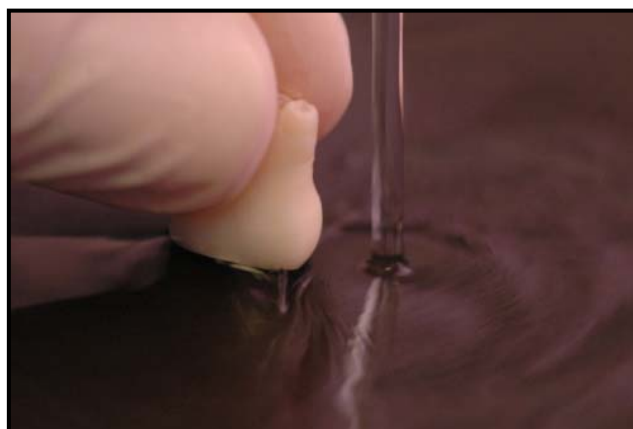


Figura 6- Superfície do dente preparada com lixas de granulação #180 e #600, padronizando a *smear layer*

Realizou-se os procedimentos de lavagem, secagem e aplicação dos sistemas adesivos nas amostras de acordo com as instruções de seus fabricantes descritos no Quadro 2 e ilustrados nas Figuras 7, 8 e 9. A forma ativa de aplicar o adesivo foi padronizada por um operador, através do peso aplicado no *microbrush* aferido em uma balança de precisão (Shimadzu, Japan) em $34,5 \pm 6,9$ g de variação, sendo esta considerada uma força ideal para uma aplicação vigorosa semelhante ao utilizado nos estudos de Dal Bianco et al.¹¹ (2006) e Higashi et al.²⁰ (2009).

Sistemas adesivos	Aplicação ativa	Aplicação passiva (*)
Adper™ Single Bond 2 [3M ESPE]	➤ Condicionamento com ácido fosfórico 37% (15 s), lavagem (15 s) e secagem (30 s). Reumedecimento com auxílio de <i>microbrush</i>. ➤ Aplicação de duas camadas do adesivo (15 s) de forma vigorosa e evaporação do solvente com jato de ar (10 s a 20 cm de distância) entre cada aplicação. ➤ Fotopolimerização (10 s com 500 mW/cm²).	➤ Condicionamento com ácido fosfórico 37% (15 s), lavagem (15 s) e secagem (30 s). Reumedecimento com auxílio de <i>microbrush</i>. ➤ Aplicação de duas camadas do adesivo (15 s) e evaporação do solvente com jato de ar (10 s a 20 cm de distância) entre cada aplicação. ➤ Fotopolimerização (10 s com 500 mW/cm²).
Adper™ SE Plus [3M ESPE]	➤ Aplicação do primer (frasco A) de modo que forme uma camada vermelha contínua na superfície. ➤ Aplicação de duas camadas do adesivo ácido (frasco B) em toda a superfície (20 s) de forma vigorosa e evaporação do solvente com jato de ar (10 s a 20 cm de distância) entre cada aplicação. ➤ Fotopolimerização (10 s com 500 mW/cm²).	➤ Aplicação do primer (frasco A) de modo que forme uma camada vermelha contínua na superfície. ➤ Aplicação de duas camadas do adesivo ácido (frasco B) em toda a superfície (20 s) e evaporação do solvente com jato de ar (10 s a 20 cm de distância) entre cada aplicação. Obs.: A cor vermelha desaparece rapidamente, indicando que os componentes autocondicionantes foram ativados. ➤ Fotopolimerização (10 s com 500 mW/cm²).
AdheSE® [Ivoclar/Vivadent]	➤ Aplicação do Adhese Primer na superfície (15 s). ➤ Aplicação de forte jato de ar, até que a película superficial e móvel do líquido não seja mais visível. ➤ Aplicação do Adhese Bond de forma vigorosa. ➤ Evaporação do solvente com um leve jato de ar. ➤ Fotopolimerização (10 s com 500 mW/cm²).	➤ Aplicação do Adhese Primer na superfície (15 s). ➤ Aplicação forte jato de ar, até que a película superficial e móvel do líquido não seja mais visível. ➤ Aplicação do Adhese Bond; ➤ Evaporação do solvente com um leve jato de ar. ➤ Fotopolimerização (10 s com 500 mW/cm²).

Quadro 2- Modo de aplicação dos sistemas adesivos

Nota: (*) A forma passiva de aplicação dos adesivos segue as recomendações do fabricante



Figura 7- Sequência da aplicação do sistema adesivo convencional de 2 passos Adper™ Single Bond 2 [3M ESPE]

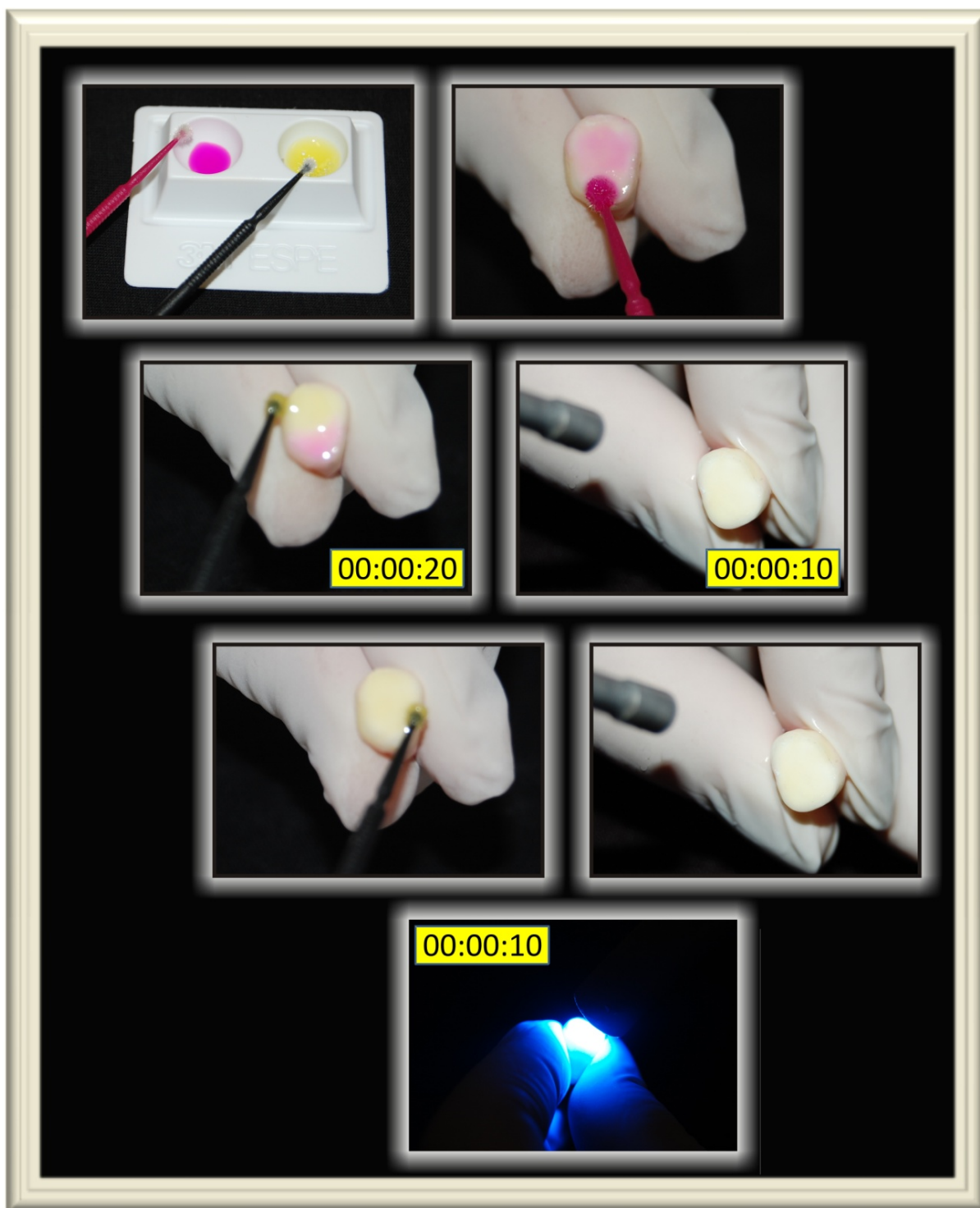


Figura 8- Sequência da aplicação do sistema adesivo autocondicionante de 2 passos Adper™ SE Plus [3M ESPE]



Figura 9- Sequência da aplicação do sistema adesivo autocondicionante de 2 passos AdheSE® [Ivoclar/Vivadent]

Após os procedimentos adesivos, 3 incrementos de 1,0 mm de resina composta Filtek™ Z350 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) foram inseridos e fotoativados por 30 segundos numa intensidade de 500 mW/cm² (Optilux 400, Demetron, EUA) sobre as superfícies de dentina. Os dentes restaurados foram

armazenados em água destilada por 24 horas e delimitou-se a região central pela cor vermelha para que desta região, após os cortes, fosse removido o corpo-de-prova utilizado no teste de nanoindentação (Figura 10-A). Após, os dentes foram fixados em suportes plásticos com cera pegajosa (Pasom, Brasil) (Figura 10-B) e adaptados em um dispositivo “ad-hoc” para ser montado na máquina de cortes seriados (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, Illinois, EUA).

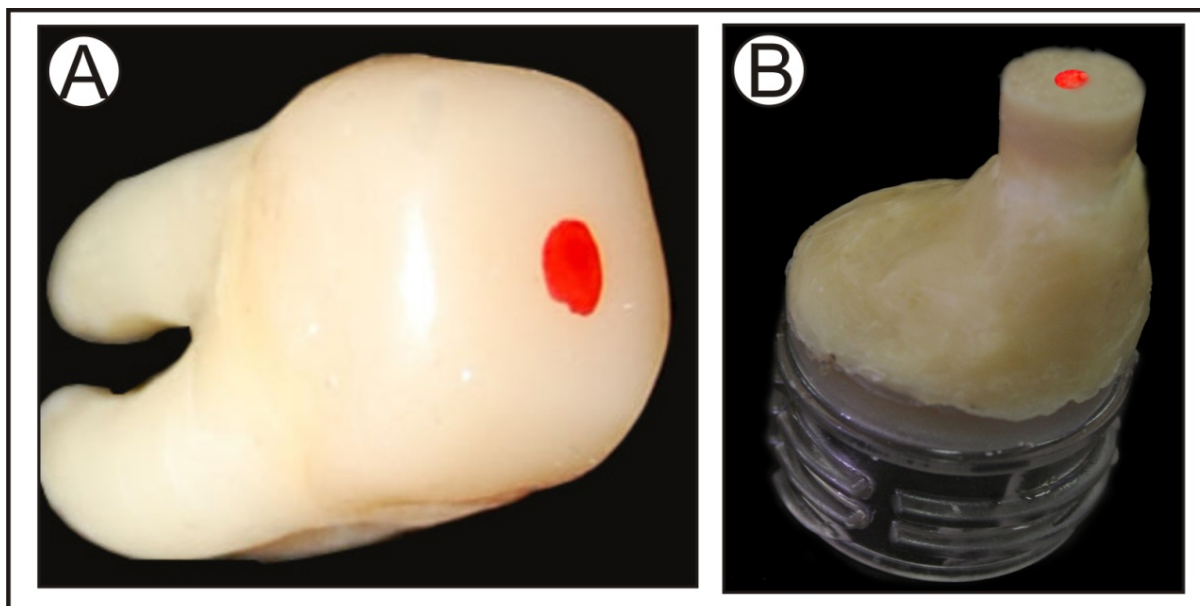


Figura 10- A) Dente restaurado e a região do palito a ser removido para o teste de nanoindentação delimitada pela cor vermelha. B) Dente fixado em suporte plástico com cera pegajosa

Foram realizados os cortes nos elementos dentários a uma velocidade de 350 rpm no sentido vestibulo-lingual e méso-distal, com o auxílio de um disco de diamante (Diamond Wafer Blade, Series 15HC, Buehler, EUA) de 10,2 cm de diâmetro e com uma espessura de 0,3 mm, em constante irrigação aquosa. Em seguida, foi feito um corte paralelo ao plano oclusal, obtendo-se corpos-de-prova em formato de palito com aproximadamente $0,8 \pm 0,1\text{mm}^2$ de secção transversal (Figura 11 A-D).

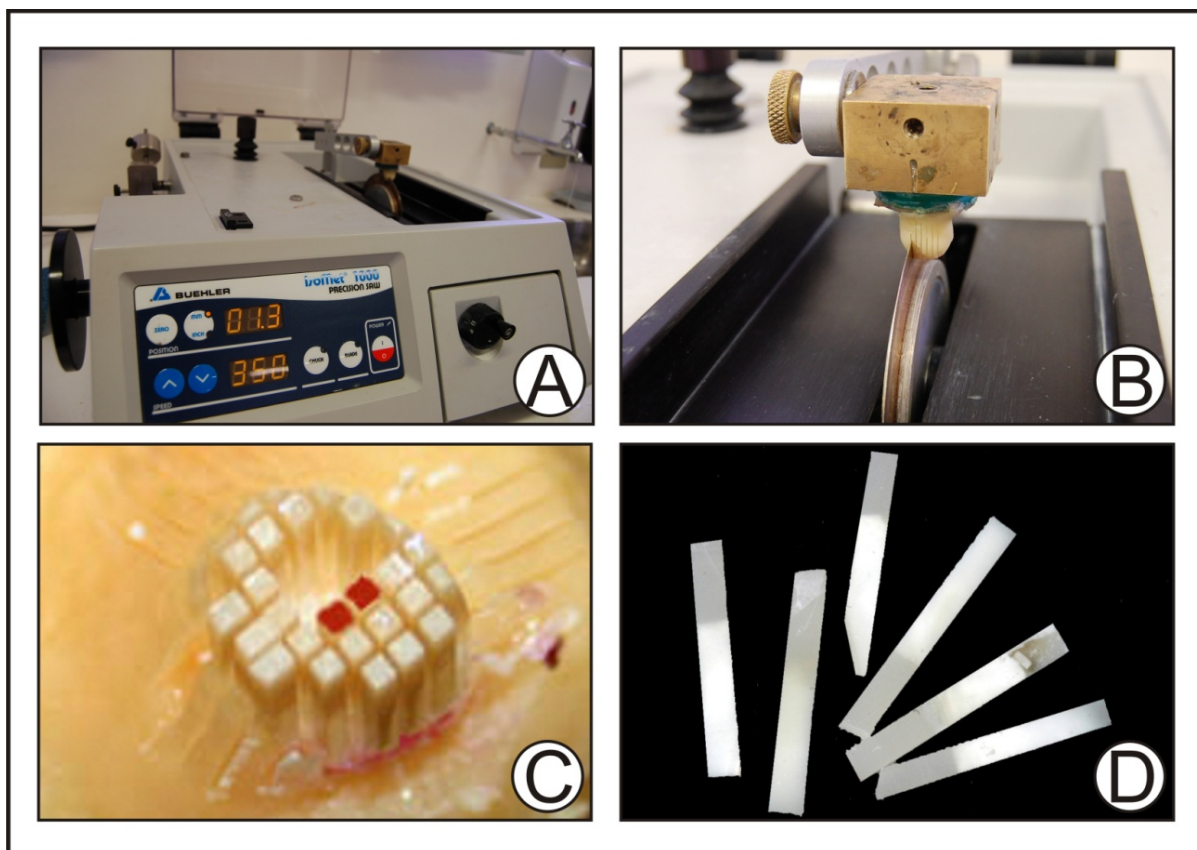


Figura 11- Sequência do corte dos espécimes. A) Máquina de corte Isomet 1000 ajustada para realização dos cortes; B) Realização dos cortes para obtenção dos espécimes; C) Obtenção dos espécimes; D) Espécimes em forma de palitos

Desta forma, foram obtidos espécimes em forma de palitos, constituídos por duas extremidades, dentina e resina composta, unidos pelo sistema adesivo após os tratamentos da superfície preconizados para cada grupo. Cada amostra foi observada com uma lupa de 20X para eliminar espécimes que pudessem apresentar esmalte, fendas, bolhas ou que fraturaram durante o corte. Os corpos-de-prova íntegros foram armazenados em umidade relativa à temperatura ambiente separando o corpo-de-prova central para o teste de nanoindentação.

4.3 Fixação e polimento das amostras para o teste de nanoindentação

As amostras foram fixadas com auxílio de uma parafina em um “porta-amostras” de 33 mm de diâmetro e 22 mm de altura, para facilitar o manuseio durante o polimento metalográfico. Inicialmente as amostras foram submetidas a lixas de carvão de silício com granulometrias 600, 1000, 1200, 1500, 2000 e 4000

(Figura 12-A). Posteriormente, foram utilizados discos de feltro macios com pasta diamantada, com tamanho de partícula de 1 e 1/4 μm , em uma máquina politriz Aropol S (Arotec, Cotia, SP, Brasil) em 300 rpm (Figura 12-B e C), produzindo superfícies lisas necessárias para os experimentos de nanoindentação. Entre cada passo e após o término do polimento, as amostras foram ultrassonicamente lavadas em água destilada por 12 min para limpeza do material removido da matriz. Após estocagem em água à 37°C por 24 h, os espécimes foram submetidos ao teste de nanoindentação. A microscopia óptica foi utilizada com o microscópio OLYMPUS – BX 51 (Olympus, Tokyo, Japão) para análise da superfície das amostras durante o polimento metalográfico (Figura 13 A-B).

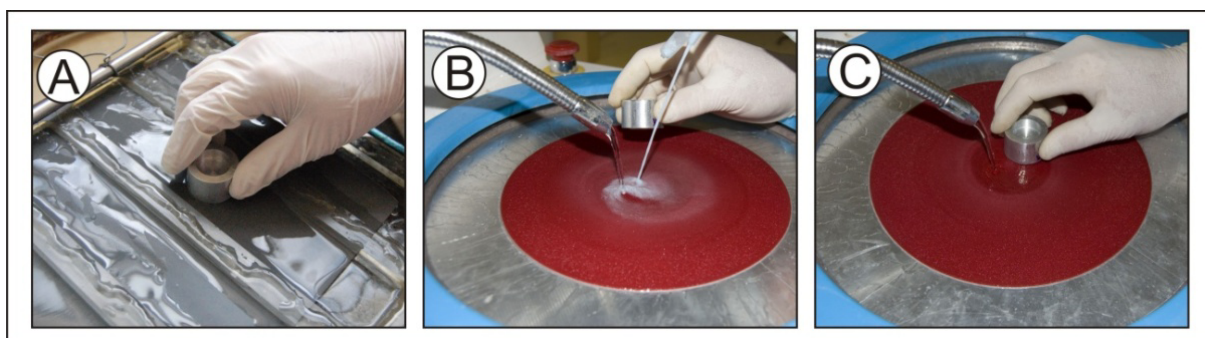


Figura 12- Polimento metalográfico. A) Polimento da amostra com lixas de decrescentes abrasividades. B) e C) Polimento das amostras com disco de feltro e pasta diamantada

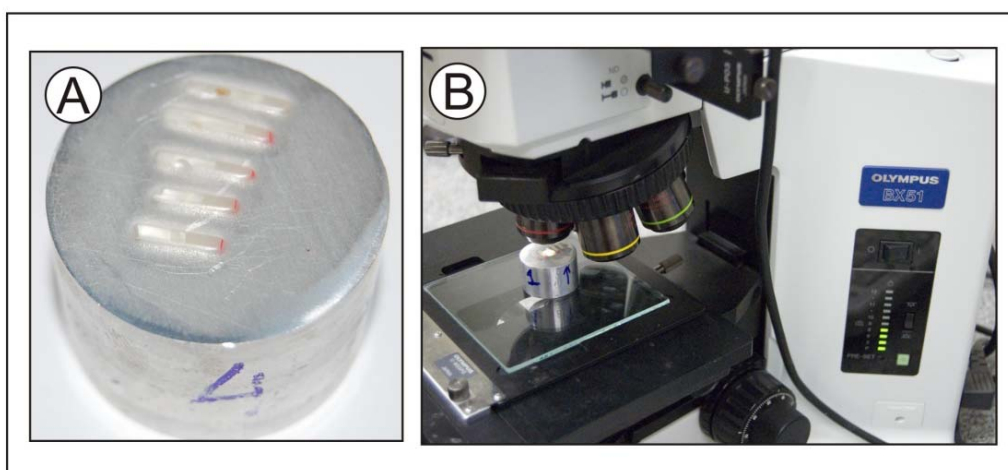


Figura 13- A) Porta-amostra com palitos polidos. B) Observação em microscópio óptico das superfícies devidamente polidas necessárias para o experimento de nanoindentação

4.3.1 Ensaios de Nanoindentação

Os experimentos de nanoindentação para obtenção das grandezas dureza e módulo de elasticidade das amostras foram realizados usando um Nano Indenter® XP (MTS, MN, EUA) (Figura 14-A), localizado no Laboratório de Propriedades Nanomecânicas da UFPR.

As amostras fixadas em um porta-amostra ficavam situadas sobre uma mesa que se movimenta, em relação ao microscópio ou ao penetrador, segundo as direções x , y (Figura 14-B). A posição de penetração na amostra foi selecionada utilizando um microscópio óptico o qual faz parte do equipamento. Uma câmera CCD (dispositivo de carga acoplada) estava montada no topo do microscópio a qual permite visualizar a imagem da amostra. O microscópio produzia ampliações de até 1000 X na tela do monitor (Figura 14-C). Todo o conjunto situava-se em uma cabine isoladora para que as medições fossem realizadas em alta precisão (Figura 14-D).

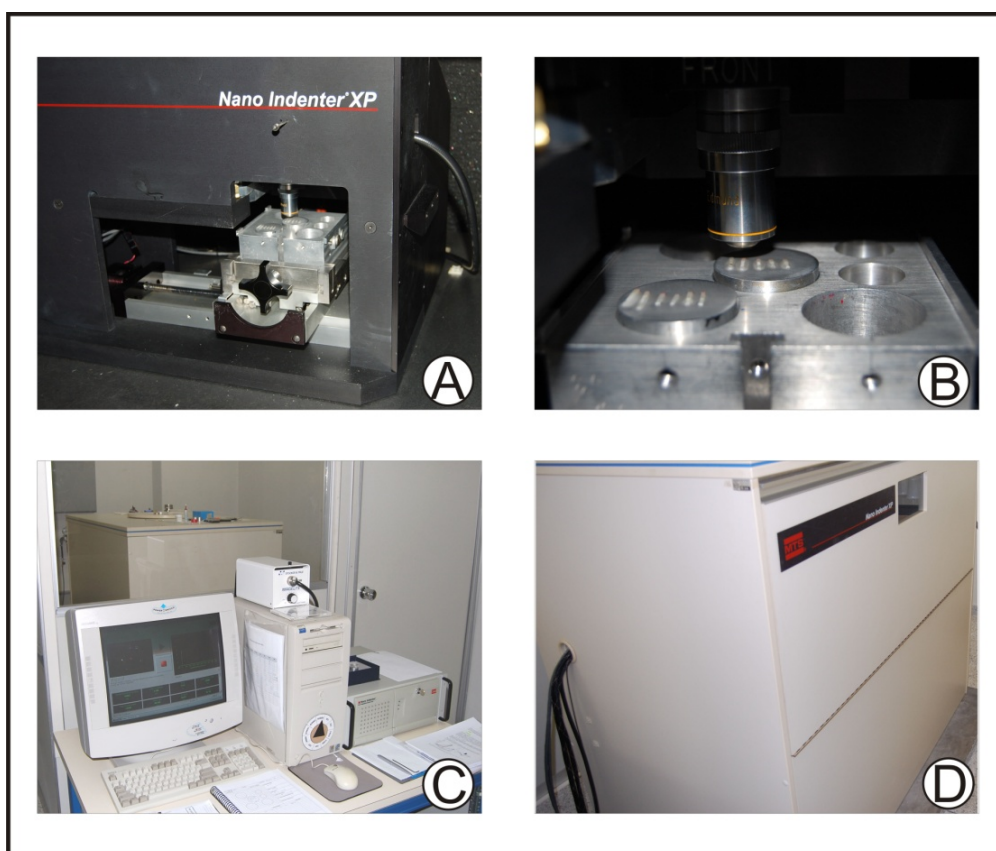


Figura 14- Vista do conjunto Nano Indenter® XP. A) Nano Indenter® XP. B) Porta-amostra com os palitos, situado sobre uma mesa que se movimenta, em relação ao microscópio ou ao penetrador. C) Conjunto de programação e controle formado pela estação de trabalho com seus periféricos. D) Cabine isoladora

No presente estudo a velocidade de aproximação do indentador em direção à superfície da amostra foi de 10 nm/s. Após o contato, o tempo utilizado durante o ciclo de indentação tanto para o carregamento quanto para o descarregamento foi de 10 s. Entre o ciclo de carregamento e de descarregamento a carga foi mantida constante por um período de 4 s. Os testes foram realizados em atmosfera e temperatura ambientes ($24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$), utilizando uma ponta Berkovich de base piramidal, com carga aplicada de 1 gf (10mN). Foram realizados doze testes de indentação para cada amostra (n=4 por condição experimental) na camada adesiva, determinando-se os valores de dureza e módulo de elasticidade. Realizou-se também, doze testes de indentação dispostos em forma de matrizes (4 x 3), com carga de 5 gf nas regiões da dentina e igualmente na região da resina composta.

4.4 Análise das amostras: Microscopia Óptica e Eletrônica de Varredura

Para identificação e aquisição das imagens das indentações realizadas nas amostras, foram utilizados Microscópio Óptico OLYMPUS–BX 51 (Olympus, Tokyo, Japão) (Figura 15) e Microscópio Eletrônico de Varredura (Shimadzu, Kyoto, Japão), ambos instalados nos laboratórios de Metalografia e Microscopia Eletrônica de Varredura, localizados no CIPP - Centro Interdisciplinar de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Estadual de Ponta Grossa. A microscopia óptica foi realizada para visualização das indentações realizadas. As amostras fixadas foram recobertas com uma fina camada de ouro-paládio através do Metalizador (Shimadzu, Kyoto, Japão) (Figura 16-A). Posteriormente, foram levados até a câmara de amostras do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) (Figura 16-B), para aquisição das imagens, devido à utilização de cargas muito pequenas durante os ensaios mecânicos e por serem regiões de dimensões micrométricas.

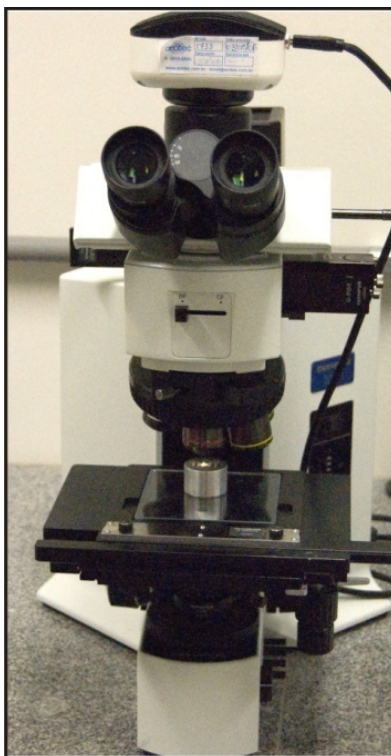


Figura 15- Microscópio óptico OLYMPUS-BX 51 (Olympus, Tokyo, Japão)

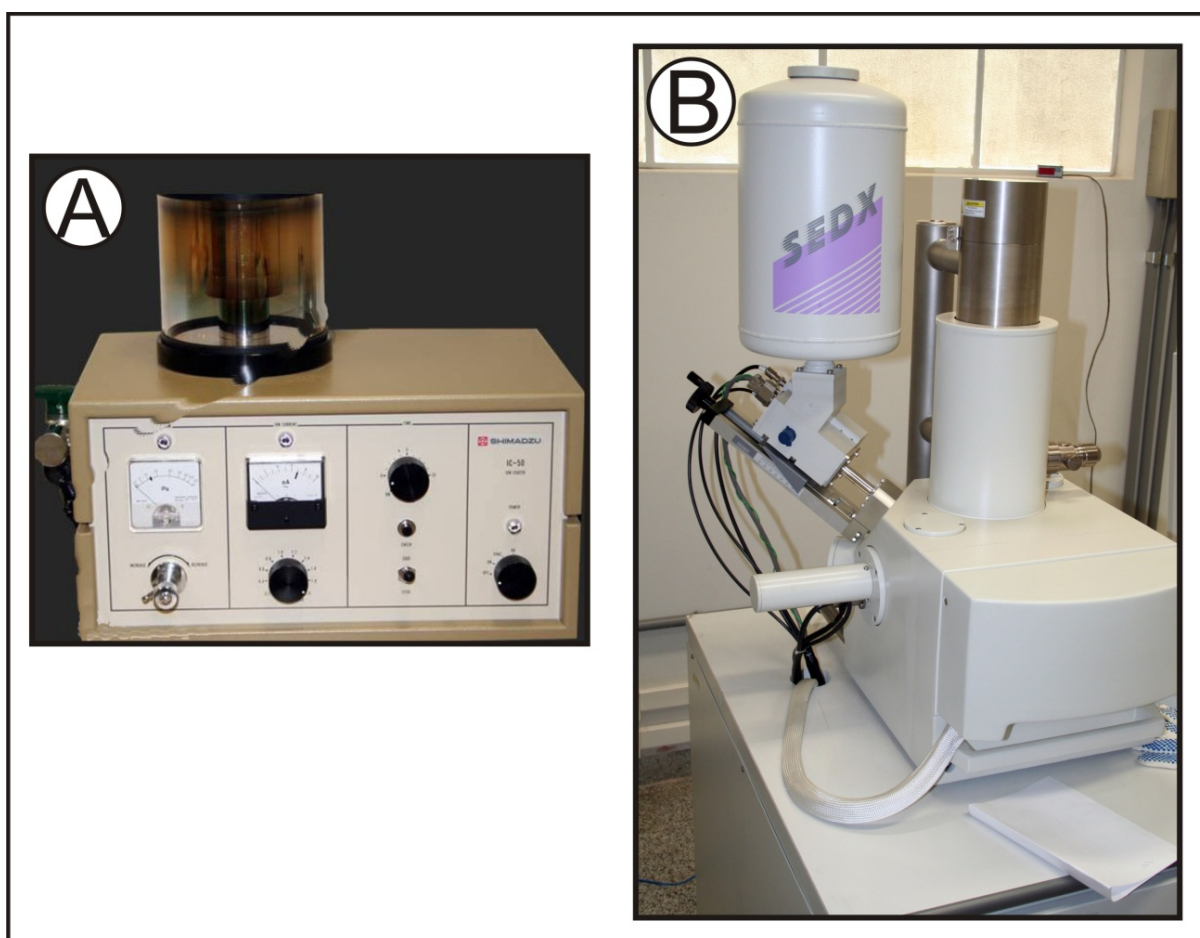


Figura 16- A) Metalizador (Shimadzu, Kyoto, Japão). B) Microscópio Eletrônico de Varredura (Shimadzu, Kyoto, Japão)

4.5 Análise Estatística

Uma média dos valores de dureza e módulo de elasticidade por dente foi calculada e estas médias (n=4 por condição experimental) foram empregadas para a análise estatística dos dados.

Os valores de dureza e módulo de elasticidade (GPa) da camada adesiva foram submetidos a uma análise de variância de 3 fatores (Sistema adesivo X Forma de aplicação X Profundidade do substrato dentinário). Realizou-se também a análise de variância de 2 fatores (Forma de Aplicação X Profundidade do substrato dentinário) para cada adesivo isoladamente. Para o contraste das médias foi utilizado o teste de comparações múltiplas de Tukey ($\alpha=0,05$). Todos os cálculos estatísticos foram realizados com o programa Statistica (Stat Soft®, Inc. São Caetano do Sul-SP- BRASIL).

5 RESULTADOS

5.1 Dentina

As médias e os desvios padrões da **dureza** (GPa) e do **módulo de elasticidade** (GPa) da dentina foram $0,818 \pm 0,059$ e $17,508 \pm 0,714$, respectivamente.

5.2 Resina composta

As médias e os desvios padrões da **dureza** (GPa) e do **módulo de elasticidade** (GPa) da resina composta foram respectivamente $0,944 \pm 0,046$ e $13,407 \pm 0,519$.

5.3 Camada adesiva

As médias e os desvios padrões da **dureza** e do **módulo de elasticidade** da camada adesiva de todos os grupos experimentais estão apresentados nas tabelas 1 e 2 respectivamente.

A análise de variância de 3 fatores para a variável **dureza** (Tabela 1) demonstrou que a interação tripla ($p=0,01766$), e as duplas Sistema adesivo vs Substrato dentinário ($p=0,03302$), Sistema adesivo vs Forma de aplicação ($p<0,00001$), Substrato dentinário vs Forma de aplicação ($p=0,00006$), assim como o fator principal Sistema adesivo ($p<0,0001$) foram estatisticamente significantes. O fator principal Forma de aplicação ($p=0,13545$) e Substrato dentinário ($p=0,10856$) não foram estatisticamente significantes.

Tabela 1- Valores das médias e desvios padrões da dureza (GPa) da camada adesiva para as diferentes condições experimentais do estudo

Sistemas Adesivos	Aplicação Ativa		Aplicação Passiva	
	Dentina Superficial	Dentina Profunda	Dentina Superficial	Dentina Profunda
Adper™ Single Bond 2	$0,280 \pm 0,010$ c,d,e	$0,314 \pm 0,011$ a,b	$0,324 \pm 0,017$ a	$0,298 \pm 0,011$ a,b,c,d
Adper™ SE Plus	$0,270 \pm 0,007$ d,e	$0,263 \pm 0,004$ e	$0,307 \pm 0,006$ a,b,c	$0,276 \pm 0,017$ d,e
AdheSE®	$0,286 \pm 0,008$ b,c,d,e	$0,289 \pm 0,015$ b,c,d,e	$0,269 \pm 0,013$ d,e	$0,261 \pm 0,013$ e

Nota: *Letras iguais significam médias estatisticamente semelhantes ($p>0,05$).

A análise de variância de 3 fatores para a variável **módulo de elasticidade** (Tabela 2) demonstrou que a interação tripla ($p=0,28234$), as duplas Sistema adesivo vs Substrato dentinário ($p=0,20118$) e Sistema adesivo vs Forma de aplicação ($p=0,10049$), assim como o fator principal Substrato dentinário ($p=0,77441$) não foram estatisticamente significantes. A dupla interação Substrato dentinário vs Forma de aplicação ($p=0,01967$), assim como o fator principal Sistema adesivo ($p<0,00001$) e Forma de aplicação ($p=0,00206$) foram estatisticamente significantes.

Tabela 2- Valores das médias e desvios padrões do módulo de elasticidade (GPa) da camada adesiva para as diferentes condições experimentais do estudo

Sistemas Adesivos	Aplicação Ativa		Aplicação Passiva	
	Dentina Superficial	Dentina Profunda	Dentina Superficial	Dentina Profunda
Adper™ Single Bond 2	4,915 ± 0,336 a,b,c	5,405 ± 0,194 a,b	5,544 ± 0,466 a	5,387 ± 0,368 a,b
Adper™ SE Plus	4,115 ± 0,098 e	4,165 ± 0,135 d,e	4,796 ± 0,165 b,c,d	4,381 ± 0,276 c,d,e
AdheSE®	4,528 ± 0,322 c,d,e	4,496 ± 0,096 c,d,e	4,576 ± 0,332 c,d,e	4,505 ± 0,171 c,d,e

Nota: *Letras iguais significam médias estatisticamente semelhantes ($p>0,05$).

Como forma de facilitar a compreensão dos dados, optou-se por realizar análises de variâncias de 2 fatores para cada um dos adesivos estudados. A análise de variância de 2 fatores do sistema adesivo Adper™ Single Bond 2 para a variável dureza (Tabela 3) a interação dupla ($p=0,00056$) foi estatisticamente significativa. Porém, com relação ao módulo de elasticidade (Tabela 4) nenhum dos fatores principais [Substrato ($p=0,36784$), Técnica ($p=0,11090$)] assim como a interação ($p=0,09409$) foi estatisticamente significativa ($p>0,05$). Pode-se notar para o adesivo Adper™ Single Bond 2 que em dentina superficial (Tabela 3), a aplicação passiva proporcionou os maiores valores de dureza e que em dentina profunda nenhuma diferença significativa entre as médias foi observada ($p>0,05$). Maiores valores de dureza foram encontrados em dentina superficial quando a aplicação foi passiva e em dentina profunda com a aplicação ativa. Com relação ao módulo de elasticidade da camada adesiva (Tabela 4), nenhuma diferença entre os grupos foi detectada.

Tabela 3- Valores das médias e desvios padrões da dureza (GPa) da camada adesiva para o sistema adesivo Adper™ Single Bond 2

Aplicação	Dentina Superficial	Dentina Profunda
Ativa	0,280 ± 0,010 b	0,314 ± 0,011 a
Passiva	0,324 ± 0,017 a	0,298 ± 0,011 a,b

Nota: *Letras iguais significam médias estatisticamente semelhantes ($p>0,05$).

Tabela 4- Valores das médias e desvios padrões do módulo de elasticidade (GPa) da camada adesiva para o sistema adesivo Adper™ Single Bond 2

Aplicação	Dentina Superficial	Dentina Profunda
Ativa	4,915 ± 0,336 a	5,405 ± 0,194 a
Passiva	5,544 ± 0,466 a	5,387 ± 0,368 a

Nota: *Letras iguais significam médias estatisticamente semelhantes ($p>0,05$).

A análise de variância de 2 fatores do sistema adesivo Adper™ SE Plus para a variável dureza (Tabela 5) demonstrou que a interação ($p=0,03699$), assim como os fatores principais [Substrato ($p=0,00371$), Técnica ($p=0,00041$)] foram estatisticamente significantes. Com relação ao módulo de elasticidade (Tabela 6), o fator principal Técnica ($p=0,00034$) e a interação ($p=0,02455$) foram estatisticamente significante ($p<0,05$), porém o fator principal Substrato ($p=0,0668$) não foi estatisticamente significante ($p>0,05$). A tabela 5 mostra que nenhuma diferença entre dentina superficial e profunda foi encontrada para a dureza quando o adesivo foi aplicado de forma ativa. Por outro lado, quando a aplicação foi passiva, maiores valores de dureza foram encontrados na dentina superficial. Fenômeno semelhante aconteceu com os valores de módulo de elasticidade deste material (Tabela 6).

Tabela 5- Valores das médias e desvios padrões da dureza (GPa) da camada adesiva para o sistema adesivo Adper™ SE Plus

Aplicação	Dentina Superficial	Dentina Profunda
Ativa	0,270 ± 0,007 c	0,263 ± 0,004 c
Passiva	0,307 ± 0,006 a	0,276 ± 0,017 b,c

Nota: *Letras iguais significam médias estatisticamente semelhantes ($p>0,05$).

Tabela 6- Valores das médias e desvios padrões do módulo de elasticidade (GPa) da camada adesiva para o sistema adesivo Adper™ SE Plus

Aplicação	Dentina Superficial	Dentina Profunda
Ativa	4,115 ± 0,098 c	4,165 ± 0,135 c
Passiva	4,796 ± 0,165 a	4,381 ± 0,276 b,c

Nota: **Letras iguais significam médias estatisticamente semelhantes (p>0,05)*

A análise de variância de 2 fatores do sistema adesivo AdheSE® para a variável dureza (Tabela 7) mostrou que apenas o fator técnica foi estatisticamente significativa ($p=0,0041$), sendo a aplicação ativa [$0,290 \pm 0,009$] estatisticamente maior que a passiva [$0,265 \pm 0,013$] ($p=0,0042$). Porém, com relação ao módulo de elasticidade (Tabela 8) nenhum dos fatores principais [Substrato ($p=0,688$), Técnica ($p=0,820$)], assim como a interação ($p=0,878$) foi estatisticamente significativa ($p>0,05$). Com relação aos valores de dureza (Tabela 7), pode-se observar que a aplicação ativa proporcionou a maior dureza tanto em dentina superficial quanto profunda, porém em dentina superficial este aumento não foi estatisticamente significativo, ou seja, a forma de aplicação não afetou a dureza da camada adesiva em dentina superficial. Nenhuma diferença entre os grupos foi observada com relação ao módulo de elasticidade (Tabela 8).

Tabela 7- Valores das médias e desvios padrões da dureza (GPa) da camada adesiva para o sistema adesivo AdheSE®

Aplicação	Dentina Superficial	Dentina Profunda
Ativa	0,286 ± 0,008 a	0,289 ± 0,015 a
Passiva	0,269 ± 0,013 a,b	0,261 ± 0,013 c

Nota: **Letras iguais significam médias estatisticamente semelhantes (p>0,05).*

Tabela 8- Valores das médias e desvios padrões do módulo de elasticidade (GPa) da camada adesiva para o sistema adesivo AdheSE®

Aplicação	Dentina Superficial	Dentina Profunda
Ativa	4,528 ± 0,322 a	4,496 ± 0,096 a
Passiva	4,576 ± 0,332 a	4,505 ± 0,171 a

Nota: **Letras iguais significam médias estatisticamente semelhantes (p>0,05).*

O Gráfico 1 ilustra doze curvas de carregamento-descarregamento produzidas por testes de indentação realizados na camada adesiva, em uma das amostras do presente estudo. A carga máxima utilizada no teste foi de 10 mN. Cada uma das curvas fornece as informações sobre o determinado ensaio e servem para caracterizar as propriedades mecânicas das amostras. A proximidade e similaridade das curvas juntamente com os baixos valores de desvio padrão obtidos no presente estudo mostram que a amostra utilizada no teste provavelmente não apresentou rugosidade significativa, condição necessária para o teste de nanoindentação, principalmente pela pequena carga aplicada e também pela pequena dimensão da ponta indentadora.

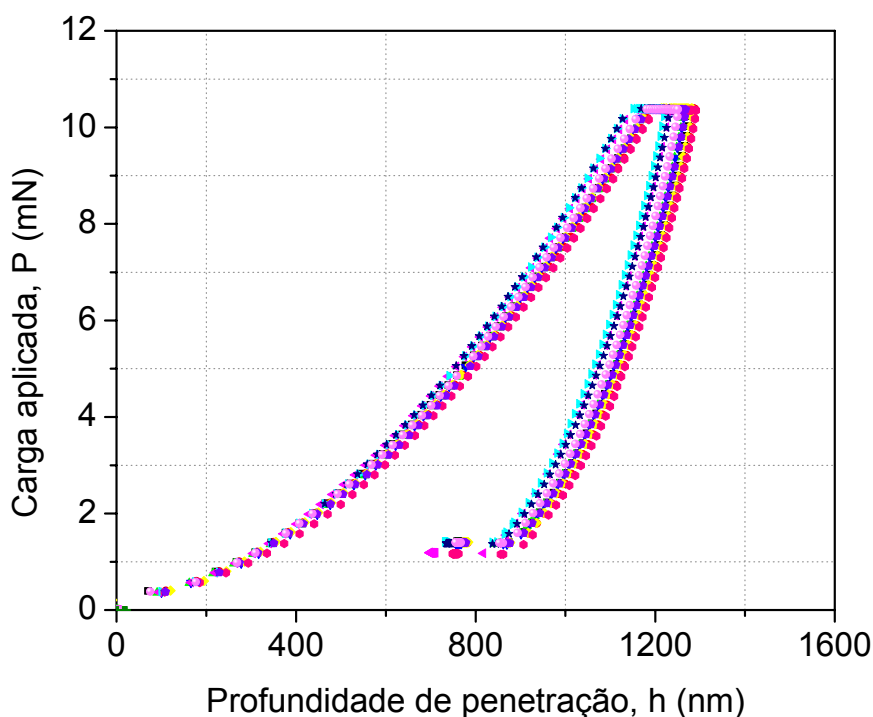


Gráfico 1- Curvas da carga aplicada P (mN) versus profundidade de penetração h (nm), com 12 indentações na amostra, em que cada cor representa uma indentação

5.4 Fotomicrografias obtidas em Microscopia Eletrônica de Varredura

Para ilustrar a geometria da indentação e a capacidade de precisão de posicionamento da técnica de nanoindentação, em cada região avaliada, realizou-se imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura, que podem ser observadas na

seguinte seqüência: dentina (DE) (Figura 17 A-B), resina composta (RC) (Figura 18 A-B) e camada adesiva (CA) (Figuras 19 A-B e 20 A-B).

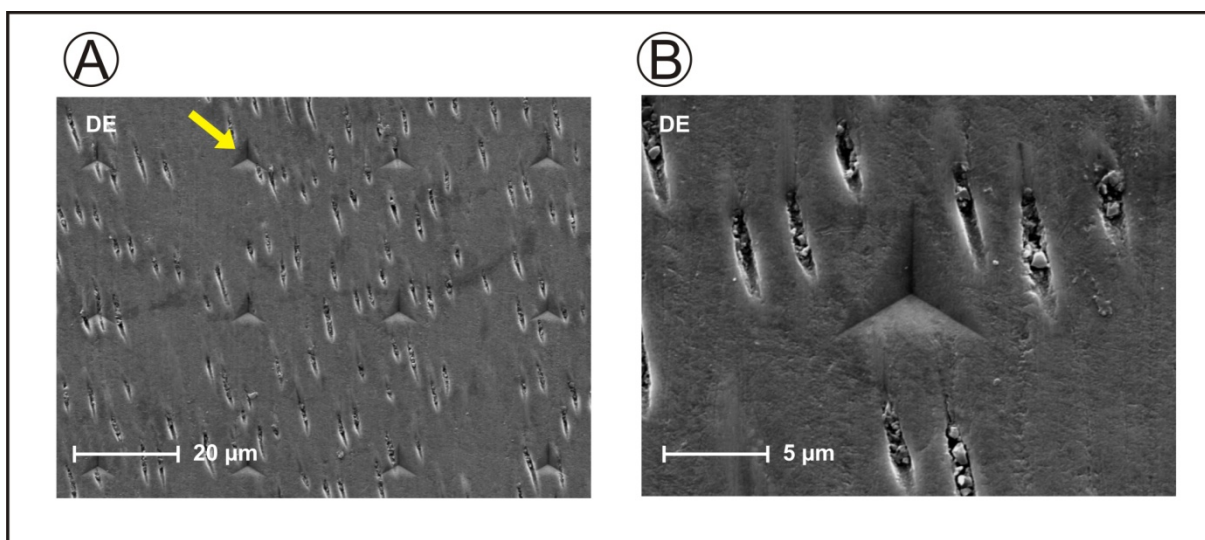


Figura17- Fotomicrografias por MEV de nanoindentações na região da dentina (DE). A) 12 indentações dispostas em forma de matriz (4 x 3) na DE, com magnificação de 600X. B) Indentação na DE, com magnificação de 2400X

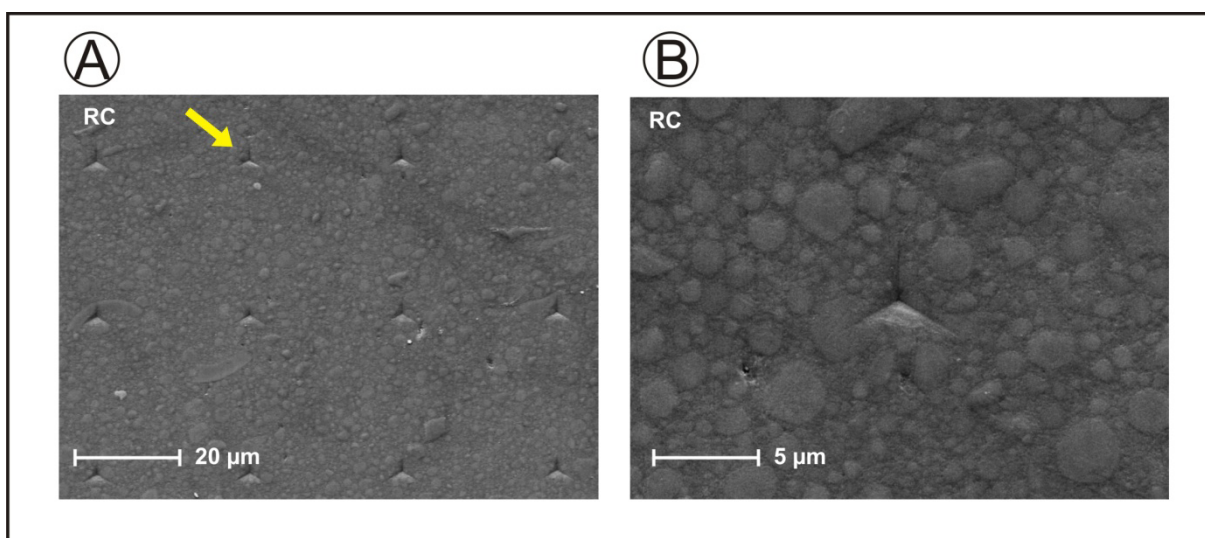


Figura18- Fotomicrografias por MEV de nanoindentações na região da resina composta (RC). A) 12 indentações dispostas em forma de matriz (4x3) na RC, com magnificação de 600X. B) Indentação na RC, com magnificação de 2400X

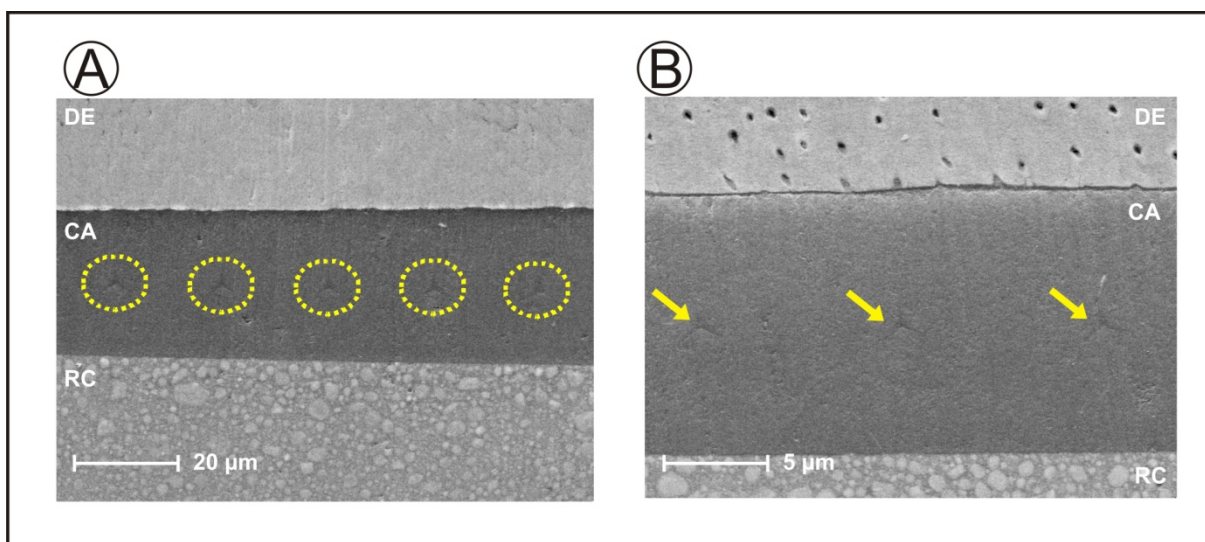


Figura19- Fotomicrografias por MEV de nanoindentações na região da camada adesiva (CA). A) Indentações realizadas em linha reta, no centro da CA, com magnificação de 700X. B) Indentação na CA, com magnificação de 1000X

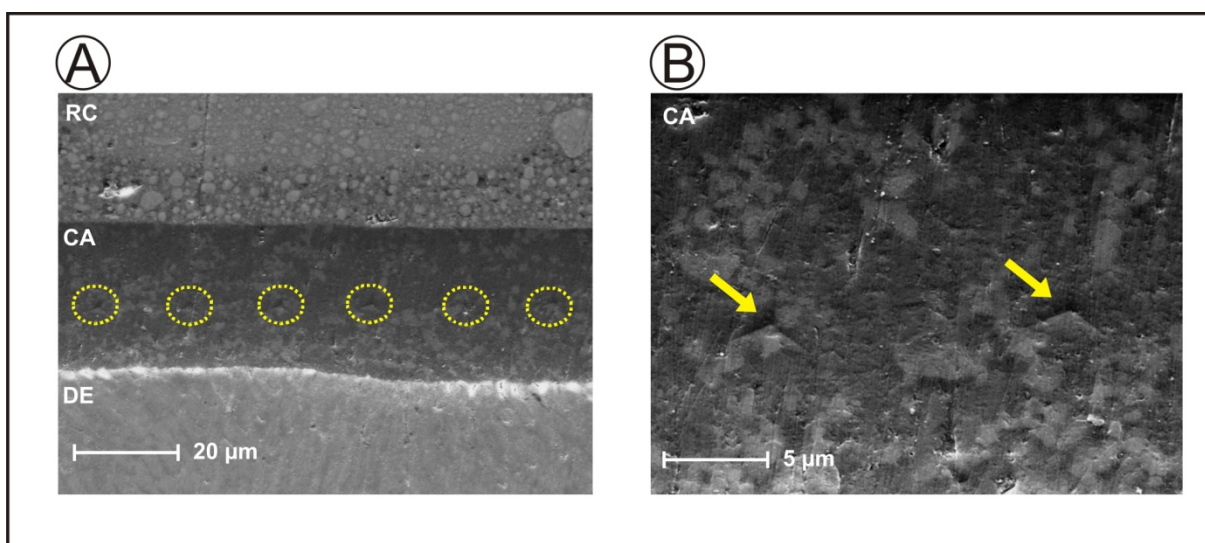


Figura 20- Fotomicrografias por MEV de nanoindentações na região da camada adesiva (CA). A) Indentações realizadas em linha reta, no centro da CA, com magnificação de 600X. B) Indentação na CA, com magnificação de 2000X

6 DISCUSSÃO

O principal objetivo da Odontologia Restauradora Adesiva é proporcionar aos tecidos dentais um selamento marginal durável e efetivo. Desta forma, estudos são realizados para verificar os mecanismos de união aos diferentes substratos dentais, favorecendo o aprimoramento de técnicas e desenvolvimento de materiais para mimetizar e substituir de forma efetiva a estrutura dental perdida. Apesar de ser grande o número de investigações sobre o tema, a relação entre as propriedades mecânicas e a resistência de união da camada adesiva ainda não foram totalmente elucidadas.

A estrutura heterogênea da dentina proporciona difíceis condições para adesão, gerando resultados controversos com relação à qualidade deste procedimento, quando são aplicados em dentina superficial ou profunda (Garcia et al.⁶⁹ 2009). Desta forma, o mecanismo de união em dentina profunda, a qual possui maior quantidade e diâmetro de túbulos dentinários, é considerado mais crítico do que em dentina superficial (Toledano et al.³¹ 2003). Além disso, na dentina profunda, a maior parte da força adesiva advém dos prolongamentos resinosos gerados pela permeabilidade da dentina, os quais encontram dificuldade na formação pela presença do fluido dentinário e pressão intratubular (Pashley et al.³ 1995). Estudos mostram diferentes valores detectados em diferentes regiões das dentinas coronárias e radicular (Yoshiyama et al.³⁹ 1998, Lopes et al.³⁴ 2006). Outra variável em análise é o tipo de sistema adesivo utilizado nos diferentes substratos. Assim, Lopes et al.³⁴ (2006) utilizando sistemas adesivos convencionais e autocondicionante simplificados em diferentes profundidades do substrato dentinário, verificou que o tratamento da superfície com ácido aumenta a *RU* de restaurações adesivas, e que a composição de cada sistema adesivo influencia estes resultados em diferentes substratos.

Os adesivos autocondicionantes proporcionam uma zona de desmineralização mínima, permitindo que o monômero penetre em toda a dentina desmineralizada, sem deixar fibras colágenas expostas a uma possível hidrólise, retardando a degradação da interface de união resina-dentina (Bortolloto et al.⁷⁰ 2008). Porém, estes sistemas adesivos produzem uma camada híbrida de baixa qualidade, desencadeando uma baixa resistência adesiva e necessitando de procedimentos alternativos para melhorar o desempenho clínico (Gokce et al.⁴³

2008, Amaral et al.⁴⁴ 2009). Entretanto, Sattabanasuk et al.³² (2004) verificaram maior resistência de união em dentina profunda com o sistema adesivo autocondicionante e em dentina superficial, não obtiveram diferenças significantes entre os sistemas adesivos. Com base nisso, mais pesquisas são necessárias para que os sistemas adesivos promovam adequada adesão em todos os níveis de profundidade dentinária, permitindo uma melhor compreensão do desempenho desses sistemas quando aplicados em diferentes substratos dentinários.

As diferenças encontradas no comportamento de novos produtos lançados continuamente no mercado, em relação ao grau de profundidade dentinária, exigem estudos sobre os mecanismos de formação da camada híbrida e a resistência de união em substratos dentinários (Van Meerbeek et al.¹⁹ 1993, Pashley et al.²⁶ 1995, Pashley, Carvalho²⁴ 1997). Na maioria dos trabalhos *in vitro* a metodologia empregada consiste na obtenção de superfícies dentinárias planificadas a partir do desgaste com lixas ou cortes com discos diamantados perpendiculares ao longo eixo de elementos dentários proporcionando diferentes níveis de profundidade, os quais são determinados diretamente nos espécimes com auxílio de um paquímetro digital, muitas vezes desconsiderando as variações morfológicas de cada dente (Yoshikawa et al.²⁷ 1999, Kaaden et al.²⁹ 2002, Lopes et al.³⁴ 2006).

A microestrutura local da dentina, que está sujeita a variações regionais do substrato, pode modificar o comportamento dos materiais restauradores cuja durabilidade depende das técnicas adesivas (Reis et al.⁴⁰ 2001). É a partir da falta de uniformidade do substrato segundo a localização, morfologia, distribuição dos elementos estruturais, permeabilidade e umidade intrínseca que se observam variações na superfície disponível para adesão, dureza e, conseqüentemente, na resistência de união (Perdigão et al.⁷¹ 1994, Angker et al.³⁰ 2003). Para Pongprueksa et al.⁵⁷ (2008) a diminuição em dureza da dentina em direção a polpa pode ser atribuído a mudanças na dureza da dentina intertubular, e não para um aumento no número de túbulos como previamente sugerido. Os diferentes sistemas adesivos investigados neste estudo encontraram diferentes desempenhos nas várias regiões de dentina. Para o adesivo Adper™ Single Bond 2 em dentina superficial, a aplicação passiva proporcionou os maiores valores de dureza e em dentina profunda a aplicação ativa.

Kaaden et al.²⁹ (2002), padronizaram os diferentes substratos, seccionando os dentes longitudinalmente em direção mesiodistal em uma máquina

de cortes seriados. Em seguida, removeu o tecido pulpar com instrumento cortante manual e embutiu os dentes com resina acrílica autopolimerizável em um cilindro de PVC sem cobrir a câmara pulpar, que era preenchida com algodão úmido. As superfícies dos dentes foram lixadas em politriz com lixas de carbetto de silício 600. Assim, foram obtidos três substratos diferentes: esmalte (n=30), dentina superficial (2,0–2,5 mm distanciam a polpa) (n=30), e dentina profunda (0,5–1,0 mm para polpa) (n=30). A padronização do substrato de Yoshikawa et al.²⁷ (1999), foi mais homogênea durante a obtenção da dentina profunda com valores de espessura de remanescente dentinário entre $1,5 \pm 0,4$ mm e $1,2 \pm 0,2$ mm, no entanto para a dentina superficial foi mais irregular, entre $1,9 \pm 0,5$ mm e $3,1 \pm 0,5$ mm, apresentando diferenças significativas. O presente estudo procurando padronizar dentina superficial e profunda realizou radiografias periapicais dos dentes que serviram de meios auxiliares por meio da análise da proximidade da câmara pulpar e consequentemente na determinação da altura do corte oclusal. Sendo assim, a variabilidade do substrato dentinário em função da anatomia do complexo dentino-pulpar foi considerada, com a superfície dentinária obtida a partir de cortes perpendiculares correspondendo ao mesmo tipo de dentina. Porém, as diferenças nos resultados observados entre os dentes para dentina superficial e profunda pode ser explicada pela falta de uniformidade do substrato.

A aplicação ativa no substrato dentinário com adesivos convencionais de dois passos tem sido uma alternativa de fácil aplicabilidade clínica, resultando em melhor desempenho destes sistemas (Dal-Bianco et al.¹¹ 2006). No presente estudo a aplicação ativa proporcionou a maior dureza tanto em dentina superficial quanto profunda para o sistema adesivo AdheSE®, sendo utilizada de forma padronizada conforme a mesma metodologia empregada com sistemas adesivos convencionais dos estudos de Dal-Bianco et al.¹¹ (2006) e Higashi et al.²⁰ (2009), ou seja, através da mensuração da pressão aplicada em uma balança de precisão em $34,5 \pm 6,9$ g de variação. Além disso, a pressão mecânica aplicada no *microbrush* na forma ativa favorece um maior potencial em dissolver a *smear layer*, além de um aumento na agitação das moléculas permitindo assim uma maior evaporação do solvente e consequentemente uma melhor difusão dos monômeros no substrato dentinário, levando assim, a um aumento do percentual de formação de polímeros e melhorando as propriedades mecânicas da camada adesiva (Breschi et al.⁷² 2008).

A dureza e módulo de elasticidade da interface resina-dentina podem ser influenciadas pelas propriedades físicas da dentina obtidas de diferentes regiões do dente (Angker et al.³⁰ 2003), assim como de dente para dente (Hosoya et al.⁵⁶ 2008). Sendo assim, os resultados de testes de nanoindentação devem ser analisados com cautela. Apesar de ser de tamanho reduzido, a ponta ativa pode, inadvertidamente, tocar substratos adjacentes com diferentes propriedades, incorporando erros de leitura e interpretação nas análises. Outro fator a ser considerado, é saber como extrapolar os dados obtidos em estudos laboratoriais e para uma situação clínica, pois certamente um adesivo que tenha um desempenho ruim em um estudo laboratorial não será indicado para a aplicação clínica (De Munck et al.³⁷ 2005). As diferenças nos resultados obtidos entre os estudos ocorrem devido a uma série de fatores que não podem ser controladas pelo pesquisador em um estudo *in vivo* e que podem ser passíveis de controle *in vitro*. Uno e Finger⁷³ (1995) ao avaliarem o efeito da desproteinização com NaOCl 10% sobre a resistência da união, adaptação marginal e morfologia da interface adesiva em dentes humanos, afirmaram que o módulo de elasticidade da camada híbrida estaria próximo ao da dentina e que a rede de colágeno agiria como absorvedor de tensões geradas pela contração de polimerização.

As principais vantagens da técnica da nanoindentação com relação aos métodos convencionais de medição de dureza são a possibilidade de medir propriedades elásticas tal como o módulo de elasticidade e diferentemente dos testes convencionais de microdureza Vickers ou Knoop dispensa a visualização da impressão residual plástica para a medição da área real do contato, pois a posição relativa do indentador na superfície do espécime é constantemente monitorada e a área de indentação é calculada de acordo com a profundidade da indentação e da geometria da ponta de diamante do aparelho nanoindentador (Van Meerbeek et al.¹⁹ 1993; Oliver, Pharr²² 1992). Sendo assim, podem ser evitados erros na mensuração do comprimento diagonal de pequenas durezas Vickers ou Knoop.⁶⁶ O aparecimento de novas técnicas de medição dinâmica de profundidade e de resolução óptica proporciona um novo fôlego na investigação da dureza dos materiais, possibilitando a medição dinâmica do valor da carga, da profundidade de indentação e até da temperatura do ensaio.

Os dados gerados por Van Meerbeek et al.¹⁹ (1993), empregando a técnica de nanoindentação diretamente sobre a interface adesiva, serviram de

sustentação para a aceitação de que a zona desmineralizada pode não ser completamente infiltrada pelos agentes adesivos durante a formação da camada híbrida. Salientaram também, que o menor módulo de elasticidade observado para a camada híbrida em comparação com a dentina subjacente e a resina, somente poderia ser explicado pela presença de fibras colágenas desmineralizadas e não protegidas pelo agente resinoso.

Para contrastar com os resultados da literatura e certificar-se da metodologia empregada, realizaram-se indentações no presente estudo na resina composta ($H = 0,94 \pm 0,05$ e $E = 13,4 \pm 0,52$) e na dentina ($H = 0,82 \pm 0,06$ e $E = 17,51 \pm 0,71$), utilizando a mesma resina diante das diferentes condições experimentais. Embora os valores de dureza e módulo de elasticidade variarem entre os estudos, concordaram com os resultados publicados por Higashi et al.²⁰ (2009) tanto para a resina composta ($H=1,02 \pm 0,07$ e $E=14,94 \pm 0,67$ GPa) como para a dentina ($H=0,69 \pm 0,10$ e $E=17,94 \pm 1,84$ GPa), para algumas resinas dos estudos de Willems et al.⁴⁷ (1993) (Bell Firm PX - Resina/partículas pré-polymerizadas, $H=0,16 \pm 0,03$ e $E=15,80 \pm 1,75$ GPa), Chung e Yap⁵⁴ (2005) (Z100 ($H=1,18$ a $1,27$ e $E=14,02$ a $14,83$ GPa) e com as médias obtidas na dentina dos trabalhos de Van Meerbeek et al.¹⁹ (1993) ($H=0,50 \pm 0,83$ e $E=19,26 \pm 2,27$ GPa) e Kinney et al.⁴⁸ (1996) ($H=0,51 \pm 0,02$ e $E=17,7 \pm 0,3$ GPa), demonstrando a reprodutibilidade do método empregado. No estudo de Pongprueksa et al.⁵⁷ (2008) o módulo de elasticidade da dentina (25 GPa) é bastante alto e atribuem ao uso de espécimes desidratados para realizarem o teste de dureza, concordando com o estudo de Kinney et al.⁴⁸ (1996) que informam que dentina seca provavelmente terá maior dureza que dentina úmida.

Também, ao contrário do que foi esperado, a aplicação passiva proporcionou os maiores valores de dureza de adesivo em dentina superficial e não afetou o módulo de elasticidade da camada adesiva formado por Adper™ Single Bond 2 com aplicação de fricção vigorosa. Exatamente uma resposta oposta foi esperada, devido a resultados prévios da literatura que demonstraram que o grau de polimerização é correlatado negativamente com a quantia de solventes apresentados no adesivo, significando que quanto mais alta a quantia de água/solvente, mais baixo é o grau de polimerização. O comportamento tanto do Adper™ Single Bond 2 como do AdheSE® com relação ao módulo de elasticidade

foi indiferente, significando que, indiferentemente do modo de aplicação ou do substrato dentinário, esta propriedade não é afetada.

Em cada sistema adesivo, há uma concentração de solvente conhecida na qual uma máxima conversão de monômeros é alcançada, que parece estar relacionada à sua viscosidade, podendo influenciar suas propriedades mecânicas. Embora não mensurado neste estudo, era visualmente evidente que Adper™ SE Plus é mais viscoso que Adper™ Single Bond 2. Assim, um substrato dentinário úmido durante a técnica adesiva pode ser benéfico para o Adper™ SE Plus diminuindo a viscosidade do adesivo e possibilitando maior mobilidade dos componentes da reação durante polimerização. Desta forma, permite-se um maior contato entre os monômeros resinosos e um aumento do grau de conversão, representado indiretamente por maiores valores de dureza e módulo de elasticidade do material. Entretanto, apesar de considerarmos o adesivo Adper™ SE Plus de alta viscosidade, a aplicação ativa resultou em uma espessura de película visivelmente mais fina, o que pode ter influenciado as propriedades mecânicas do mesmo, necessitando esta hipótese ser tópico de futuros estudo para confirmação.

No presente estudo optou-se por realizar as indentações exatamente no meio da camada adesiva, pois de acordo com Hosoya et al.⁵⁶ (2008) a camada híbrida tem aproximadamente 1 µm de espessura, e assim como a indentação pode incluir a camada híbrida, pode também incluir prolongamentos de resina e dentina abaixo da camada híbrida, resultando em alto desvio padrão dos dados registrados da região de interface e consequentemente gerar dúvidas com relação aos resultados na camada híbrida. Sendo assim, a proximidade e similaridade das curvas de carregamento-descarregamento observadas no presente estudo, além de justificarem o baixo desvio padrão, significam que a amostra foi bem polida, favorecendo a condição de possuir baixa rugosidade ao teste de nanoindentação, pela pequena carga aplicada e dimensão da ponta indentadora. Esforços direcionados para realização de trabalhos adicionais estabelecerão a variabilidade natural das propriedades mecânicas de tecidos mineralizados e relacionarão estas propriedades a concentração mineral, composição estrutural, idade e doença.

Takahashi et al.⁵⁰ (2002) verificaram que a adição de partículas de carga aumenta as propriedades mecânicas, pois adesivos que contêm nanopartículas Clearfill SE Bond e Imperva Fluoro Bond, mostraram módulos maiores que o adesivo sem carga Tokuso Mac-Bond II. Porém, Unifil Bond que

também contém partículas de carga, apresentou menor dureza e módulo de elasticidade, comparado a Clearfill SE Bond e Imperva Fluoro Bond. De acordo com os autores, a razão para estes resultados não está clara, mas pode ocorrer devido à composição do sistema adesivo, ou mais especificamente o conteúdo de partículas de carga. Afirmaram também que as propriedades mecânicas iniciais dos adesivos podem influenciar ao longo do tempo a interface adesiva, afetando a longevidade de restaurações. Sendo assim, concluíram que sistemas adesivos devem obter propriedades mecânicas mais altas após a polimerização para obterem melhores desempenhos clínicos.

As pesquisas do comportamento físico-mecânico das interfaces estabelecidas pelos sistemas adesivos e o substrato dentário constitui-se recurso importante que, somado a outros experimentos *in vitro* e *in vivo*, contribui com a elaboração de um prognóstico restaurador, aceitável ou não, sobretudo, quando se considera o número extenso de materiais disponíveis, bem como a velocidade com que são lançados e retirados do mercado, não havendo, às vezes, tempo para que sua performance seja criteriosamente avaliada (Carrilho et al.⁷⁴ 2002). Assim, os testes laboratoriais representam um importante parâmetro para análise desses materiais, que ao demonstrarem um desempenho eficaz *in vitro*, podem ser comercializados e avaliados na clínica odontológica.

Van Meerbeek et al.¹⁹ (1993) concluíram que a área de interdifusão resina-dentina juntamente com o adesivo resinoso não apenas provê uma adequada adesão micromecânica da restauração em dentina, porém parece ter uma inerente elasticidade e flexibilidade que contribui à conservação desta união. Esta investigação verificou uma gradiente de módulo de elasticidade da interface de união resina-dentina, validando o conceito de parede cavitária elástica (Kemp-Scholte, Davidson⁴⁶ 1990). Esta gradiente foi mais significativa nos sistemas que produziram camadas de adesivo resinoso, relativamente espessas ou quando adicionando uma resina de baixa-viscosidade como um intermediário entre a camada de adesivo resinoso e a restauração de resina composta. Assim, uma interface de união elástica poderia ter uma capacidade suficiente para aliviar tensões entre a contração da restauração e o substrato dentinário rígido, melhorando a adaptação marginal e retenção da restauração.

Uma espessura mínima de cerca de 20 µm da camada de sistema adesivo deveria ser a ideal para se evitar a inibição da polimerização pelo oxigênio

(Carvalho et al.⁵ 2004) e uma segunda aplicação de adesivo, principalmente quando do uso de sistemas simplificados torna-se importante para tornar esta camada mais uniforme, resultando em melhor adesão (Nakaoki et al.¹⁸ 2005). O estresse gerado pela contração de polimerização da resina composta pode ser minimizado quando sistemas adesivos de baixo módulo de elasticidade são aplicados em camada menor e já os de maior módulo de elasticidade, deveriam ser aplicados em maior espessura para alcançar tal propósito (Ausiello et al.⁴² 2002).

A gradiente de módulo de elasticidade é mais pronunciada em sistemas que formam camadas mais espessas ou incluem uma restauração de resina de baixa-viscosidade (Van Meerbeek et al.¹⁹ 1993). Nota-se, portanto, que não há consenso entre os autores sobre a correlação entre espessura do adesivo e resistência adesiva. Essa possível correlação é defendida baseada no módulo de elasticidade da camada de adesivo. Lopes et al.³⁴ (2006) afirmam que uma camada de resina intermediária suficientemente flexível pode resistir ao estresse de contração de polimerização da resina composta e também melhorar a distribuição de estresses induzidos por mudanças térmicas, absorção de água e forças oclusais na interface. Entretanto, estudos podem ser realizados relacionando as propriedades mecânicas da camada adesiva e a espessura dos sistemas adesivos, pois a contração de polimerização pode ser minimizada quando os sistemas adesivos são aplicados em espessura adequada, a partir da análise do módulo de elasticidade.

7 CONCLUSÕES

De acordo, com a proposição em estudo e com os resultados obtidos, pôde-se concluir que:

- 1) Aplicação passiva em dentina superficial obteve maiores valores de dureza e módulo de elasticidade dos sistemas adesivos Adper™ Single Bond 2 e Adper™ SE Plus.
- 2) Aplicação ativa em dentina profunda obteve maiores valores de dureza e módulo de elasticidade do sistema adesivo Adper™ Single Bond 2. Porém, não houve diferença entre os substratos dentinários ao aplicar ativamente o sistema adesivo Adper™ SE Plus.
- 3) Aplicação ativa influenciou significativamente os valores de dureza na região da camada adesiva do AdheSE® tanto em dentina superficial quanto profunda, porém isto não foi observado para o módulo de elasticidade.

REFERÊNCIAS*

1. Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res*. 1955 Dec;34(6):849-53.
2. Swift EJ Jr, Wilder AD Jr, May KN Jr, Waddell SL. Shear bond strengths of one-bottle dentin adhesives using multiple applications. *Oper Dent*. 1997 Sep-Oct;22(5):194-9.
3. Pashley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RC. Adhesion testing of dentin bonding agents: A review. *Dent Mater*. 1995;11:117-25.
4. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent*. 2003 May-Jun;28(3):215-35.
5. Carvalho RM, Carrilho MRO, Pereira LCG, Garcia F, Marquezini L Jr, Silva SMA, et al. Sistemas adesivos: fundamentos para a compreensão de sua aplicação e desempenho em clínica. *Biodonto*. 2004;2(1):1-89.
6. 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 Mar;26(9):1035-42.
7. Uceda-Gómez N, Reis A, Carrilho MR, Loguercio AD, Rodrigues Filho LE. Effect of sodium hypochlorite on the bond strength of an adhesive system to superficial and deep dentin. *J Appl Oral Sci*. 2003; 11(3):223-8.
8. Pashley DH, Sano H, Yoshiyama M, et al. Dentin, a dynamic bonding substrate: the effects of dentin variables on resin adhesion. In: Shimono M, Maeda T, Suda H, Takahashi K, editors. *Proceedings of the International Conference on the Dentin/PulpComplex*. Tokyo: Quintessence Publishing Co; 1996. p:11-21.
9. Owens BM, Johnson WW. Effect of single step adhesives on the marginal permeability of class V resin composites. *Oper Dent*. 2007 Jan-Feb;32:67-72.
10. Miyazaki M, Platt JA, Onose H, Moore BK. Influence of dentin primer application methods on dentin bond strength. *Oper Dent*. 1996 Jul-Aug;21(4):167-72.

* De acordo com a norma do Programa de Pós-graduação em Odontologia Stricto-sensu da UEPG, baseado no modelo Vancouver. Abreviaturas dos periódicos em conformidade com o Medline.

11. Dal-Bianco K, Pellizzaro A, Patzlaft R, de Oliveira Bauer JR, Loguercio AD, Reis A. Effects of moisture degree and adhesive agitation on the immediate resin-dentin bond strength. *Dent Mater*. 2006 Dec; 22:1150-6.
12. el-Din AK, Abd el-Mohsen MM. Effect of changing application times on adhesive systems bond strengths. *Am J Dent*. 2002 Oct;15:321-4.
13. Miyazaki M, Tsubota K, Onose H, Hinoura K. Influence of adhesive application duration on dentin bond strength of single-application bonding systems. *Oper Dent*. 2002 May-Jun;27(3):278-83.
14. Cardoso PC, Loguercio AD, Vieira LC, Baratieri LN, Reis A. Effect of prolonged application times on resin-dentin bond strengths. *J Adhes Dent*. 2005 Summer; 7(2):143-9.
15. Frankenberger R, Perdigão J, Rosa BT. "No-bottle" vs "multi-bottle" dentin adhesives - a microtensile bond strength and morphological study. *Dent Mater*. 2001 Sep;17:373-80.
16. Hashimoto M, Sano H, Yoshida E, Hori M, Kaga M, Oguchi H, Pashley DH. Effects of multiple adhesive coatings on dentin bonding. *Oper Dent*. 2004 Jul-Aug;29(4):416-23.
17. Ito S, Tay FR, Hashimoto M, Yoshiyama M, Saito T, Brackett WW, Wallerg JL, Pashley DH. Effects of multiple coatings of two all-in-one adhesives on dentin bonding. *J Adhes Dent*. 2005 Summer;7(2):133-41.
18. Nakaoki Y, Sasakawa W, Horiuchi S, Nagano F, Ikeda T, Tanaka T, Inoue S, Uno S, Sano H, Sidhu SK. Effect of double-application of all-in-one adhesives on dentin bonding. *J Dent*. 2005 Oct;33(9):765-72.
19. Van Meerbeek B, Willems G, Celis JP, Roos JR, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Assessment by nano-indentation of the hardness and elasticity of the resin-dentin bonding area. *J Dent Res*. 1993 Oct;72(10):1434-42.
20. 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 Jan-Feb;34(1):51-7.
21. Angker L, Swain MV, Kilpatrick N. Characterising the micro-mechanical behaviour of the carious dentine of primary teeth using nano-indentation. *J Biomech*. 2005 Jul;38(7):1535-42.
22. Oliver WC, Pharr GM. An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *J Mater Res*. 1992 Jun;7(6):1564-83.

23. Reis A, Pellizzaro A, Dal-Bianco K, Gomes OM, Patzlaff R, Loguercio AD. Impact of adhesive application to wet and dry dentin on long-term resin-dentin bond strengths. *Oper Dent*. 2007 Jul-Aug;32(4):380-7.
24. Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent*. 1997 Sep; 25(5):355-72.
25. Garberoglio R, Brännstrom M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol*. 1976;21(6):355-62.
26. Pashley DH, Ciucchi B, Sano H, Carvalho RM, Russell CM. Bond strength versus dentine structure: a modelling approach. *Arch Oral Biol*. 1995;40(12):1109-18.
27. Yoshikawa T, Sano H, Burrow MF, Tagami J, Pashley DH. Effects of dentin depth and cavity configuration on bond strength. *J Dent Res*. 1999 Apr;78(4):898-905.
28. Phrukkanon S, Burrow MF, Tyas MJ. The effect of dentin location and tubule orientation on the bond strengths between resin and dentine. *J Dent*. 1999 May;27(4):265-74.
29. Kaaden C, Powers JM, Friedl KH, Schmalz G. Bond strength of self-etching adhesives to dental hard tissues. *Clin Oral Investig*. 2002 Sep;6(3):155-60.
30. Angker L, Swain MV, Kilpatrick N. Micro-mechanical characterisation of the properties of primary tooth dentine. *J Dent*. 2003 May;31(4):261-7.
31. Toledano M, Osorio R, Ceballos L, Fuentes MV, Fernandes CA, Tay FR, Carvalho RM. Microtensile bond strength of several adhesive systems to different dentin depths. *Am J Dent*. 2003 Oct;16(5):292-8.
32. Sattabanasuk V, Shimada Y, Tagami J. The bond of resin to different dentin surface characteristics. *Oper Dent*. 2004 May-Jun;29(3):333-41.
33. Loguercio AD, Uceda-Gómez N, Carrilho MR, Reis A. Influence of specimen size and regional variation on long-term resin-dentin bond strength. *Dent Mater*. 2005 Mar;21(3):224-31.
34. Lopes GC, Perdigão J, Lopes Mde F, Vieira LC, Baratieri LN, Monteiro S Jr. Dentine bond strengths of simplified adhesives: effect of dentin depth. *Compend Contin Educ Dent*. 2006 Jun;27(6):340-5.
35. Swift EJ Jr. Dentine enamel adhesives: review of the literature. *Pediatr Dent*. 2002 Sep-Oct;24(5):456-61.
36. Van Meerbeek B, Van Landuyt K, De Munck J, Hashimoto M, Peumans M, Lambrechts P, Yoshida Y, Inoue S, Suzuki K. Technique sensitivity of contemporary adhesives. *Dent Mater J*. 2005 Mar;24(1):1-13.

37. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, Van Meerbeek B. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res*. 2005 Feb;84(2):118-32.
38. Van Meerbeek B, Vargas M, Inoue S, Yoshida Y, Peumans M, Lambrechts P, Vanherle G. Adhesives and cements to promote preservation dentistry. *Oper Dent*. 2001 Aug;6:119-44.
39. Yoshiyama M, Matsuo T, Ebisu S, Pashley D. Regional bond strengths of self-etching/self-priming adhesive systems. *J Dent*. 1998 Sep;26(7):609-16.
40. Reis A, Carrilho MRO, Loguercio AD, Grande RHM. Sistemas adesivos atuais. *J Bras Clin Odontol Int*. 2001;5(30):455-65.
41. Hilton TJ, Schwartz RS. The effect of air-thinning on dentin adhesive bond strength. *Oper Dent* 1995 Jul-Aug;20(4):133-37.
42. Ausiello P, Apicella A, Davidson CL. Effect of adhesive layer properties on stress distribution in composite restorations-a 3D finite element analysis. *Dent Mater*. 2002 Jun;18(4):295-303.
43. Gokce K, Aykor A, Ersoy M, Ozel E, Soyman M. Effect of phosphoric acid etching and self-etching primer application methods on dentinal shear bond strength. *J Adhes Dent*. 2008 Oct;10(5):345-9.
44. 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 Jan;37(1):82-90.
45. Botta SB, Vieira SN, Cordon R, Marques MM, Matos AB. Can the method of primer application influence adhesion to Er:YAG-laser irradiated dentin? *J Contemp Dent Pract*. 2009 Jan 1;10(1):49-57.
46. Kemp-Scholte CM, Davidson CL. Marginal integrity related to bond strength and strain capacity of composite resin restorative systems. *J Prosthet Dent* 1990; 64:658-64.
47. Willems G, Celis JP, Lambrechts P, Braem M, Vanherle G. Hardness and Young's modulus determined by nanoindentation technique of filler particles of dental restorative materials compared with human enamel. *J Biomed Mater Res*. 1993 Jun;27(6):747-55.
48. Kinney JH, Balooch M, Marshall SJ, Marshall GW Jr, Weihs TP. Hardness and Young's modulus of human peritubular and intertubular dentine. *Arch Oral Biol*. 1996 Jan;41(1):9-13.
49. Sugizaki S, Hanaoka K. Evaluation of hybrid layer at the resin/dentin adhesive interface. *Jpn J Conserv Dent* 2002;45:413-27.

50. Takahashi A, Sato Y, Uno S, Pereira PN, Sano H. Effects of mechanical properties of adhesive resins on bond strength to dentin. *Dent Mater.* 2002 May;18(3):263-8.
51. Cuy JL, Mann AB, Livi KJ, Teaford MF, Weihs TP. Nanoindentation mapping of the mechanical properties of human molar tooth enamel. *Arch Oral Biol.* 2002 Apr;47(4):281-91.
52. Kinney JH, Habelitz S, Marshall SJ, Marshall GW. The Importance of Intrafibrillar Mineralization of Collagen on the Mechanical Properties of Dentin. *J Dent Res.* 2003; 82(12):957-61.
53. Yamauti M, Nikaido T, Ikeda M, Otsuki M, Tagami J. Microhardness and Young's modulus of a bonding resin cured with different curing units. *Dent Mater J.* 2004 Dec;23(4):457-66.
54. Chung SM, Yap AUJ. Effects of surface finish on indentation modulus and hardness of dental composite restoratives. *Dent Mater.* 2005 Nov; 21(11):1008-16.
55. Zhou J, Hsiung LL. Depth-dependent mechanical properties of enamel by nanoindentation. *J Biomed Mater Res A.* 2007 Apr;81(1):66-74.
56. Hosoya Y, Tay FR, Miyakoshi S, Pashley DH. Hardness and elasticity of caries-affected and sound primary tooth dentin bonded with 4-META one-step self-etch adhesives. *Am J Dent.* 2008 Aug;21(4):223-8.
57. Pongprueksa P, Kuphasuk W, Senawongse P. The elastic moduli across various types of resin/dentin interfaces. *Dent Mater.* 2008 Aug;24(8):1102-6.
58. Wei S, Sadr A, Shimada Y, Tagami J. Effect of caries-affected dentin hardness on the shear bond strength of current adhesives. *J Adhes Dent.* 2008 Dec;10(6):431-40.
59. Sadr A, Shimada Y, Lu H, Tagami J. The viscoelastic behavior of dental adhesives: a nanoindentation study. *Dent Mater.* 2009 Jan;25(1):13-9.
60. Tajima K, Nikaido T, Inoue G, Ikeda M, Tagami J. Effects of coating root dentin surfaces with adhesive materials. *Dent Mater J.* 2009 Sep;28(5):578-86.
61. Pugach MK, Strother J, Darling CL, Fried D, Gansky SA, Marshall SJ, Marshall GW. Dentin caries zones: mineral, structure, and properties. *J Dent Res.* 2009 Jan;88(1):71-6.
62. Doerner MF, Nix WD. A method for interpreting the data from depth-sensing indentation instruments. *J Mater Res.* 1986;1:601-8.

63. Ebenstein DM, Pruitt LA. Nanoindentation of biological materials. *NanoToday*. 2006 Aug;1(3):26-33.
64. Field JS, Swain MV. Determining the mechanical properties of small volumes of material from submicrometer spherical indentations. *J Mater Res*. 1995 Aug;10(1):101-12.
65. Fischer-Cripps A C. Nanoindentation. Springer-Verlag, Berlin, Germany 2002.
66. Garcia F, D'Alpino P, Terada R, Carvalho R. Testes mecânicos para avaliação laboratorial da união resina/dentina. *Rev Fac Odontol Bauru*. 2002;10(3):118-27.
67. Brotzen FR. Mechanical testing of thin films. *Int Mater Rev*. 1994;39(1):24-45.
68. Callister WD. Ciências e engenharia de materiais: uma introdução. 5ª ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos; 2002. p.541.
69. Garcia EJ, Gomes OM, Gomes JC. *In vitro* analysis of bond strength of self-etching adhesives applied on superficial and deep dentin. *Acta Odontol Latinoam*. 2009;22(1):57-62.
70. Bortolotto T, Onisor I, Krejci I, Ferrari M, Tay FR, Bouillaguet S. Effect of cyclic loading under enzymatic activity on resin-dentin interfaces of two self-etching adhesives. *Dent Mater*. 2008 Feb;24:178-84.
71. Perdigão J, Swift EJ Jr, Denehy GE, Wefel JS, Donly KJ. In vitro bond strengths and SEM evaluation of dentin bonding systems to different dentin substrates. *J Dent Res*. 1994 Jan; 73(1):44-55.
72. 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 Jan;24(1):90-101.
73. Uno S, Finger WJ. Function of the hybrid zone as a stress-absorbing layer in resin dentin bonding. *Quintessence Int*. 1995 Oct;26(10):733-8.
74. Carrilho MRO, Reis A, Loguercio AD, Rodrigues Filho LE. Resistência de união à dentina de quatro sistemas adesivos. *Pesqui Odontol Bras*. 2002;16(3):251-6.

ANEXO A
Aprovação da Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de
Ponta Grossa. COEP – UEPG

PARECER Nº 37/2008
Protocolo: 09908/08

Em reunião Ordinária, realizada dia 28 de agosto de 2008, a Comissão de Ética em Pesquisa, APROVOU o protocolo de pesquisa intitulado "Utilização da técnica de nanoindentação na avaliação da dureza e módulo de elasticidade da interface de união resina-dentina em diferentes profundidades do substrato dental" de responsabilidade do pesquisador João Carlos Gomes.

Ponta Grossa, 28 de agosto de 2008.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP


.....
Profª. MSc. Marlene Harger Zimmermann
Coordenadora