

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Odontologia



Tese

**Desenvolvimento de sistemas adesivos empregando
monômeros surfactantes como alternativa ao hidróxietil
metacrilato (HEMA)**

CESAR HENRIQUE ZANCHI

Pelotas, 2010

CESAR HENRIQUE ZANCHI

**Desenvolvimento de sistemas adesivos empregando monômeros
surfactantes como alternativa ao hidróxietil metacrilato (HEMA)**

TESE apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Odontologia, Área de concentração em Dentística.

Orientador: Prof. Dr. Evandro Piva

Co-orientadores: Prof. Dr. Flávio Fernando Demarco

Prof. Dr. Carlo Prati

Pelotas, 2010

Banca examinadora:

Prof. Dr. Evandro Piva

Prof. Dr. Rodrigo Varella de Carvalho

Prof. Dr. Cláudio Martin Pereira de Pereira

Prof. Dr. César Liberato Petzhold

Prof. Dr. Alexandre Severo Masotti

Prof. Dra. Adriana Fernandes da Silva

Prof. Dr. Sérgio Cava

*Estar longe é um grande telescópio para as virtudes da terra onde se vestiu
a primeira camisa.*

(Eça de Queirós)

Dedico este trabalho aos meus pais

César e Ana,

que dedicaram, e ainda dedicam suas vidas à criação e formação dos filhos. De vocês sempre recebi todo o carinho e apoio que precisei. Vocês são fantásticos!

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador professor Doutor Evandro Piva por todo o tempo dedicado à orientação deste trabalho, pela confiança, amizade e atenção que sempre demonstrou durante estes anos de convivência. Além disso, lhe sou muito grato por não haver medido esforços para realização do meu estágio de doutoramento no exterior. Com certeza, muitos outros projetos virão. Muito obrigado por tudo!

Ao meu co-orientador professor Doutor Flávio Fernando Demarco que sempre contribui de forma intensa para o crescimento e aperfeiçoamento de todos os seus alunos. Um grande exemplo de professor, pesquisador e principalmente amigo, que mesmo à distância foi fundamental para a realização deste e de outros trabalhos.

Ao meu co-orientador professor Doutor Carlo Prati pela atenção com que me recebeste em seu laboratório, pela dedicação no desenvolvimento deste trabalho e pela convivência destes nove meses que foram excepcionais.

Ao Doutor Stefano Chersoni que tanto contribuiu no desenvolvimento deste e outros trabalhos durante meu estagio na Universidade de Bologna.

À Doutora Maria Giovanna Gandolfi pela atenção com que me recebeu e pela dedicação aos projetos desenvolvidos em paralelo a tese.

A Doutora Angélica Bertacci e ao Doutor Gianluca Acquaviva pelo carinho e atenção com que me receberam.

Aos colegas de laboratório Francesco, Andrea e Matteo pela agradável convivência durante o estagio na Universidade de Bologna

Aos grandes amigos e colegas de trabalho Doutor Fabrício Aulo Ogliari e Eliseu Aldrighi Münchow pela dedicação no desenvolvimento e execução deste projeto. Foram decisivos em todos os momentos.

Ao grande amigo Rodrigo Varella de Carvalho pelo convite realizado há 7 anos, a partir do qual minha vida profissional mudou de rumo. Muito obrigado pela força e pela amizade. Sempre serei grato!

Ao professor e grande amigo Doutor José Luiz de Souza com quem tive o grande prazer de trabalhar na disciplina de Unidade de Pré-Clinica II. Muito obrigado por tudo que fizeste por mim!

À todos os colegas do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UFPel.

À Universidade Federal de Pelotas (UFPel), representada pelo Excelentíssimo Reitor Professor Doutor Cesar Borges.

Ao Departamento de Endodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade de Bologna (UNIBO), onde pude realizar meu estagio de doutoramento.

À Faculdade de Odontologia da UFPel, representada pela Diretora Professora Doutora Márcia Bueno Pinto.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UFPel, representado pelo Coordenador Professor Doutor Flávio Fernando Demarco.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pelotas.

À secretaria do PPGO Josiane Silva, pela atenção e carinho com que sempre atendeu as minhas inúmeras solicitações.

À Esstech Inc. pela doação dos monômeros utilizados neste trabalho.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) por conceder minha bolsa de estudos.

Olhamos todas as coisas com a cabeça humana, e é impossível cortar essa cabeça; mas permanece a questão de saber o que ainda existiria do mundo se ela fosse mesmo cortada.

(Friedrich Nietzsche em “Humano, demasiado humano”)

NOTAS PRELIMINARES

Esta tese foi redigida de acordo com o Manual de Normas para Dissertações, Teses e Trabalhos Científicos da Universidade Federal de Pelotas de 2006, adotando o Nível de Descrição 4 – Estruturas em Artigos, que consta no Apêndice D do referido manual. Disponível no endereço eletrônico:

http://www.ufpel.tche.br/prg/sisbi/documentos/Manual_normas_UFPeI_2006.pdf

O Artigo 1 foi redigido segundo o Guia para Autores do Periódico Dental Materials disponível em:

http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/601024/authorinstructions

O Artigo 2 foi redigido segundo o Guia para Autores do Periódico European Journal of Oral Science disponível em:

<http://www.wiley.com/bw/submit.asp?ref=0909-8836&site=1>

RESUMO

ZANCHI, Cesar Henrique. **Desenvolvimento de sistemas adesivos empregando monômeros surfactantes como alternativa ao hidróxiethyl metacrilato (HEMA)**. 2010. 110f. Tese de Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Este estudo avaliou a influência de dimetacrilatos surfactantes (DS) na resistência de união à dentina por microtração (RU), imediata e após armazenagem, além de caracterizar a micromorfologia da camada híbrida de sistemas adesivos experimentais autocondicionantes livres de HEMA. Foram formulados cinco sistemas adesivos autocondicionantes de dois passos livres de HEMA contendo diferentes DS (Bis-EMA 10, Bis-EMA 30, PEG 400, PEG 1000 and PEG 400 UDMA) e um sistema contendo HEMA, empregado como controle. Foi realizada a exposição da dentina superficial de sessenta incisivos bovinos posteriormente alocados em seis grupos experimentais de acordo com o sistema adesivo empregado. Os dentes foram restaurados e seccionados para obter espécimes (palitos) posteriormente divididos em três períodos de armazenagem: 24h, 6 e 12 meses. Após, os espécimes foram sujeitos ao teste de RU. Resultados de RU imediata foram analisados por ANOVA 1-fator e teste complementar de Tukey. Resultados de RU após envelhecimento foram analisados por Kruskal-Wallis e teste de Dunn ($\alpha = 0.05$). Análises das interfaces de união dente-restauração foram realizadas através de microscopia eletrônica de varredura. Entre os grupos livres de HEMA, o sistema adesivo formulado com PEG 400 UDMA produziu maior RU e foi estatisticamente similar ao grupo controle contendo HEMA. Os espécimes testados após 24 horas de armazenamento apresentaram RU estatisticamente maior para todos os grupos quando comparados os espécimes testados após 6 e 12 meses de armazenagem. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos testados após 6 e 12 meses. Todos os sistemas adesivos apresentaram camada híbrida parcialmente desmineralizada (1.5-3 μm de espessura) com formação de prolongamentos resinosos. Em geral os sistemas adesivos demonstraram valores de RU satisfatórios, sendo o PEG 400 UDMA um monômero promissor para o desenvolvimento de sistemas adesivos livres de HEMA.

Palavras-chave: Adesivo dentário; surfactante, resistência de união por microtração; interface resina-dentina; biodegradação.

SUMMARY

ZANCHI, Cesar Henrique. **Development of adhesive systems employing surfactant monomers as substitute to hydroxyethyl methacrylate (HEMA)**. 2010. 110f. Tese de Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

This study evaluated the influence of surfactant dimethacrylates (SD) on the resin-to-dentin immediate and long term microtensile bond strength (μ TBS) and characterized the interfacial micromorphology of hybrid layer of the experimental HEMA-free self-etching systems. Five experimental HEMA-free two step self-etching systems containing different surfactant dimetacrylates (SD) (Bis-EMA 10, Bis-EMA 30, PEG 400, PEG 1000 and PEG 400 UDMA) and a HEMA-containing systems (control) were formulated. Sixty bovine incisors were allocated into six groups according each experimental adhesive system used. The teeth had the superficial coronal dentins exposed and were restored and sectioned to obtain sticks randomly allocated into 3 storage periods: 24h, 6 and 12 months. Thereafter the specimens were subjected to the μ TBS test. Immediate μ TBS data were analyzed by One-way ANOVA and Tukey's test. Long term μ TBS data were analyzed by Kruskal-Wallis and Dunn test ($\alpha = 0.05$). Analysis of the adhesive-dentin interfaces were performed through scanning electron microscopy. Between the HEMA-free groups, the adhesive system formulated with PEG 400 UDMA produced the highest μ TBS and was similar to HEMA-containing group. Specimens of the 24 hours of storage were statistically higher for all groups tested when compared those after 6 and 12 months storage. None difference was found between 6 months and 12 months storage for each group. All the adhesives systems presented similar partially demineralized hybrid layer (1.5-3.0 μ m thickness) with well formed resin tags. All SD present reasonable μ TBS, being the PEG 400 UDMA a promising monomer to be considered as HEMA substitute in adhesive systems compositions.

Keywords: Dental adhesive; surfactant, microtensile bond strength test; resin-dentin interface; biodegradation.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Peso, fórmula e estrutura molecular de diferentes metacrilatos surfactantes.....	24
Tabela 2	Composição dos <i>primers</i> experimentais contendo Bis-EMA 30.....	30
Tabela 3	Composição dos <i>primers</i> experimentais contendo PEG 400 UDMA.....	31
Tabela 4	Composição dos <i>primers</i> autocondicionantes contendo diferentes monômeros surfactantes.....	32
Tabela 5	Composição das resinas de cobertura contendo diferentes monômeros surfactantes.....	32
Tabela 6	Composição dos <i>primers</i> autocondicionantes contendo diferentes solventes.....	33
Tabela 7	Composição dos <i>primers</i> autocondicionantes experimentais com diferentes concentrações de PEG 400 UDMA.....	34

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

4-MET	4-metacriloiloxietil ácido trimelítico
10-MDP	10-metacriloidecil fosfato dehidrogenado
%	percentual
®	símbolo indicativo de marca registrada
μm	micrômetro
μ	micron
μL	microlitros
<	menor
>	maior
σ	resistência máxima
σ_0	resistência característica
$\sigma_{0,05}$	nível de probabilidade de falha de 5%
ATR	reflectância total atenuada
B	largura
Bis-EMA	bisfenol A glicil di-metacrilato etoxilado
Bis-GMA	bisfenol A glicil di-metacrilato
°C	graus Celsius
C	carbono
CQ	canforoquinona
cm	centímetros
cm ⁻¹	centímetros elevado na -1

d	deflexão
EDAB	<i>N,N</i> -dimetil- <i>p</i> -toluidina
et al.	e outros
F	carga máxima aplicada
FO/UFPel	Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas
GPa	giga Pascal
GTMA-P	mistura equimolar de glicerol tetrametacrilato fosforado e glicerol dimetacrilato fosforado
h	hora
H	altura
H	hidrogênio
HEMA	hidróxietil metacrilato
HEMA-P	mistura equimolar de metacriloiloxietil di-hidrogênio fosfato e bis-metacriloiloxietil hidrogênio fosfato
k	ordem dos valores de resistência
L	largura
Ltda	limitada
m	módulo de Weibull
m_1	massa seca inicial
m_2	massa inchada
m_3	massa seca final
MAC-10	11-metacriloiloxidecil' 1-1 ácido undecanodicarboxílico

MDPB	brometo de metacriloiloxidodecilpiridinium
MEP	mono-2-metacriloiloxietil fosfato
mg	miligrama
min	minuto
mm	milímetro
mm ²	milímetro quadrado
mmHg	milímetros de mercúrio
mm/min	milímetros por minuto
mm/s	milímetros por segundo
MPa	mega Pascal
mW/cm ²	miliwatts por centímetro quadrado
n	número de espécimes
N	Newton
O	oxigênio
PEGDMA	polietilenoglicol di-metacrilato
PEGDMA 400 UDMA	polietilenoglicol di-metacrilato 400 uretano
P_f	probabilidade de falha
RT-FTIR	espectrofotômetro infravermelho por Transformada de Fourier
s	segundo
TEGDMA	triétileno glicil di-metacrilato
UDMA	uretano dimetacrilato
V	volume
W_{sl}	solubilidade

W_{sp}

sorção

X

vezes

SUMÁRIO

RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	11
LISTA DE TABELAS.....	12
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	13
PROJETO DE TESE	
1 INTRODUÇÃO.....	19
2 JUSTIFICATIVA.....	27
3 OBJETIVO.....	28
3.1 Objetivo geral.....	28
3.2 Objetivos específicos.....	28
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
4.1 Reagentes.....	29
4.2 Avaliação da concentração de Bis-EMA 30 em um <i>primer</i> convencional livre de HEMA: efeito na confiabilidade estrutural e resistência de união à dentina.....	29
4.3 Avaliação da concentração de PEG 400 UDMA em um <i>primer</i> convencional livre de HEMA: efeito na confiabilidade estrutural e resistência de união à dentina.....	30
4.4 Avaliação da resistência de união em dentina de sistemas adesivos autocondicionantes contendo diferentes monômeros surfactantes.....	31
4.5 Efeito de diferentes solventes na resistência de união em dentina de um sistema adesivo autocondicionante livre de HEMA.....	33
4.6 Avaliação da concentração de PEG 400 UDMA em um <i>primer</i> autocondicionante: efeito na confiabilidade estrutural e resistência de união à dentina.....	34
4.7 Caracterização de resinas adesivas de cobertura contendo diferentes monômeros surfactantes.....	34

4.8 Metodologias empregadas para caracterização e avaliação dos materiais.....	35
4.8.1 Ensaio de resistência de união em dentina.....	35
4.8.1.1 Procedimento restaurador.....	35
4.8.1.2 Preparo dos espécimes e teste mecânico.....	36
4.8.1.3 Análise do padrão de fratura.....	36
4.8.2 Análise da confiabilidade estrutural das interfaces de união.....	37
4.8.3 Análise da cinética de conversão.....	37
4.8.4 Avaliação de resistência à flexão e módulo de elasticidade – Teste de mini-flexão por 3 pontos.....	38
4.8.5 Avaliação da sorção e solubilidade.....	39
4.8.6 Tratamento estatístico.....	41
5. REFERÊNCIAS	42
ORÇAMENTO	50
CRONOGRAMA	52
RELATÓRIO DE EXPERIMENTOS.....	54
ARTIGO 1.....	55
ARTIGO 2.....	76
CONCLUSÕES.....	100
REFERÊNCIAS.....	101
ANEXOS.....	108

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, os estudos conduzidos para a síntese e desenvolvimento de novos sistemas adesivos têm passado por mudanças significativas quanto aos objetivos traçados. Durante as décadas de 80 e 90 os projetos de desenvolvimento de sistemas adesivos eram direcionados principalmente para obtenção de materiais que apresentassem excelentes propriedades mecânicas e altos valores de resistência de união, necessários para suportar as tensões mastigatórias e o estresse de contração dos compósitos. Como consequência, o aprimoramento destas propriedades, resultou em restaurações que, clinicamente, passaram a falhar mais devido à pigmentação e perda de selamento marginal do que propriamente pela falta de retenção (DA ROSA et al., 2006; GAENGLER et al., 2004; OPDAM et al., 2004). Nesse contexto, é estabelecido um novo paradigma, onde grande enfoque é direcionado à longevidade (REIS et al., 2008; TORKABADI et al., 2008; OSORIO et al., 2008; TOLEDANO et al., 2007; DE MUNK et al., 2005; VAN DIJKEN et al., 2004), biocompatibilidade e toxicidade dos materiais restauradores e seus constituintes químicos (GOLDBERG 2008; SPAGNUOLO et al., 2008; SCHWEIKL et al., 2008; FALCONI et al., 2007; RATHKE et al., 2007; TEIXEIRA et al., 2006; MANTELLINI et al., 2006). Adicionalmente, vários estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que os monômeros amplamente empregados nos sistemas adesivos atuais exibem efeitos citotóxicos (GOLDBERG 2008; SPAGNUOLO et al., 2008; SCHWEIKL et al., 2008; FALCONI et al., 2007; TEIXEIRA et al., 2006; MANTELLINI et al., 2006, COSTA et al., 2003) e, quando em contato direto com o tecido pulpar, podem provocar reações inflamatórias ou ainda intensificar uma reação pulpar pré-existente (TEIXEIRA et al., 2006; COSTA et al., 2003; HEBLING et al., 1999; GWINNETT et al., 1998; PAMEIJER et al., 1998). Como consequência, respostas inflamatórias, localizadas principalmente junto aos fragmentos resinosos presentes no tecido pulpar (HEBLING et al., 1999; DE SOUZA COSTA et al., 2002), podem comprometer a longevidade das restaurações adesivas (SCHWEIKL et al., 2006; MURRAY et al., 2003, SCHMALZ et al., 1997).

Monômeros metacrilatos são considerados os principais constituintes dos sistemas adesivos disponíveis atualmente no mercado. De acordo com sua estrutura e peso molecular, podem ser divididos em dois grandes grupos: os chamados monômeros formadores de ligações cruzadas e monômeros funcionais. Os monômeros formadores de ligações cruzadas são caracterizados pela presença de, no mínimo, dois grupamentos polimerizáveis (radical vinil ou $-C=C-$) e por apresentarem comportamento relativamente hidrófobo (COESSENS et al.,

2001). Basicamente são os mesmos monômeros empregados na matriz orgânica dos compósitos restauradores, como BisGMA, TEGDMA e UDMA, e são responsáveis por conferir resistência mecânica (ODIAN 2004; ASMUSSEN et al., 1998), reticulação (ASMUSSEN et al., 2001) e conseqüente redução da degradação higroscópica e hidrolítica do polímero formado (FERRACANE 2006). Além disso, a presença de di-metacrilatos, ou de monômeros que apresentem ao menos dois grupamentos polimerizáveis, é essencial para a formação de ligações covalentes entre a camada de adesivo hibridizada *in situ* e a matriz orgânica do compósito de cobertura (VAN LANDUYT et al., 2007). Já, os monômeros funcionais, além de um grupo polimerizável, possuem algum radical quimicamente específico, que implicará em uma função determinada ao monômero. Esses monômeros são amplamente utilizados nos sistemas adesivos convencionais e autocondicionantes como redutores de viscosidade (DOI et al., 2004; NAKABAYASHI et al., 1992) e como agentes promotores de adesão, devido principalmente ao baixo peso molecular e a alta polaridade que os caracterizam (VAN LANDUYT et al., 2007; DOI et al., 2004; HITMI et al., 2002; NAKABAYASHI et al., 1992). Particularmente, nos sistemas autocondicionantes também estão presentes monômeros funcionais com capacidade de ionização como o 10-MDP, MAC-10 e MEP, que são os responsáveis pelo mecanismo de desmineralização superficial da dentina e conseqüente impregnação no interior da rede de fibrilas de colágeno (VAN LANDUYT et al., 2007; SALZ et al., 2005; HAYAKAWA et al., 1998). Alguns também apresentam propriedades bactericidas como o MDPB (IMAZATO et al., 1995), potencial de ligação à substratos metálicos como o 4-MET (CHANG 2004; OHNO et al., 2004), ou ainda propiciam algum tipo de ligação química com o cálcio dos cristais de hidroxiapatita (FUKEGAWA et al., 2006; YOSHIDA et al., 2004).

Hidroxietil metacrilato (HEMA) é um monômero funcional largamente empregado na indústria de produtos médicos (NAKABAYASHI et al., 1996). Nos sistemas adesivos está presente na maioria das marcas comerciais, em concentrações que variam entre 35-55% (PASLHEY et al., 1998). Devido ao seu comportamento hidrófilo, baixo peso molecular e alta fluidez é geralmente utilizado como redutor de viscosidade (NAKABAYASHI et al., 1992), e como promotor de hibridização dentinária, pois evita o colapso das fibrilas de colágeno desnudas (HITMI et al., 2002; NAKABAYASHI et al., 1992) e confere alta resistência de união à dentina (NAKAOKI et al., 2000; HASEGAWA et al., 1989).

Entretanto, estudos têm demonstrado que moléculas de HEMA, dependendo da espessura de dentina remanescente, podem se difundir através dos túbulos dentinários e atingir a câmara pulpar (RATHKE et al., 2007; HAMID et al., 1997). O coeficiente de difusão intratubular de um composto químico está inversamente relacionado ao seu peso molecular, que é o principal fator a ser considerado para o impedimento estérico de difusão (PASHLEY et al., 1978). Dentre os monômeros resinosos encontrados nos sistemas adesivos, o HEMA é um dos que possui maior coeficiente de difusão intratubular, devido ao seu baixo peso molecular (130 g/mol), consideravelmente menor do que os demais monômeros di-metacrilatos, como o TEGDMA (peso molecular = 286,3 g/mol), o UDMA (peso molecular = 470,5 g/mol) e o Bis-GMA (peso molecular = 512,6 g/mol) (GERZINA et al., 1995). Assim, durante o processo de hibridização dentinária em cavidades profundas, o HEMA apresenta-se como monômero com maior potencial para atingir a superfície do tecido pulpar (RATHKE et al., 2007; PASHLEY et al., 1978).

Além disso, tem sido demonstrado que vários monômeros residuais são lixiviados dos materiais restauradores resinosos mesmo após a sua polimerização (ZHANG et al., 2008; FERRACANE 2006; ORTENGREN et al., 2001; FERRACANE 1994). A quantidade de monômeros liberados é dependente da sua composição química, densidade de ligações cruzadas e grau de conversão da matriz polimérica (FERRACANE 1994). Dessa forma, monômeros, dímeros e oligômeros de baixo peso molecular, presumivelmente, apresentam maior capacidade de movimentação no interior da rede polimérica, e são em sua grande parte lixiviados nas primeiras horas após a polimerização (ORTENGREN et al., 2001). Este fato se torna mais crítico quando sistemas adesivos são aplicados em dentina profunda onde o conteúdo residual de água e de outros solventes podem facilmente permanecer no interior da interface adesiva e causar redução do grau de conversão e da densidade de ligações cruzadas do polímero (YE et al., 2007; CADENARO et al., 2005; JACOBSEN et al., 1995). Conseqüentemente, nestas regiões haverá maior quantidade de monômeros residuais livres, potencialmente tóxicos ao tecido pulpar. Em adição, a presença de HEMA, mesmo quando ligado em uma extremidade da rede polimérica, confere ao polímero propriedades hidrofílicas, atraindo moléculas de água para o interior da rede resultando no inchamento (FERRACANE 2006) e na pigmentação/descoloração do polímero hibridizado (BURROW et al., 1999).

Com o objetivo de reduzir a degradação hidrolítica e a separação de fases, causada pelo aumento do percentual de monômeros hidrófobos em soluções polares, foram adicionadas pequenas quantidades de monômeros surfactantes na composição de alguns sistemas adesivos (BLACKWELL 2002). A presença de um agente surfactante torna-se necessário quando sistemas adesivos a base de Bis-GMA e/ou outros di-metacrilatos hidrófobos possuem água na sua formulação ou são aplicados sobre a dentina úmida, evitando que ocorra separação de fases *in situ* (GUO et al., 2007). Os agentes surfactantes, “*surface active agents*”, são compostos caracterizados pela capacidade de alterar as propriedades superficiais e interfaciais de um líquido. O termo interface denota o limite entre duas fases imiscíveis, podendo uma das fases ser alterada por um agente bipolar, ou seja, alterada por uma molécula que apresenta regiões de caráter hidrófobo e outras de caráter hidrófilo. Outra propriedade fundamental dos surfactantes é a tendência de formar agregados chamados micelas que, geralmente, formam-se a baixas concentrações em água. Estas propriedades tornam os surfactantes adequados para uma ampla gama de aplicações industriais envolvendo: detergência, emulsificação, lubrificação, capacidade espumante, capacidade de molhamento, solubilização e dispersão de fases (MYERS 2006). VENZ et al., 1993 demonstraram que a adição de um di-metacrilato surfactante, polietilenoglicol di-metacrilato (PEGDMA), em um sistema adesivo pode aumentar a resistência de união em dentina. Isso provavelmente se deve a redução na separação de fase em dentina úmida, com a formação de uma camada híbrida mais homogênea e com o aumento da concentração de monômeros hidrófobos formadores de redes poliméricas mais resistentes, como o Bis-GMA, no interior das fibrilas de colágeno (GUO et al., 2007).

Os agentes surfactantes são classificados basicamente de acordo com as características químicas da porção hidrófila de suas estruturas moleculares. Nos surfactantes aniônicos, há a presença de um grupamento carregado negativamente, e geralmente é formado por um radical carboxílico, sulfonato ou fosfato. Ao contrário, os surfactantes catiônicos apresentam carga positiva no sítio hidrófilo, sendo comumente formada por uma amônia quaternária. Os surfactantes anfóteros apresentam carga positiva e negativa ao mesmo tempo, e quando em solução aquosa exibem características aniônicas ou catiônicas dependendo das condições de pH da solução. Já os surfactantes não-iônicos não apresentam carga na sua porção hidrófila, e sua solubilidade em água é dada pela presença de grupos altamente polares como, por exemplo, os polioxietilenos (MYERS

2006). Entre os surfactantes derivados do PEGDMA, o PEGDMA 400 e o PEGDMA 1000 (Tabela 1) são monômeros di-metacrilatos que apresentam 8 e 21 óxidos de etileno no centro de sua estrutura molecular, respectivamente. Essas longas cadeias de óxido de etileno conferem aos monômeros a capacidade de emulsificação em ambiente aquoso, ou seja, formam um volume reduzido de fase dispersa. Dessa forma, também se pode esperar que o PEGDMA 1000 apresente maior solubilidade em água em comparação com o PEGDMA 400, uma vez que a presença de uma cadeia de polioxietileno maior confere maior polaridade ao polímero (OGLIARI et al., 2008). Além dos polietilenoglicol di-metacrilatos outros monômeros podem atuar como surfactantes na formação de redes poliméricas em ambiente úmido. Bisfenol-A glicidil di-metacrilato etoxilado (Bis-EMA) é um di-metacrilato análogo ao Bis-GMA no qual as hidroxilas da sua estrutura molecular foram removidas. Atualmente, é empregado em alguns materiais restauradores resinosos, principalmente devido à menor viscosidade em relação ao Bis-GMA (QUIAN 2005; HOLMES 1998). Moléculas de Bis-EMAs podem apresentar longas cadeias de óxido de etileno, o que além de conferir maior flexibilidade ao monômero aumentam a polaridade do sítio hidrófilo da molécula. Como consequência, monômeros como o Bis-EMA 30 (Tabela 1) demonstram um comportamento ambifílico, tendo duas regiões polares correspondentes as duas cadeias de polioxietileno. Da mesma forma o polietilenoglicol 400 uretano di-metacrilato estendido (PEG 400 UDMA), monômero resultante da adição de um polioxietileno como extensor de cadeia em um uretano di-metacrilato, pode agir como um agente surfactante para aumentar a solubilidade de blendas hidrófobas em sistemas adesivos.

Tabela 1. Peso, fórmula e estrutura molecular de diferentes metacrilatos surfactantes

Monômero	Peso Molecular	Fórmula molecular	Estrutura Molecular
Polietilenoglicol di-metacrilato 400 (PEGDMA 400)	550-594	$C_{26-28} H_{46-50} O_{12-13}$	
Polietilenoglicol di-metacrilato 1000 (PEGDMA 1000)	1124-1168	$C_{52-54} H_{98-102} O_{25-26}$	
Bisfenol A di-metacrilato etoxilado (Bis-EMA 10)	805	$C_{43}H_{64}O_{14}$	
Bisfenol A di-metacrilato etoxilado (Bis-EMA 30)	1686	$C_{83}H_{144}O_{34}$	
Polietilenoglicol 400 uretano di-metacrilato extendido (PEG 400 UDMA)	1139	$C_{54}H_{98}N_4O_{21} (x=1)$	
2-hidróxietil metacrilato (HEMA)	130	$C_6 H_{10} O_3$	

*Dados fornecidos pela Esstech, Inc. Essington, PA, USA.

O emprego de monômeros di-metacrilatos com comportamento ambifílico é uma alternativa potencial para o desenvolvimento de sistemas adesivos de baixa toxicidade. A substituição de HEMA por um surfactante di-metacrilato pode propiciar uma série de vantagens em relação aos atuais sistemas disponíveis no mercado. Além de serem aptos a formarem duas ligações covalentes durante a polimerização, estes monômeros apresentam alto grau de conversão em função da maior flexibilidade da estrutura molecular (SCRANTON et al., 1992) resultante

da presença dos extensores de cadeia a base de óxido de etileno. Adicionalmente, o alto peso molecular, principalmente em relação ao HEMA (Tabela 1), faz com que a difusão destes monômeros no interior dos túbulos dentinários seja reduzida (PASHLEY et al., 1978), diminuindo a possibilidade de que uma alta concentração destes monômeros atinjam o tecido pulpar.

Embora o peso molecular seja uma característica importante para a formulação de sistemas adesivos menos tóxicos, a viscosidade das blendas resinosas tende a aumentar quando monômeros mais pesados são adicionados em grandes quantidades. Dessa forma, é necessário que solventes orgânicos sejam adicionados aos *primers*, tanto nos sistemas adesivos convencionais quanto nos autocondicionantes, e às blendas resinosas nos sistemas simplificados a fim de reduzir a viscosidade e aumentar o potencial hidrofílico da solução (VAN LANDUYT et al., 2007; GARCIA et al., 2005; CHO et al., 2004). Soluções resinosas polares e de alta fluidez são fundamentais para atingir adequada hibridização e selamento do substrato dentinário de natureza úmida (VAN LANDUYT et al., 2007; MANSO et al., 2008; NAKABAYASHI et al., 2000). Além disso, o alto vapor de pressão dos solventes orgânicos como a acetona e o etanol, 200 e 54,1 de mmHg respectivamente, auxiliam também na evaporação do conteúdo residual de água, que deve ser completamente eliminado da camada híbrida antes da polimerização (CHO et al., 2004; PASHLEY et al., 1998). A presença de resíduos de água ou de outros solventes durante a polimerização *in situ* pode comprometer a qualidade da interface de união, resultando em menor grau de conversão do polímero (YE et al., 2007), com a formação de bolhas internas e conseqüente redução da resistência de união (CHO et al., 2004).

Os solventes podem ser classificados em três categorias de acordo com sua polaridade. Solventes polares próticos, como o etanol e a água, possuem uma hidroxila em sua estrutura molecular, a qual possibilita a formação de fortes ligações de hidrogênio. Solventes polares apróticos não apresentam hidroxilas em sua estrutura, sendo caracterizados pela presença de uma cetona. Com exemplo mais conhecido tem-se a acetona, solvente empregado em diversos sistemas adesivos. Além destes, ainda existem os solventes apolares, que não apresentam capacidade de solubilização em água, o que praticamente inviabiliza o seu uso nos sistemas adesivos atuais. Recentemente, foi avaliado o efeito na resistência de união à dentina de um sistema adesivo experimental contendo o tetrahidrofurano (THF) como solvente orgânico. Os resultados demonstraram que não há diferença significativa na resistência de união imediata quando o THF é

empregado em substituição à acetona ou ao etanol (FONTES et al., 2008). O THF é um solvente aprótico heterocíclico amplamente empregado na indústria de polímeros, capaz de dissolver diversos componentes polares e apolares, além de formar ligações de hidrogênio com a água. Além disso, devido ao baixo peso molecular, alta solubilidade e alto vapor de pressão, o uso do THF em um sistema adesivo livre de HEMA pode ser uma alternativa viável para auxiliar na redução da viscosidade de blendas resinosas contendo dimetacrilatos surfactantes.

2. JUSTIFICATIVA

A longevidade das restaurações adesivas está diretamente relacionada às propriedades mecânicas e a biocompatibilidade dos sistemas adesivos. Hidroxietil metacrilato (HEMA) é um monômero metacrilato, amplamente empregado nos sistemas adesivos atuais, que apresenta comprovado potencial alergênico e está diretamente relacionado aos processos de degradação polimérica. A substituição de HEMA por di-metacrilatos surfactantes de alto peso molecular pode melhorar as propriedades mecânicas, diminuir os processos de degradação hidrolítica, bem como reduzir o potencial tóxico dos sistemas adesivos odontológicos. Portanto torna-se viável a investigação dessa linha de pesquisa, frente ao potencial de novas alternativas para formulações de materiais adesivos para odontologia.

3. OBJETIVO

3.1. Objetivo geral

O objetivo deste estudo é avaliar e caracterizar formulações de sistemas adesivos experimentais do tipo convencionais e autocondicionantes livres de HEMA.

A hipótese a ser testada é que a substituição do HEMA por monômeros surfactantes não implicará em redução de resistência de união e não afetará as demais propriedades mecânicas do material.

3.2. Objetivos específicos

Determinar o efeito de diferentes concentrações de Bis-EMA 30 e PEG 400 UDMA em *primers* convencionais livres de HEMA na confiabilidade estrutural e resistência de união à dentina após 24 horas, 6 meses e 1 ano de armazenagem;

Avaliar diferentes concentrações de PEG 400 UDMA empregadas em um *primer* convencional livre de HEMA quanto à confiabilidade estrutural e resistência de união à dentina após 24 horas, 6 meses e 1 ano de armazenagem;

Comparar a resistência de união em dentina entre sistemas adesivos autocondicionantes contendo diferentes monômeros surfactantes após 24 horas, 6 meses e 1 ano de armazenagem;

Avaliar o efeito de diferentes solventes na resistência de união em dentina de um sistema adesivo autocondicionante livre de HEMA após 24 horas, 6 meses e 1 ano de armazenagem;

Determinar o efeito de diferentes concentrações de PEG 400 UDMA em um *primer* autocondicionante na confiabilidade estrutural e resistência de união à dentina após 24 horas, 6 meses e 1 ano de armazenagem;

Avaliar a cinética de conversão de blendas resinosas contendo diferentes monômeros surfactantes;

Obter a resistência à flexão e o módulo de elasticidade de blendas resinosas contendo diferentes monômeros surfactantes;

Determinar a sorção e solubilidade de blendas resinosas contendo diferentes monômeros surfactantes.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Reagentes

Bisfenol-A glicidil di-metacrilato (Bis-GMA), bisfenol-A glicidil di-metacrilato etoxilado com 10 óxidos de etileno (Bis-EMA 10), bisfenol-A glicidil di-metacrilato etoxilado com 30 óxidos de etileno (Bis-EMA 30), trietileno glicol di-metacrilato (TEGDMA), hidroxietil metacrilato (HEMA), poli-etilenoglicol di-metacrilato 400 (PEGDMA 400), poli-etilenoglicol di-metacrilato 1000 (PEGDMA 1000), poli-etilenoglicol 400 uretano di-metacrilato extendido (PEG 400 UDMA), glicerol di-metacrilato e canforoquinona (CQ) serão adquiridos junto à Esstech Inc. (Essington, PA, USA). *N,N*-dimetil-*p*-toluidina (EDAB) será comprado junto à Fluka (St. Louis, MO, USA). Acetona, álcool etílico absoluto (etanol) e tetrahidrofurano (THF) serão adquiridos junto à Labsynth® Produtos para Laboratório Ltda. (Diadema, SP, Brasil). Uma mistura equimolar de metacriloiloxietil di-hidrogênio fosfato e bis-metacriloiloxietil hidrogênio fosfato (HEMA-P) será sintetizada através da reação de HEMA com pentóxido de fósforo (Vetec, São Paulo, SP, Brasil) seguindo protocolo estabelecido por LIMA et al., 2008. Uma mistura equimolar de glicerol tetra-metacrilato fosforado e glicerol di-metacrilato fosforado (GTMA-P) será sintetizada através da reação de glicerol di-metacrilato com pentóxido de fósforo seguindo o mesmo protocolo. Todos os reagentes serão empregados como recebidos, sem purificações adicionais.

4.2 Avaliação da concentração de Bis-EMA 30 em um *primer* convencional livre de HEMA: efeito na confiabilidade estrutural e resistência de união à dentina

Cinco *primers* experimentais livres de HEMA contendo diferentes concentrações de Bis-EMA 30 (Tabela 2) serão formulados através do cálculo de percentual em massa dos componentes. Uma resina adesiva de cobertura padrão será formulada contendo Bis-GMA/TEGDMA/CQ/EDAB na razão de 49/49.5/0.5/1% em massa, respectivamente. A formulação dos materiais será realizada empregando uma balança analítica de precisão (AG 200, Gehaka Indústria e Comércio Eletro Eletrônica, São Paulo, SP, Brasil). Todos os componentes serão misturados manualmente de forma intensiva e posteriormente homogeneizados por 15 minutos em cuba ultrassônica (CBU 100/ 1LDG, Plana,

São Paulo, SP, Brasil). Logo após, serão armazenados em recipientes hermeticamente isolados de luz e umidade por 24 horas para eliminação de bolhas.

Tabela 2. Composição dos *primers* experimentais contendo Bis-EMA 30

Primers	Composição (% em massa)			
	Bis-EMA 30	Etanol	Água	HEMA-P
P0	0	45	45	10
P10	10	40	40	10
P20	20	30	30	10
P40	40	25	25	10
P60	60	15	15	10

Como referência comercial também será testado o sistemas adesivo Adper™ Scotchbond Multi-Purpose™ (3M ESPE, St Paul, MN, USA) aplicado seguindo as recomendações do fabricante. A técnica de aplicação dos sistemas adesivos, o protocolo para o ensaio de resistência de união à dentina, análise do modo de fratura e para a análise da confiabilidade estrutural estão descritos nos tópicos 4.8.1.1, 4.8.1.2, 4.8.1.3 e 4.8.2, respectivamente.

4.3 Avaliação da concentração de PEG 400 UDMA em um *primer* convencional livre de HEMA: efeito na confiabilidade estrutural e resistência de união à dentina

Cinco *primers* experimentais livres de HEMA, contendo diferentes concentrações de PEG 400 UDMA (Tabela 3), e uma resina de cobertura hidrófoba padrão, contendo Bis-GMA/TEGDMA/PEG 400 UDMA/CQ/EDAB na razão de 44/39.5/15/0.5/1% em massa, respectivamente, serão formulados conforme descrito no item 4.2.

Tabela 3. Composição dos *primers* experimentais contendo PEG 400 UDMA

Primers	Composição (% em massa)			
	PEG 400 UDMA	Álcool	Água	GTMA-P
P0	0	45	45	10
P10	10	40	40	10
P20	20	30	30	10
P40	40	25	25	10
P60	60	15	15	10

Como referência comercial também será testado o sistemas adesivo Adper™ Scotchbond™ Multi-Purpose (3M ESPE, St Paul, MN, USA) aplicado seguindo as recomendações do fabricante. A técnica de aplicação dos sistemas adesivos, o protocolo para o ensaio de resistência de união à dentina, análise do modo de fratura e para a análise da confiabilidade estrutural estão descritos nos tópicos 4.8.1.1, 4.8.1.2, 4.8.1.3 e 4.8.2, respectivamente.

4.4 Avaliação da resistência de união em dentina de sistemas adesivos autocondicionantes contendo diferentes monômeros surfactantes

Seis sistemas adesivos autocondicionantes experimentais de dois passos serão formulados variando o tipo de monômero metacrilato empregado como surfactante. P1000, P400, B10, B30 e P400U corresponderão aos sistemas experimentais livre de HEMA, enquanto AH, contendo HEMA, será empregado como grupo controle e o sistemas adesivo Clearfil SE Bond® (Kuraray, Med. Inc. Ltd., Osaka, Japão) como referência comercial. A composição dos *primers* e das resinas de cobertura correspondente à cada sistema estão descritos nas tabelas 4 e 5, respectivamente. Todos os materiais serão formulados como descrito no tópico 4.2.

Tabela 4. Composição dos *primers* autocondicionantes contendo diferentes monômeros surfactantes

Primers	Monômero Surfactante	Composição (% em massa)			
		Surfactante	Etanol	Água	GTMA-P
P1000	PEG 1000	30	20	20	30
P400	PEG 400	30	20	20	30
B10	Bis-EMA 10	30	20	20	30
B30	Bis-EMA 30	30	20	20	30
UP400	PEG 400 UDMA	30	20	20	30
AH	HEMA	30	20	20	30

Tabela 5. Composição das resinas de cobertura contendo diferentes monômeros surfactantes

Resina de Cobertura	Monômero Surfactante	Composição (% em massa)				
		Surfactante	Bis-GMA	TEGDMA	CQ	EDAB
P1000	PEG 1000	25	49	24.5	0.5	1
P400	PEG 400	25	49	24.5	0.5	1
B10	Bis-EMA 10	25	49	24.5	0.5	1
B30	Bis-EMA 30	25	49	24.5	0.5	1
UP400	PEG 400 UDMA	25	49	24.5	0.5	1
AH	HEMA	25	49	24.5	0.5	1

A técnica de aplicação dos sistemas adesivos, o protocolo para o ensaio de resistência de união à dentina, análise do modo de fratura estão descritos nos tópicos 4.8.1.1, 4.8.1.2 e 4.8.1.3, respectivamente.

4.5 Efeito de diferentes solventes na resistência de união em dentina de um sistema adesivo autocondicionante livre de HEMA

Serão formulados 7 *primers* autocondicionantes livres de HEMA variando o tipo e/ou a combinação de solventes, como descrito na tabela 6. Uma resina de cobertura padrão, contendo Bis-GMA/TEGDMA/PEG 400 UDMA/CQ/EDAB na razão de 44/39.5/15/0.5/1% em massa, respectivamente, será formulada conforme descrito no item 4.2.

Tabela 6. Composição dos *primers* autocondicionantes contendo diferentes solventes

<i>Primer</i>	Composição (% em massa)					
	PEG 400 UDMA	GTMA-P	Água	Acetona	Etanol	THF
Pa	30	30	40	-	-	-
Paa1	30	30	20	20	-	-
Pae1	30	30	20	-	20	-
Pat1	30	30	20	-	-	20
Paa2	30	30	10	30	-	-
Pae2	30	30	10	-	30	-
Pat2	30	30	10	-	-	30

A técnica de aplicação dos sistemas adesivos, o protocolo para o ensaio de resistência de união à dentina, análise do modo de fratura e para a análise da confiabilidade estrutural estão descritos nos tópicos 4.8.1.1, 4.8.1.2, 4.8.1.3 e 4.8.2, respectivamente.

4.6 Avaliação da concentração de PEG 400 UDMA em um *primer* autocondicionante: efeito na confiabilidade estrutural e resistência de união à dentina

Cinco *primers* autocondicionantes experimentais livres de HEMA, contendo diferentes concentrações de PEG 400 UDMA (Tabela 7), e uma resina de cobertura hidrófoba padrão, contendo Bis-GMA/TEGDMA/UDMA-PEG 400/CQ/EDAB na razão de 44/39.5/15/0.5/1% em massa, respectivamente, serão formulados conforme descrito no item 4.2. O sistema adesivo Clearfil SE Bond® (Kuraray, Med. Inc. Ltd., Osaka, Japão) também será testado, como referência comercial.

Tabela 7. Composição dos *primers* autocondicionantes experimentais com diferentes concentrações de PEG 400 UDMA

Primers	Composição (% em massa)			
	PEG 400 UDMA	Etanol	Água	GTMA-P
P0	0	35	35	30
P10	10	30	30	30
P20	20	25	25	30
P40	40	15	15	30
P60	60	5	5	30

A técnica de aplicação dos sistemas adesivos, o protocolo para o ensaio de resistência de união à dentina, análise do modo de fratura e para a análise da confiabilidade estrutural estão descritos nos tópicos 4.8.1.1, 4.8.1.2, 4.8.1.3 e 4.8.2, respectivamente.

4.7 Caracterização de resinas adesivas de cobertura contendo diferentes monômeros surfactantes

As resinas adesivas de cobertura descritas no item 4.4 (Tabela 5) serão caracterizadas através de avaliações da cinética de conversão, resistência à

flexão, módulo de elasticidade, sorção e solubilidade seguindo os protocolos descritos nos itens 4.8.3, 4.8.4 e 4.8.5.

4.8 Metodologias empregadas para caracterização e avaliação dos materiais

4.8.1 Ensaio de resistência de união em dentina

4.8.1.1 Procedimento restaurador

Incisivos bovinos, com período de extração inferior a três meses serão utilizados para esta avaliação. Após a extração, os dentes serão armazenados em cloramina T 0,5% durante sete dias à 4°C, sendo posteriormente transferidos para água destilada e congelados até seu uso. Os dentes serão distribuídos aleatoriamente entre os grupos experimentais, alocando 8 dentes em cada grupo. Então o esmalte vestibular será desgastado até a exposição da dentina superficial, que será polida com lixas de carvão de silício de granulação #600 sob abundante irrigação com água por 60 segundos, produzindo lama dentinária em quantidade padronizada. Os dentes serão lavados e a superfície de dentina será inspecionada em estereomicroscópio (Tecnival Carl Zeiss - JENA - Germany) com aumento 40X para assegurar a ausência de esmalte remanescente na superfície. Para os sistemas adesivos experimentais convencionais, será realizado o condicionamento dentinário com ácido fosfórico gel à 35% por 15 segundos seguido de lavagem abundante com spray ar/água pelo mesmo período. Após a remoção do excesso de umidade, o *primer* será aplicado vigorosamente sobre a dentina durante 20 segundos e em seguida será aplicado jato de ar a uma distância padronizada de 10 cm para volatilização do solvente. O adesivo será então aplicado sob agitação por 10 segundos e fotoativado por 20 segundos com aparelho fotoativador LED (Radii® Curing Light, SDI, Bayswater, Vitória, Austrália) com intensidade de 1400mW/ cm². Para os sistemas autocondicionantes experimentais o protocolo de aplicação será o mesmo utilizado para os sistemas experimentais convencionais, exceto pelas etapas de condicionamento ácido e lavagem que serão eliminadas, e pela remoção da umidade superficial da dentina que será maior. Para aplicação do sistema adesivo comercial Adper™ Scotchbond™ Multi-Purpose, será realizado o condicionamento da dentina com ácido fosfórico gel à 35% por 15 segundos seguido de lavagem abundante com spray ar/água pelo mesmo período. Após a remoção do excesso

de umidade, o *primer* será aplicado sobre a dentina e em seguida será aplicado jato de ar a uma distância padronizada de 10 cm para volatilização do solvente. Uma camada do adesivo de cobertura será então aplicada e fotoativada por 20 segundos. A aplicação do sistema adesivo Clearfil SE Bond® será realizada após a remoção do excesso de umidade dentinária, onde o *primer* autocondicionante será aplicado sob agitação por 20 segundos, o solvente volatilizado com jato de ar a uma distância padronizada de 10 cm e uma camada de adesivo de cobertura aplicada e fotoativada por 20 segundos. As restaurações serão confeccionadas utilizando o compósito restaurador microhíbrido Charisma (C2, Heraeus Kulzer, Hanau, Hesse, Alemanha) com quatro incrementos de aproximadamente 1 milímetro de espessura, fotoativados por 20 segundos cada.

4.8.1.2 Preparo dos espécimes e teste mecânico

Após armazenagem por 24 horas em água destilada à 37°C, os dentes serão seccionados em cortadeira de precisão (Isomet 1000 Precision Saw, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA). Cortes verticais serão realizados produzindo palitos com área de secção transversal de aproximadamente 0,5 mm², cujas dimensões serão aferidas com um paquímetro digital (Digimatic Caliper 500-144B, Mitutoyo Sul Americana, Suzano, SP, Brasil) com precisão de 0,01mm para cálculo da resistência de união. Serão obtidos nove palitos por dente, subdivididos em três subgrupos à serem testados em diferentes períodos de armazenagem: 24 horas, 6 e 12 meses de armazenagem em água destilada à 37°C. Para o teste de microtração, cada palito será fixado em um dispositivo metálico com auxílio de um adesivo à base de cianoacrilato (Super Bonder Gel, Loctite® Corp., Henkel Technologies, Diadema, SP, Brasil), posteriormente acoplado e tracionado em uma máquina de ensaios mecânicos (DL 500, EMIC® Equipamentos e Sistemas de Ensaio, São José dos Pinhais, PR, Brasil) até a fratura do espécime, utilizando velocidade de 0,5mm/min e célula de carga de 100N.

4.8.1.3 Análise do padrão de fratura

As superfícies das fraturas de todos os espécimes serão examinadas em microscópio óptico com aumento de 100 e 500X (Microhardness Tester FM 700, Future-Tech Corp., Kawasaki, Tóquio, Japão). As fraturas serão classificadas como fraturas predominantemente: adesivas, coesivas em dentina, coesivas em

resina (em compósito e/ou adesivo), mistas (parcialmente coesiva em dentina, compósito e/ou adesivo e adesiva).

4.8.2 Análise da confiabilidade estrutural das interfaces de união

A análise da confiabilidade estrutural será realizada através da análise estatística de Weibull a partir dos dados de resistência obtidos nos ensaios de microtração utilizando a seguinte equação:

$$P_f = 1 - \exp[-(\sigma/\sigma_0)^m]$$

onde P_f é a probabilidade de fratura, definida pela relação $P_f = \kappa/(N + 1)$, sendo κ a ordem dos valores de resistência do menor para o maior valor, N o número de espécimes avaliados na amostra, σ a resistência máxima, m o módulo de Weibull ou parâmetro de forma e σ_0 a resistência característica ou parâmetro escalar (valor de resistência correspondente a 63,21% das falhas).

4.8.3 Análise da cinética de conversão

A cinética de conversão dos polímeros será avaliada por meio de um espectrofotômetro infravermelho com Transformada de Fourier (RT-FTIR Shimadzu Prestige21 Spectrometer, Shimadzu, Japão) equipado com dispositivo de reflectância total atenuada (ATR), composto por um cristal horizontal de seleneto de zinco (ZnSe), com espelhos de angulação de 45° (PIKE Technologies, WI, USA). Um suporte será acoplado para a fixação da unidade foto-ativadora ao espectrofotômetro, permitindo a padronização de uma distância de 5 mm entre a extremidade da ponteira de fibra ótica e a amostra. Cada amostra será dispensada diretamente no cristal de ZnSe em pequenas gotas (~3µl) e fotoativadas por 60 segundos. Para o monitoramento de varredura será utilizado o software IRSolution, em uma faixa espectral entre 1750 e 1550 cm⁻¹, resolução de 8 cm⁻¹ e velocidade de deslocamento de espelho de 2,8mm/s. Com esta configuração será possível obter um espectro por segundo durante a foto-

ativação. A análise será realizada em ambiente com temperatura controlada de 23°C e umidade relativa de <60%.

O grau de conversão em função do tempo será calculado considerando a intensidade da vibração do tipo estiramento da dupla ligação carbono-carbono na frequência de 1635 cm^{-1} . O estiramento simétrico do anel aromático em 1610 cm^{-1} das amostras polimerizadas e não polimerizadas será utilizado como padrão interno. Posteriormente, os dados obtidos serão plotados em uma curva ajustada pelo parâmetro regressivo não-linear de Hill 3 parâmetros.

4.8.4 Avaliação de resistência à flexão e módulo de elasticidade – Teste de mini-flexão por 3 pontos

Para cada resina de cobertura serão confeccionados 10 corpos de prova empregando uma matriz metálica bi-partida com dimensões internas de 2 x 2 x 12 mm. A matriz será posicionada sobre uma placa de vidro previamente isolada por uma lâmina de poliéster. Cada blenda será inserida no interior da matriz de forma uniforme, em única camada e posteriormente coberta por outra lamina de poliéster. Uma segunda placa de vidro será posicionada sobre o conjunto e levemente pressionada para a remoção dos excessos. A placa de vidro superior será então removida e o corpo de prova fotoativado com duas incidências sobrepostas de 20 segundos, em cada face, utilizando um fotoativador LED (Radii® Curing Light, SDI, Bayswater, Victória, Austrália) com intensidade de 1400 mW/cm^2 . O corpo de prova será então removido da matriz e o acabamento das faces realizado com lixas de carbeto de silício de granulação #1200. Após, os corpos de prova serão armazenados por 24 horas em recipientes protegidos da luz à 37° C. Passado o período de armazenagem, a área de secção transversal de cada corpo de prova será aferida com auxílio de um paquímetro digital (Digimatic Caliper 500-144B, Mitutoyo Sul Americana, Suzano, SP, Brasil) para o cálculo de resistência a flexão. Cada corpo de prova será posicionado sobre duas hastes metálicas fixas acopladas a uma máquina de ensaios mecânicos (DL 500, EMIC® Equipamentos e Sistemas de Ensaio, São José dos Pinhais, PR, Brasil). Então uma carga de 500N será aplicada até a fratura do corpo de prova e a resistência a flexão calculada segundo a seguinte fórmula e expressa em MPa:

$$\sigma = 3FL/(2BH^2)$$

onde **F** é a carga máxima aplicada (N), **L** é a distância entre os suportes (8 mm), **B** é a largura e **H** é a altura do corpo de prova.

O módulo de elasticidade será então calculado segundo a seguinte fórmula e expresso em GPa:

$$E = FL^3/4BH^3d$$

Onde **F** é a carga máxima aplicada (N), **L** é a distância entre os suportes (8 mm), **B** é a largura e **H** é a altura do corpo de prova e **d** é a deflexão (em milímetros) correspondente a força **F**.

4.8.5 Avaliação da sorção e solubilidade

O ensaio de sorção e solubilidade será realizado de acordo com a normatização ISO 4049 (2000), exceto pelas dimensões dos corpos de prova. Para cada blenda resinosa serão confeccionados 10 corpos de prova empregando uma matriz metálica com dimensões internas de 6 mm de diâmetro e 1mm de profundidade. A matriz será posicionada sobre uma placa de vidro previamente isolada por uma lâmina de poliéster. Cada blenda será inserida no interior da matriz de forma uniforme, em única camada e posteriormente coberta por outra lamina de poliéster. Uma segunda placa de vidro será posicionada sobre o conjunto e levemente pressionada para a remoção dos excessos. A placa de vidro superior será então removida e o corpo de prova fotoativado por 40 segundos em cada face utilizando um fotoativador LED (Radil[®] Curing Light, SDI, Bayswater, Victória, Austrália) com intensidade de 1400mW/ cm². O corpo de prova será então removido da matriz e o acabamento da periferia realizado com lixas de carbetto de silício de granulação #1200, sendo que o diâmetro final não poderá ser inferior a 5,8 mm.

Após o acabamento, os corpos de prova serão transferidos para um dissecador mantido a 37 ± 1°C contendo cloreto de cálcio e sílica gel. Depois de 2

semanas de armazenamento, eles serão removidos e pesados em uma balança analítica (AUW 220D, Shimadzu Corp. Nakagyo-ku, Kyoto, Japan.) com acurácia de 0,01mg. O ciclo será repetido diariamente até uma massa constante, $m1$, ser obtida, não havendo a perda maior que 0,1mg em cada período de 24 horas.

Após a secagem final, serão feitas duas mensurações do diâmetro em ângulos retos determinando o diâmetro médio de cada corpo de prova. Em seguida, a espessura média será determinada através da aferição da espessura no centro e em 4 pontos marginais espaçados igualmente na circunferência. Então o volume (V) dos corpos de prova será calculado em mm^3 , empregando os valores aferidos do diâmetro médio e espessura média.

Os espécimes serão imersos em água destilada a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 7 dias, então removidos, lavados com água, e secos até a superfície ficar livre de umidade visivelmente detectável. Assim, a massa $m2$ será aferida. Após essa pesagem, os espécimes serão recondicionados no dessecador e pesados diariamente até uma massa constante ser obtida e registrada como $m3$.

Os valores de sorpção de água (W_{sp}) serão calculados em microgramas por milímetro cúbico usando a seguinte equação:

$$W_{sp} = \frac{m2 - m3}{V}$$

onde $m2$ é a massa em microgramas após imersão em água por 7 dias, $m3$ é a massa seca final, e V é o volume do corpo de prova. Já os valores de solubilidade (W_{sl}) serão calculados em microgramas por milímetro cúbico usando a seguinte equação:

$$W_{sl} = \frac{m1 - m3}{V}$$

onde ***m2*** é a massa seca inicial, antes da imersão em água, ***m3*** é a massa seca final, e ***V*** é o volume do corpo de prova.

4.8.6 Tratamento estatístico

A partir dos dados, o método estatístico será escolhido com base na aderência ao modelo de distribuição normal e igualdade de variância (teste de Kolmogorov-Smirnov e igualdade de variâncias respectivamente). Preenchendo esses requisitos, testes paramétricos serão aplicados, do contrário se esses dois requisitos não forem atingidos mesmo com transformações de dados, testes não-paramétricos serão aplicados. Para todos os testes será considerado estatisticamente significativo o valor $p < 0,05$ ($\alpha = 5\%$).

5. REFERÊNCIAS

ASMUSSEN, E.; PEUTZFELDT, A. Influence of selected components on crosslink density in polymer structures. **Eur J Oral Sci**, v.109, n.4, p.282-85, 2001.

ASMUSSEN, E.; PEUTZFELDT, A. Influence of UEDMA BisGMA and TEGDMA on selected mechanical properties of experimental resin composites. **Dent Mater**, v.14, n.1, p.51-56, 1998.

BLACKWELL, G. B. inventor. US patent 6,387,982 B1 assignee. Self etching adhesive primer composition and polymerizable surfactant; 2002.

BURROW, M. F.; INOKOSHI, S.; TAGAMI, J. Water sorption of several bonding resins. **Am J Dent**, v.12, n.6, p.295-98, 1999.

ADENARO, M.; ANTONIOLLI, F.; SAURO, S.; TAY, F. R.; DI LENARDA, R.; PRATI, C.; BIASOTTO, M.; CONTARDO, L.; BRESCHI, L. Degree of conversion and permeability of dental adhesives. **Eur J Oral Sci**, v.113, n.6, p.525-30, 2005.

CHANG, J. C. Amalgam repair with a 4-META resin. **J Prosthet Dent**, v.92, n.5, p.506-07, 2004.

CHO, B. H.; DICKENS, S. H. Effects of the acetone content of single solution dentin bonding agents on the adhesive layer thickness and the microtensile bond strength. **Dent Mater**, v.20, n.2, p.107-15, 2004.

COESSENS, V; PINTAUER, T; MATYJASZEWSKI, K. Functional polymers by atom transfer radical polymerization. **Prog Polym Sci**, v.26, n.3, p.337-77, 2001.

COSTA, C. A.; GIRO, E. M.; DO NASCIMENTO, A. B.; TEIXEIRA, H. M.; HEBLING, J. Short-term evaluation of the pulpo-dentin complex response to a resin-modified glass-ionomer cement and a bonding agent applied in deep cavities. **Dent Mater**, v.19, n.8, p.739-46, 2003.

DA ROSA RODOLPHO, P. A.; CENCI, M. S.; DONASSOLLO, T. A.; LOGUÉRCIO, A. D.; DEMARCO, F. F. A clinical evaluation of posterior composite restorations: 17-year findings. **J Dent**, v.34, n.7, p.427-35, 2006.

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**, v.84, n.2, p.118-32. 2005.

DE SOUZA COSTA, C. A.; DO NASCIMENTO, A. B.; TEIXEIRA, H. M. Response of human pulps following acid conditioning and application of a bonding agent in deep cavities. **Dent Mater**, v.18, n.7, p.543-51, 2002.

DOI, J.; ITOTA, T.; TORII, Y.; NAKABO, S.; YOSHIYAMA, M. Effect of 2-hydroxyethyl methacrylate pre-treatment on micro-tensile bond strength of resin composite to demineralized dentin. **J Oral Rehabil**, v.31, n.11, p.1061-67, 2004.

FALCONI, M.; TETI, G.; ZAGO, M.; PELOTTI, S.; BRESCHI, L.; MAZZOTTI, G. Effects of HEMA on type I collagen protein in human gingival fibroblasts. **Cell Biol Toxicol**, v.23, n.5, p.313-22, 2007.

FERRACANE, J. L. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. **Dent Mater**, v.22, n.3, p.211-22, Review, 2006.

FERRACANE, J. L. Elution of leachable components from composites. **J Oral Rehabil**, v.21, n.4, p.441-52. Review, 1994.

FONTES, S. T.; LIMA, G. S.; OGLIARI, F. A.; PIVA, E.; BUENO, M.; ALMEIDA, L. H. S. Uso do tetrahidrofurano como solvente na composição do primer de adesivos odontológicos. **Braz Oral Res**, v.22, suppl.1, p.238. Resumo. 2008.

FUKEGAWA, D.; HAYAKAWA, S.; YOSHIDA, Y.; SUZUKI, K.; OSAKA, A.; VAN MEERBEEK, B. Chemical interaction of phosphoric acid ester with hydroxyapatite. **J Dent Res**, v.85, n.10, p.941-44, 2006.

GAENGLER, P.; HOYER, I.; MONTAG, R.; GAEBLER, P. Micromorphological evaluation of posterior composite restorations - a 10-year report. **J Oral Rehabil**, v.31, n.10, p.991-1000, 2004.

GARCIA, F. C. P.; OTSUKI, M.; PASHLEY, D. H.; TAY, F. R.; CARVALHO, R. M. Effects of solvents on the early stage stiffening rate of demineralized dentin matrix. **J Dent**, v.33, n.5, p.371-77, 2005.

GERZINA, T. M.; HUME, W. R. Effect of hydrostatic pressure on the diffusion of monomers through dentin in vitro. **J Dent Res**, v.74, n.1, p.369-73, 1995.

GOLDBERG, M. In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin components: a review. **Clin Oral Investig**, v.12, n.1, p.1-8, Review, 2008.

GUO, X.; SPENCER, P.; WANG, Y.; YE, Q.; YAO, X.; WILLIAMS, K. Effects of a solubility enhancer on penetration of hydrophobic component in model adhesives into wet demineralized dentin. **Dent Mater**, v.23, n.12, p.1473-81, 2007.

GWINNETT, A. J.; TAY, F. Early and intermediate time response of the dental pulp to an acid etch technique in vivo. **Am J Dent**, v.11 Spec No:S35-44, 1998.

HAMID, A.; HUME, W.; R. Diffusion of resin monomers through human carious dentin in vitro. **Endod Dent Traumatol**, v.13, n.1, p.1-5, 1997.

HASEGAWA, T.; MANABE, A.; ITOH, K.; WAKUMOTO, S. Investigation of self-etching dentin primers. **Dent Mater**, v.5, n.6, p.408-10, 1989.

HAYAKAWA, T.; KIKUTAKE, K.; NEMOTO, K. Influence of self-etching primer treatment on the adhesion of resin composite to polished dentin and enamel. **Dent Mater**, v.14, n.2, p.99-105, 1998.

HEBLING, J.; GIRO, E. M.; COSTA, C. A. Human pulp response after an adhesive system application in deep cavities. **J Dent**, v.27, n.8, p.557-64, 1999.

HITMI, L.; BOUTER, D.; DEGRANGE, M. Influence of drying and HEMA treatment on dentin wettability. **Dent Mater**, v.2, n.18, p.503–11, 2002.

HOLMES, B. N. inventor. US Patent 6,030,606, assignee. Dental restoratives comprising Bis-EMA6; 1998.

IMAZATO, S.; RUSSELL, R. R.; MCCABE, J. F. Antibacterial activity of MDPB polymer incorporated in dental resin. **J Dent**, v.23, n.3, p.177-81, 1995.

INTERNATIONAL STANDARD. **ISO 4049**: 2000 (E). Dentistry – Polymer-based filling restorative and luting materials. Third Edition 2000-07-15.

INTERNATIONAL STANDARD. **ISO TS11403**: 2003 (E). Dental materials — Testing of adhesion to tooth structure. Second Edition 2003-01-01.

JACOBSEN, T.; SÖDERHOLM, K. J. Some effects of water on dentin bonding. **Dent Mater**, v.11, n.2, p.132-36, 1995.

LIMA, G. DA S.; OGLIARI, F. A.; DA SILVA, E. O.; ELY, C.; DEMARCO, F. F.; CARREÑO, N. L.; PETZHOLD, C. L.; PIVA, E. Influence of water concentration in an experimental self-etching primer on the bond strength to dentin. **J Adhes Dent**, v.10, n.3, p.167-72, 2008.

MANSO, A.P.; MARQUEZINI, L.; SILVA, S. M. A.; PASHLEY, D. H.; TAY, F. R.; CARVALHO, R. M. Stability of wet versus dry bonding with different solvent-based adhesives. **Dent Mater**, v.24, n.4, p.476-82, 2008.

MANTELLINI, M. G.; BOTERO, T.; YAMAN, P.; DENNISON, J. B.; HANKS, C. T.; NÖR, J. E. Adhesive resin and the hydrophilic monomer HEMA induce VEGF expression on dental pulp cells and macrophages. **Dent Mater**, v.22, n.5, p.434-40, 2006.

MURRAY, P. E.; WINDSOR, L. J.; HAFEZ, A. A.; STEVENSON, R. G.; COX, C. F. Comparison of pulp responses to resin composites. **Oper Dent**, v.28, n.3, p.242-50, 2003.

MYERS, D. **Surfactant science and technology**. Hoboken: Willey Interscience; 2006.

NAKABAYASHI, N.; PASHLEY, D. H. **Hibridization of Dental Hard Tissues**. 1.ed. São Paulo: Quintessence, 2000. 129p.

NAKABAYASHI, N.; SAIMI, Y. Bonding to intact dentin. **J Dent Res**, v.75, n.9, p.1706-15, 1996.

NAKABAYASHI, N.; TAKARADA, K. Effect of HEMA on bonding to dentin. **Dent Mater**, v.2, n.8, p.125–30, 1992.

NAKAOKI, Y.; NIKAIIDO, T.; PEREIRA, P. N.; INOKOSHI, S.; TAGAMI, J. Dimensional changes of demineralized dentin treated with HEMA primers. **Dent Mater**, v.16, n.6, p.441-46, 2000.

ODIAN G. **Principles of polymerization**. New York: Willey Interscience; 2004

OGLIARI, F. A.; ELY, C.; ZANCHI, C. H.; FORTES, C. B.; SAMUEL, S. M.; DEMARCO, F. F.; PETZHOLD, C. L.; PIVA, E. Influence of chain extender length of aromatic dimethacrylates on polymer network development. **Dent Mater**, v.24, n.2, p.165-71, 2008.

OHNO, H.; ENDO, K.; HASHIMOTO, M. New mechanical retention method for resin and gold alloy bonding. **Dent Mater**, v.20, n.4, p.330-37, 2004.

OPDAM, N. J.; LOOMANS, B. A.; ROETERS, F. J.; BRONKHORST, E. M. Five-year clinical performance of posterior resin composite restorations placed by dental students. **J Dent**, v.32, n.5, p.379-83, 2004.

ORTENGREN, U.; WELLENDORF, H.; KARLSSON, S.; RUYTER, I. E. Water sorption and solubility of dental composites and identification of monomers released in an aqueous environment. **J Oral Rehabil**, v.28, n.12, p.1106-15, 2001.

OSORIO, R.; PISANI-PROENCA, J.; ERHARDT, M. C.; OSORIO, E.; AGUILERA, F. S.; TAY, F. R.; TOLEDANO, M. Resistance of ten contemporary adhesives to resin-dentine bond degradation. **J Dent**, v.36, n.2, p.163-69, 2008.

PAMEIJER, C. H.; STANLEY, H. R. The disastrous effects of the "total etch" technique in vital pulp capping in primates. **Am J Dent**, n.11, Spec No:S45-54, p.148, 1998.

PASHLEY, E. L.; ZHANG, Y.; LOCKWOOD, P. E.; RUEGGEBERG, F. A.; PASHLEY, D. H. Effects of HEMA on water evaporation from water-HEMA mixtures. **Dent Mater**, v.14, n.1, p.6-10, 1998.

PASHLEY, D. H.; LIVINGSTON, M. J.; REEDER, O. W.; HORNER, J. Effects of the degree of tubule occlusion on the permeability of human dentine in vitro. **Arch Oral Biol**, v.23, n.12, p.1127-33, 1978.

QIAN, X. inventor; US Patent 6,837,712 B2, assignee. Dental restorative compositions; 2005.

RATHKE, A.; ALT, A.; GAMBIN, N.; HALLER, B. Dentin diffusion of HEMA released from etch-and-rinse and self-etch bonding systems. **Eur J Oral Sci**, v.115, n.6, p.510-16, 2007.

REIS, A.; ALBUQUERQUE, M.; PEGORARO, M.; MATTEI, G.; BAUER, J. R.; GRANDE, R. H.; KLEIN-JUNIOR, C. A.; BAUMHARDT-NETO, R.; LOGUERCIO, A. D. Can the durability of one-step self-etch adhesives be improved by double application or by an extra layer of hydrophobic resin? **J Dent**, v.36, n.5, p.309-15, 2008.

SALZ, U.; ZIMMERMANN, J.; ZEUNER, F.; MOSZNER, N. Hydrolytic stability of self-etching adhesive systems. **J Adhes Dent**, v.7, n.2, p.107-16, 2005.

SCHMALZ, G. Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. **Clin Oral Investig**, v.1, n.4, p.154-62. Review, 1997.

SCHWEIKL, H.; HILLER, K. A.; ECKHARDT, A.; BOLAY, C.; SPAGNUOLO, G.; STEMPEL, T.; SCHMALZ, G. Differential gene expression involved in oxidative stress response caused by triethylene glycol dimethacrylate. **Biomaterials**, v.29, n.10, p.1377-87, 2008.

SCHWEIKL, H.; SPAGNUOLO, G.; SCHMALZ, G. Genetic and cellular toxicology of dental resin monomers. **J Dent Res**, v.85, n.10, p.870-77. Review, 2006.

SCRANTON, A. B.; BOWMAN, C. N.; KLIER, J.; PEPPAS, N. A. Polymerization reaction dynamics of ethylene-glycol methacrylates and dimethacrylates by calorimetry. **Polymer**, v.33, n.8, p.1683-89, 1992.

SIDERIDOU, I.; TSERKI, V.; PAPANASTASIOU, G. Study of water sorption, solubility and modulus of elasticity of light-cured dimethacrylate-based dental resins. **Biomaterials**, v.24, n.4, p.655-65, 2003.

SPAGNUOLO, G.; D'ANTÒ, V.; VALLETTA, R.; STRISCIUGLIO, C.; SCHMALZ, G.; SCHWEIKL, H.; RENGO, S. Effect of 2-hydroxyethyl methacrylate on human pulp cell survival pathways ERK and AKT. **J Endod**, v.34, n.6, p.684-88, 2008.

TEIXEIRA, H. M.; DO NASCIMENTO, A. B.; HEBLING, J.; DE SOUZA COSTA, C. A. In vivo evaluation of the biocompatibility of three current bonding agents. **J Oral Rehabil**, v.33, n.7, p.542-50, 2006.

TOLEDANO, M.; OSORIO, R.; OSORIO, E.; AGUILERA, F. S.; YAMAUTI, M.; PASHLEY, D. H.; TAY, F. Durability of resin-dentin bonds: effects of direct/indirect exposure and storage media. **Dent Mater**, v.23, n.7, p.885-92, 2007.

TORKABADI, S.; NAKAJIMA, M.; IKEDA, M.; FOXTON, R. M.; TAGAMI, J. Bonding durability of HEMA-free and HEMA-containing one-step adhesives to dentine surrounded by bonded enamel. **J Dent**, v.36, n.1, p.80-86, 2008.

VAN DIJKEN JW. Durability of three simplified adhesive systems in Class V non-carious cervical dentin lesions. **Am J Dent**, v.17, n.1, p.27-32, 2004

VAN LANDUYT, K. L.; SNAUWAERT, J.; DE MUNCK, J.; PEUMANS, M.; YOSHIDA, Y.; POITEVIN, A.; COUTINHO, E.; SUZUKI, K.; LAMBRECHTS, P.; VAN MEERBEEK. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. **Biomaterials**, v.28, n.26, p.3757-85, 2007.

VENZ, S.; DICKENS, B. Modified surface-active monomers for adhesive bonding to dentin. **J Dent Res**, v.72, n.3, p.582-86, 1993.

YE, Q.; SPENCER, P.; WANG, Y.; MISRA, A. Relationship of solvent to the photopolymerization process, properties, and structure in model dentin adhesives. **J Biomed Mater Res A**, v.80, n.2, p.342-50, 2007.

YOSHIDA, Y.; NAGAKANE, K.; FUKUDA, R.; NAKAYAMA, Y.; OKAZAKI, M.; SHINTANI, H.; INOUE, S.; TAGAWA, Y.; SUZUKI, K.; DE MUNCK, J.; VAN MEERBEEK, B. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. **J Dent Res**, v.83, n.6, p.454-58, 2004.

ZHANG, Y.; XU, J. Effect of immersion in various media on the sorption, solubility, elution of unreacted monomers, and flexural properties of two model dental composite compositions. **J Mater Sci Mater Med**, v.19, n.6, p.2477-83, 2008.

ORÇAMENTO

Descrição	Quantidade	Custo (unidade)	Custo (total)
Acetona	1000 ml	R\$ 18,00	R\$ 18,00
Adesivo a base de cianoacrilato	10 un.	R\$ 5,00	R\$ 50,00
Adper Scotch Bond Multi-Usos/ 3M ESPE	1 kit	R\$ 160,00	R\$ 160,00
Canforoquinona	10g.	R\$ 410,00	R\$ 410,00
EDAB	10g.	R\$ 300,00	R\$ 300,00
Clearfil SE Bond - Kuraray	1 kit	R\$ 420,00	R\$ 420,00
Cera pegajosa em bastão	4 cx.	R\$ 25,00	R\$ 100,00
Compósito restaurador	10 un.	R\$ 50,00	R\$ 500,00
Condicionador ácido a 35%	5 un.	R\$ 12,00	R\$ 60,00
Disco de precisão para corte	1 un.	R\$ 1.600,00	R\$ 1.600,00
Etanol	1000 ml	R\$ 10,00	R\$ 10,00
HEMA	500 g	R\$ 350,00	R\$ 350,00
Bis-GMA	500 g	R\$ 350,00	R\$ 350,00
Bis-EMA 10	500 g	R\$ 350,00	R\$ 350,00
Bis-EMA 30	500 g	R\$ 350,00	R\$ 350,00
PEGDMA 400	500 g	R\$ 350,00	R\$ 350,00
PEGDMA 1000	500 g	R\$ 350,00	R\$ 350,00
PEG 400 UDMA	500 g	R\$ 350,00	R\$ 350,00
TEGDMA	500 g	R\$ 350,00	R\$ 350,00
Impressões	10 un.	R\$ 50,00	R\$ 500,00

Lixas para desgaste (#600)	30 un.	R\$ 1,00	R\$ 30,00
Luvras para procedimento	1 cx.	R\$ 18,00	R\$ 18,00
Máscaras descartáveis	1 cx.	R\$ 10,00	R\$ 10,00
Pincel descartável	1 cx.	R\$ 10,00	R\$ 10,00
Serviço de revisão do inglês	1 revisão	R\$ 200,00	R\$ 200,00
THF	1000 ml	R\$ 40,00	R\$ 40,00
		Total	R\$ 7.236,00

Quadro 1 – Orçamento previsto para viabilização do projeto.

CRONOGRAMA

Mês/Ano	Revisão de literatura	Qualificação do projeto	Aquisição dos materiais	Teste piloto	Fase experimental	Organização dos resultados	Análise estatística	Redação	Defesa de tese	Submissão para publicação
Nov./ 2008	X	X	X							
Dez./ 2008	X		X	X						
Jan./ 2009	X		X	X						
Fev/ 2009	X				X					
Mar./ 2009	X				X					
Abr./ 2009	X				X					
Mai./ 2009	X				X					
Jun./ 2009	X				X	X				
Jul./2009	X				X	X	X			
Ago./2009	X				X	X	X	X		
Set./ 2009	X					X	X	X		
Out./ 2009	X						X	X		
Nov./ 2009	X							X		
Dez./ 2009	X							X		
Jan./ 2010	X							X		
Fev./ 2010	X								X	
Mar./2010										X

Quadro 2 - Cronograma de execução do projeto.

RECURSOS FINANCEIROS DISPONÍVEIS

Responsável	Projeto/Edital	Valor
Prof. Evandro Piva	Nanotecnologia e suas aplicações no desenvolvimento de materiais odontológicos, CNPq - Ed 092007 Jovens Pesquisadores - processo 550374/2007-8	R\$ 25.000,00
Prof. Evandro Piva	Novos componentes fosfatados polimerizáveis aplicados no desenvolvimento de sistemas adesivos autocondicionantes, Edital Universal CNPQ 2007 Faixa B -processo 478731/2007-8	R\$ 34.465,00

RELATÓRIO DE EXPERIMENTOS

O item 4.2 do projeto inicial - *Avaliação da concentração de Bis-EMA 30 em um primer convencional livre de HEMA: efeito na confiabilidade estrutural e resistência de união à dentina* - foi finalizado e o artigo aceito para publicação no periódico Journal of Dentistry – Zanchi ch, Münchow EA, Ogliari FA, Chersoni S, Prati C, Demarco FF, Piva E. *Development of experimental HEMA-free three-step adhesive system. J Dent 2010; In press. Doi:10.1016/j.jdent.2010.03.006*, neste caso não sendo incluído na Tese.

Os itens 4.3 *Avaliação da concentração de PEG 400 UDMA em um primer convencional livre de HEMA: efeito na confiabilidade estrutural e resistência de união à dentina*; 4.5 *Efeito de diferentes solventes na resistência de união em dentina de um sistema adesivo autocondicionante livre de HEMA*; e 4.6 *Avaliação da concentração de PEG 400 UDMA em um primer autocondicionante: efeito na confiabilidade estrutural e resistência de união à dentina* não foram executados pois julgou-se que não apresentariam substancial contribuição dentro do conhecimento até então produzido neste trabalho.

O item 4.7 *Caracterização de resinas adesivas de cobertura contendo diferentes monômeros surfactantes* foi finalizado e o artigo se encontra em fase final de redação.

Adicionalmente foram realizadas a avaliação da resistência a flexão e módulo de elasticidade das resinas adesivas de cobertura após envelhecimento acelerado em etanol e a caracterização das interfaces de união por microscopia eletrônica de varredura, metodologias não previstas inicialmente.

Uma nova linha de pesquisa durante os 9 meses do estágio de doutoramento também foi desenvolvida juntamente com a mineróloga Dra Maria Giovanna Gandolfi na Universidade de Bologna. Desta linha foram desenvolvidos cimentos resinosos liberadores de íons como cálcio, flúor e fosfato. Quatro estudos estão em fase final de execução:

- Desenvolvimento de cimentos resinosos com alta liberação de flúor
- Desenvolvimento de cimentos resinosos com alta liberação de flúor, cálcio e fosfato
- Desenvolvimento de um cimento resinoso auto-adesivo a base de MTA
- Desenvolvimento de um cimento resinoso retro-obturador

Nestes estudos foram realizadas avaliações de pH, liberação de Flúor e cálcio, análise da permeabilidade radicular, além de caracterizações por microscopia eletrônica de varredura em EDX e micro-Raman.

ARTIGO 1

Original Research

**Title: A NEW APPROACH IN SELF-ETCHING ADHESIVE FORMULATIONS:
REPLACING HEMA FOR SURFACTANT DIMETHACRYLATE MONOMERS**

Cesar Henrique Zanchi, DDS, MSc, PhD student, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil

Eliseu Aldrich Münchow, graduate student, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil

Fabricio Aulo Ogliari, DDS, MSc, PhD, Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, RS, Brazil.

Stefano Chersoni, DDS, MSc, PhD, Department of Endodontics, School of Dentistry, University of Bologna, BO, Italy

Carlo Prati, MD, PhD, professor, Department of Endodontics, School of Dentistry, University of Bologna, BO, Italy

Flávio Fernando Demarco, DDS, MSc, PhD, professor, Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, RS, Brazil

*Evandro Piva, DDS, MSc, PhD, professor, Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, RS, Brazil

*Corresponding author at: Biomaterials Development and Control Center, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, Rua Gonçalves Chaves, 457, CEP: 96015-560 Pelotas, RS, Brazil. Tel.: +55 53 3222 6690; fax: +55 53 3222 6690.

E-mail address: evpiva@pq.cnpq.br

O Artigo foi redigido segundo o Guia para Autores do Periódico Dental Materials disponível em:
http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/601024/authorinstructions

Abstract

Objective. To evaluate the influence of surfactant dimethacrylates (SD) on the resin-to-dentin microtensile bond strength (μ TBS) and to characterize the interfacial micromorphology of hybrid layer of the experimental HEMA-free self-etching systems.

Methods. Five experimental HEMA-free two-step self-etching systems containing different surfactant dimethacrylates (SD) (Bis-EMA 10, Bis-EMA 30, PEG 400, PEG 1000 and PEG 400 UDMA) and a HEMA-containing system (control) were formulated. Sixty bovine incisors allocated into six groups had their superficial coronal dentin exposed. Each experimental adhesive system was applied and resin composite restorations were incrementally built up. After 24 hours, restored teeth were sectioned to obtain twenty-four sticks per group with cross-sectional area of 0.5 mm^2 . Thereafter, the specimens were subjected to the μ TBS test. Data (MPa) were analyzed by One-way ANOVA and Tukey's test. Analysis of the adhesive-dentin interfaces were performed through Scanning Electron Microscopy (SEM).

Results. The adhesive system formulated with PEG 400 UDMA produced μ TBS similar to the HEMA-containing group and statistically higher than the HEMA-free groups. Additionally, similar failure percentages were observed in the PEG 400 UDMA and the control group. The lowest μ TBS was observed with Bis-EMA 30 with predominance of the adhesive failures. In the SEM analysis, all the adhesives systems presented similar partially demineralized hybrid layer (1.5-3.0 μm thickness) with well-formed resin tags.

Significance. All the adhesives systems presented similar partially demineralized hybrid layer with well-formed resin tags. All SD presented

reasonable initial μ TBS, with the PEG 400 UDMA being a promising monomer to be considered as a HEMA substitute in adhesive systems compositions.

Keywords: dental adhesive; surfactant, microtensile bond strength test, resin-dentin interface; hybrid layer.

Introduction

The 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) is a hydrophilic monomer broadly used in contemporary dental materials as resin-modified glass ionomer cements, resin luting cements, and dental adhesive systems. It is long known for good wetting, diffusion, and penetration properties, which are the primary mechanisms to obtaining micro-mechanical retention on demineralized wet dentin [1]. Thus, this water-soluble monomer is an excellent adhesion-promoting agent, leading to an increase in immediate bond strengths [2-4].

The mains drawbacks related of the use of HEMA are its allergenic potential and the hydrolytic deteriorating effects in humid environment. Uncured HEMA is notorious for its high allergenic potential, and it is associated to allergic reaction type IV, a well-known occupational disease among dentists [5-7]. Additionally, HEMA is present in other common products (i.e., paints, varnish, fake fingernails, and contact lenses) and due to its low molecular weight, it quickly penetrates through gloves and skin, which is associated with cross-allergic reactions [5]. Nevertheless, when the adhesive systems are applied to deep cavities, HEMA molecules may diffuse rapidly through non-sclerotic dentin at cytotoxic concentrations [8-9], thus promoting an induction of pulp apoptotic cell death, which is an important mechanism for the generation and persistence of

hypersensitivity reactions in patients [10]. Another recurrent problem is the quick water absorption by the adhesive resin when HEMA is still in an uncured state. This feature affects the degree conversion [11], resulting a poor quality polymer network with weak mechanical properties [12]. Additionally, many *in vivo* and *in vitro* studies have shown that resin-dentin interfaces become much weaker over time [13-17] because the resin components of hybrid layers are rapidly lost in humid environments, suggesting that alterations in resin components may be the first step in the degradation of such interfaces [19].

Due to wet characteristics of the dentin, HEMA substitution in the contemporary adhesives systems formulations is too difficult. However, some studies have shown that surfactant dimethacrylates (SD) act like solubility enhancers, facilitating penetration of hydrophobic component into wet demineralized dentin, reducing the phase separation [19, 20], and increasing the bond strengths to dentin [21, 22]. From a chemical analysis, unlike HEMA, which is not able to form cross-linking and only links in linear space positions, SD are characterized by the presence of two polymerizable groups ($-C=C-$) [23], forming cross-linked polymers less susceptible to hydrolysis [24]. Additionally, the long chain extenders of the ethylene oxide units present in many SD propitiate a greater flexibility to the monomers, enhancing the mobility of the system [25]. Consequently, in the polymerization process of homopolymers, vitrification is not detected, and the degree of conversion can reach almost 100% [26, 27].

Concerning toxicity and pulp reactions, monomer molecular weight is probably of remarkable influence for diffusion through non-sclerotic dentin [8]. If the diffusion coefficient is inversely related to molecular weight, the HEMA

substitution for SD, which presents high molecular weight (Table 1), theoretically would result in reduction of the adhesive toxicity by steric impedance [28].

Considering the potential and advantages of SD, the aim of this study was to characterize the interfacial micromorphology of hybrid layer and to test the null hypothesis that replacing HEMA with different SD will not affect the microtensile bond strength (μ TBS) of experimental two-step self-etch HEMA-free adhesive systems applied on dentin.

Material and methods

Experimental HEMA-free self-etching adhesive systems formulation

Six experimental self-etching primers were formulated by mixing the components described in Table 2. The respective resin bonds were formulated through intensive mixture of components described in Table 3. To make the resin bond light-curing, a binary light-curing system constituted by 0.4 wt% of camphorquinone (CQ, Esstech) and 0.8 wt% of ethyl 4-dimethylaminebenzoate (EDAB, Fluka, Milwaukee, WI, USA) were dissolved in the mixture. Ethoxylated bisphenol A diglycidyl dimethacrylate, with 10 and 30 ethylene oxide units (Bis-EMA 10 and Bis-EMA 30, respectively), poly-ethyleneglycol (400) dimethacrylate (PEG 400), poly-ethyleneglycol (1000) dimethacrylate (PEG 1000), poly-ethyleneglycol (400) extended urethane dimethacrylate (PEG 400 UDMA), 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA), 2,2-bis[4-(2-hydroxy-3-methacryloyloxypropyl)phenyl]-propane (Bis-GMA), and triethyleneglycol dimethacrylate (TEGDMA) were purchased from Esstech (Esstech Inc., Essington, PA, USA). GDMA-P is an equimolar mixture of glycerol dimethacrylate dihydrogen phosphate and glycerol tetramethacrylate hydrogen phosphate,

produced according to a previous investigation [29]. The reagents were used as received, without further purification.

Specimen preparation

Forty-eight extracted bovine incisors were used in this study. After pulp and periodontal tissue removal, the teeth were stored frozen at -4°C for less than three months. The teeth were randomly allocated into six experimental groups. The vestibular enamel was removed with a model trimmer to form a flat, superficial, coronal dentin surface. The exposed dentin surface was wet polished with 180-grit silicon carbide paper to create a standardized smear layer.

The water excess of the prepared surface dentine was removed with a piece of absorbent paper. Each experimental self-primer was applied for 20 seconds and gently air-dried for 10 seconds. One coat of resin bond was applied and light-activated for 20 seconds using a Light Emitting Diode light-curing unit (Radii SDI, Bayswater, Victoria, Australia). The irradiance was measured with a digital power meter (Ophir Optronics, Danvers, MA, USA) and was approximately 1400mW/cm². SBMP was used according to the manufacturer's instructions. After adhesive light-activation, two increments of resin composite (Charisma C2, Heraeus Kulzer, Germany) were placed, completely covering the dentin surface, and light-cured for 20 seconds each. The specimens were stored for 24 hours in distilled water at 37°C. The specimens were sectioned in two directions perpendicular to the bonded interface using a refrigerated diamond saw at low-speed (Isomet 1000, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL), producing beams with a cross-sectional surface area of approximately 0.5 mm² for microtensile bond testing.

μTBS evaluation and fracture analysis

The prepared beams had their ends fixed to a device for microtensile tests using a cyanoacrylate adhesive. The specimens were tested in microtensile strength to failure in a mechanical testing machine (DL-500, Emic, São José dos Pinhais, Brazil) at a crosshead speed of 1 mm/min. Microtensile bond strengths (μ TBS) were calculated and expressed in MPa. The premature failures were registered, but were not included in the statistical analysis. The half of each specimen corresponding to dentin was removed from the device and was examined with an optical microscope at a magnification of 100x and 500x. The failure patterns were classified as on the adhesive interface, cohesive in adhesive resin, cohesive in dentin, or mixed.

Scanning electron microscope observation

Twelve freshly extracted human molars with their roots cut off were flat-ground into enamel using 600-grit SiC abrasive paper. The teeth were allocated into six experimental adhesive system groups. The bonding procedure with resin composite and the light-curing thereof were carried out as described above. Each bonded specimen was vertically sectioned at the resin-tooth interface. The sectioned surfaces were polished with #600, #1000, #2000 and #4000-grit SiC abrasive paper, and then sandblasted with 40–50 μ m aluminum oxide (Hialumina; Shofu Inc., Kyoto, Japan) under a pressure of 3 kg/cm². After this, the surfaces were cleaned ultrasonically and dried. Some slabs were acid-conditioned with phosphoric acid gel (35%) for 15 seconds and, after abundant rinsing, were dried. All the specimens were coated with gold/palladium, and examined under a scanning electron microscope (SEM; Model 5400, JEOL, Tokyo, Japan) at 2000-5000X magnifications.

Statistical analysis

Microtensile bond strength data (MPa) were analyzed by one-way ANOVA and Tukey's test at the 0.05 level of significance.

Results

The microtensile bond strength means and standard deviations are shown in Figure 1. Analysis of variance showed that adhesive system was a significant factor for bond strength, influenced by the type of SD monomer. Tukey's test revealed that between the SD groups, UP400 produced the highest μ TBS ($p < 0.05$) and was similar to the control containing HEMA. The P400 e P1000 presented similar results, with P1000 being significantly higher than B10 and B30 ($P < 0.05$). The lowest μ TBS means were observed in B10 and B30 groups ($P > 0.05$). No premature failures occurred during the handling of the specimens in the μ TBS tests.

The distribution of failure patterns is shown in Figure 2. Analysis of the surfaces fractured after the μ TBS test showed a similar failure pattern between the UP400 and HA groups, with predominance of the mixed failures. However, UP400 presented a larger percentage of adhesive failures than HA. The B10, B30, P400, and P1000 groups presented high adhesive failure percentages with just few mixed failures.

SEM micrographs of sectioned surfaces at the resin-dentin interface are shown in figures 3 and 4. All the experimental adhesive systems produced similar partially demineralized hybrid layers with well-formed resin tags (Figure 3). Hybrid layer thickness ranged 1.5-3.0 μ m, and typical resin lateral branches (black arrows) can be observed in some images (Figure 4).

Discussion

The surfactants, or *surface active agents*, are used to improve formulations and functionalities of many daily products, ranging from personal care (e.g., soaps, shampoos, sunscreens, and cosmetics products), household detergents, industrial cleaning solutions, food industry items, paints, pigments, and inks, to pharmaceuticals. They are wetting agents that reduce the surface tension of a liquid, allowing easier spreading between two liquids. Usually they are amphiphilic organic compounds containing both hydrophobic and hydrophilic chemical groups, being soluble in water and organic solvents.

The surfactants are often classified into four primary groups according their charge characteristics: anionic, cationic, non-ionic, and zwitterionic (dual charge) [29]. In dental materials development, non-ionic surfactant dimethacrylates have been tested in experimental adhesive system formulations [19-22]. Basically, these molecules are characterized by the presence of two methacrylate radicals corresponding to hydrophobic groups and long oxiethylene chain extenders ($[-CH_2-CH_2-O-]_n$) or urethanes radicals ($R^1-O-(CO)NR^2-R^3$) corresponding to hydrophilic groups [30]. When one considers dental adhesion, this bipolar behavior is very interesting in the attempt to produce adhesive systems that are less susceptible to hydrolysis due to crosslink formation, without losing wetting, diffusion, and penetration properties.

In this study, five different non-ionic SD were tested in the experimental HEMA-free self-etching adhesive formulations. The composition of the adhesive systems was identical, except for the kind of amphiphilic monomer used, hence allowing for an indisputable evaluation of the effect of HEMA substitution on adhesion performance. Among the HEMA-free experimental adhesive groups,

UP400 produced the highest μ TBS ($p<0.05$) and was similar to control HEMA-containing (Figure 1). Additionally, a predominance of mixed failures was observed in both groups (Figure 2). These findings can be explained by the surfactant action of the PEG 400 UDMA, which acts as a hybridization agent into the collagen fibrils [19]. Compared to HEMA, which is too hydrophilic and just links in linear positions, this interesting monomer has a long chain extender of ethylene oxide units and four urethanes between the two hydrophobic unsaturated radicals (polymerizable groups). As such, the result is a fundamental bi-polar behavior that permits, at the same time, the monomer diffusion into the collagens fibrils and the formation of the crosslinked polymer [19]. Additionally, the four -NH- present in the urethanes (Table 1) can bind to the monomers by hydrogen bonding (H-bonding). Similar to the effect of the hydroxyls (-OH) on the Bis-GMA, the H-bonding in the PEG 400 UDMA-based polymers leads to a more rigid polymer network with increased mechanical properties [26, 31]. This probably occurred because with this adhesive system, a very strong hybrid layer was formed with major hydrophobic dimetacrylates concentrations into the collagens fibrils [19] making the adhesive-dentin interface more resistant [21, 22]. With these data, the null hypothesis is then fully refuted.

Regarding the other HEMA-free experimental groups, B10, B30, P400, and P1000 produced μ TBS means significantly lower than UP400 and HA (Figure 1). Additionally, high adhesive failure percentages with just few mixed failures were observed in the fractured specimens (Figure 2). In these groups, the SD employed are characterized by the presence of one or two very long chain extenders of ethylene oxide units between the two unsaturates, which produce the hydrophilic character in the middle of the molecule (Table 1). Although these long chain

extenders can act as an aprotic solvent [32], thereby increasing the wetting ability and the degree conversion of the resin blend [26, 27], also determines a higher network parameter and consequently a more flexible polymer, which acts as a rubber solid [26]. These characteristics can be decisive on the mechanical properties of the hybrid layer and can compromise the behavior of the resin-dentin interface. Thus, it is possible that the network parameter in combination with polymer flexibility resulted in a weak resin-dentin interface that is more susceptible to swelling [24] and with high appearance flaws inside the incompletely infiltrated zones, which consequently reduces the μ TBS on dentin [15, 33].

Although just one experimental HEMA-free adhesive system has produced an immediate μ TBS similar to the control, the overall bonding effectiveness of all the experimental HEMA-free adhesive systems can be considered reasonable when compared with bond strengths recorded for other recently marketed adhesives, which were tested via a similar study protocol. The interfacial ultra-morphology corroborated with these results since the interdiffusion zone formed at the resin-dentin interface is well accepted as a fundamental concept on a morphological bonding mechanism to dentin [1]. The SEM micrographs of sectioned surfaces at the resin-dentin interface (Figures 3 and 4) showed similar partially demineralized hybrid layers (ranged 1.5-3.0 μ m in thickness) with well-formed resin tags and typical resin lateral branches. However, more specific analysis at the nanostructural level must be performed to better describe these interfaces.

Due to its amphiphilic nature, the SD tested in the experimental HEMA-free self-etching formulations have an emulsion capacity by micelles' formation when added in low water content. If in the self-etching adhesives the need for HEMA is reduced due to the fact that the acidic monomers and solvents in self-etching

primers contribute to the wetting and diffusion properties [2], these SD are potential alternatives to HEMA that can increase the bond durability and reduce the potential toxicity. Additionally, when compared to the functional monomers like HEMA, the SD, due to the densely cross-linked polymers' formation [31], provide some advantages, including the increase in the polymer mechanical strength [34, 35] and the reduction of the susceptibility to hydrolysis in aqueous solutions [24]. Also, considering that the dentinal diffusion coefficient is inversely related to molecular weight, the HEMA substitution for SD with high MW (Table 1) would, theoretically, result in reduction of the adhesive toxicity by a steric impedance [28]. Considering the potential and advantages of the SD and the lack of information in the literature, further studies, such as cytotoxicity and long-term μ TBS evaluations, as well as tests of new formulations, are necessary for better understanding SD usage as adhesion promoters in dental adhesives.

Conclusions

Within the limits of this investigation, it was concluded that the SD have a potential use in the development of HEMA-free self-etching adhesive systems. The experimental system containing PEG 400 UDMA presented satisfactory immediate bond strength and typical interfacial ultra-morphology, demonstrating performance similar to the control system containing HEMA.

Acknowledgements

Authors would like to thank Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for financial support, CAPES/MEC (Brazilian Government) for scholarship (Process - 1145-09-6) and Esstech Inc for reagents donation.

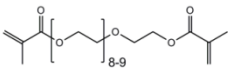
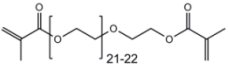
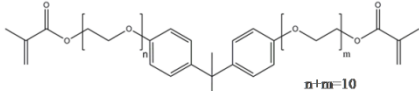
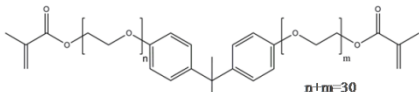
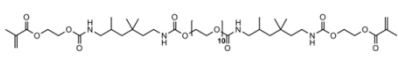
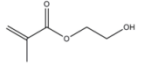
References

1. Nakabayashi N, Takarada K. Effect of HEMA on bonding to dentin. *Dent Mater* 1992; 2: 125–30.
2. Van Landuyt KL, Yoshida Y, Hirata I, Snauwaert J, De Munck J, Okazaki M, et al. Influence of the chemical structure of functional monomers on their adhesive performance. *J Dent Res* 2008; 87: 757-61.
3. Nakaoki Y, Nikaido T, Pereira PN, Inokoshi S, Tagami J. Dimensional changes of demineralized dentin treated with HEMA primers. *Dent Mater* 2000; 16: 441-6.
4. Hasegawa T, Manabe A, Itoh K, Wakumoto S. Investigation of self-etching dentin primers. *Dent Mater* 1989; 5: 408-10.
5. Goossens A. Contact allergic reactions on the eyes and eyelids. *Bull Soc Belge Ophtalmol* 2004; 292: 11-17.
6. Lonnroth EC, Wellendorf H, Ruyter E. Permeability of different types of medical protective gloves to acrylic monomers. *Eur J Oral Sci* 2003; 111: 440–6.
7. Sandberg E, Bergenholtz G, Eklund C, Dahlgren UI. HEMA bound to self-protein promotes auto-antibody production in mice. *J Dent Res* 2002; 81: 633–6.
8. Rathke A, Alt A, Gambin N, Haller B. Dentin diffusion of HEMA released from etch-and-rinse and self-etch bonding systems. *Eur J Oral Sci* 2007; 115: 510-6.
9. Hamid A, Hume WR. Diffusion of resin monomers through human carious dentin in vitro. *Endod Dent Traumatol* 1997; 13: 1-5.
10. Paranjpe A, Bordador LC, Wang MY, Hume WR, Jewett A. Resin monomer 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) is a potent inducer of apoptotic cell death in human and mouse cells. *J Dent Res* 2005; 84: 172-7.
11. Ye Q, Spencer P, Wang Y, Misra A. Relationship of solvent to the photopolymerization process, properties, and structure in model dentin adhesives. *J Biomed Mater Res A* 2007; 80: 342-50.
12. Dickens SH, Cho BH. Interpretation of bond failure through conversion and residual solvent measurements and Weibull analyses of flexural and microtensile bond strengths of bonding agents. *Dent Mater* 2005; 21: 354-64.
13. Foxton RM, Melo L, Stone DG, Pilecki P, Sherriff M, Watson TF. Long-term durability of one-step adhesive-composite systems to enamel and dentin. *Oper Dent* 2008; 3: 651-7.

14. Peumans M, Kanumilli P, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: a systematic review of current clinical trials. *Dent Mater* 2005; 21: 864-81. Review.
15. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, et al. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res* 2005; 84: 118-32.
16. Takahashi A, Inoue S, Kawamoto C, Ominato R, Tanaka T, Sato Y, et al. In vivo long-term durability of the bond to dentin using two adhesive systems. *J Adhes Dent* 2002; 4: 151-9.
17. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res* 2000; 79: 1385-91.
18. Carrilho MRO, Tay FR, Pashley DH, Tjaderhane L, Carvalho RM. Mechanical degradation of resin dentin bond components. *Dent Mater* 2005; 21: 232-41.
19. Guo X, Spencer P, Wang Y, Ye Q, Yao X, Williams K. Effects of a solubility enhancer on penetration of hydrophobic component in model adhesives into wet demineralized dentin. *Dent Mater* 2007; 23: 1473-81.
20. Blackwell GB. inventor. US patent 6,387,982 B1 assignee. Self etching adhesive primer composition and polymerizable surfactant 2002.
21. Venz S, Dickens B. Modified surface-active monomers for adhesive bonding to dentin. *J Dent Res* 1993; 72: 582-6.
22. Zanchi ch, Münchow EA, Ogliari FA, Chersoni S, Prati C, Demarco FF, Piva E. Development of experimental hema-free three-step adhesive system. *J Dent* 2010; In press. Doi:10.1016/j.jdent.2010.03.006
23. Coessens V, Pintauer T, Matyjaszewski K. Functional polymers by atom transfer radical polymerization. *Prog Polym Sci* 2001; 26: 337-77.
24. Ferracane JL. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. *Dent Mater* 2006; 22: 211-22. Review.
25. Scranton AB, Bowman CN, Klier J, Peppas NA. Polymerization reaction dynamics of ethylene glycol methacrylates and dimethacrylates by calorimetry. *Polymer* 1992; 33: 1683-9.
26. Ogliari FA, Ely C, Zanchi CH, Fortes CB, Samuel SM, Demarco FF, et al. Influence of chain extender length of aromatic dimethacrylates on polymer network development. *Dent Mater* 2008; 24: 165-71.

27. Anseth KS, Kline LM, Walker TA, Anderson KJ, Bowman CN. Reaction kinetics and volume relaxation during polymerizations of multiethylene glycol dimethacrylates. *Macromolecules* 1995; 28: 2491–9.
28. Gerzina TM, Hume WR. Effect of hydrostatic pressure on the diffusion of monomers through dentin in vitro. *J Dent Res* 1995; 74: 369-73.
29. Lima G da S, Ogliari FA, da Silva EO, Ely C, Demarco FF, Carreno NL, et al. Influence of water concentration in an experimental self-etching primer on the bond strength to dentin. *J Adhes Dent* 2008; 10: 167-72.
30. Myers D. *Surfactant science and technology*. Hoboken: Willey Interscience 2006.
31. Asmussen E, Peutzfeldt A. Influence of selected components on crosslink density in polymer structures. *Eur J Oral Sci* 2001; 109: 282-5.
32. Yu Q, Nauman S, Santerre JP, Zhu S. Photopolymerization behavior of di(meth)acrylate oligomers. *J Mater Sci* 2001; 36: 3599–605.
33. Zanchi CH, D'Ávila OP, Rodrigues-Junior SA, Burnett Jr LH, Demarco FF, Pinto MB. Effect of additional acid etching on bond strength and structural reliability of adhesive systems applied to caries-affected dentin. *J Adhes Dent* 2010. In press. Doi 10.3290/j.jad.a17529
34. Odian G. *Principles of polymerization*. New York: Willey Interscience 2004.
35. Asmussen E, Peutzfeldt A. Influence of UEDMA BisGMA and TEGDMA on selected mechanical properties of experimental resin composites. *Dent Mater* 1998; 14: 51-6.

Table 1. Molecular weight, formula and structure of different surfactants.

Surfactant	Molecular weight (g/mol)*	Molecular formula	Molecular Structure
Poly-ethyleneglicol (400) dimethacrylate (PEG 400)	550-594	$C_{26-28} H_{46-50} O_{12-13}$	
Poly-ethyleneglicol (1000) dimethacrylate (PEG 1000)	1124-1168	$C_{52-54} H_{98-102} O_{25-26}$	
Ethoxilate bisphenol A diglycidyl dimethacrylate (Bis-EMA 10)	805	$C_{43} H_{64} O_{14}$	
Ethoxilate bisphenol A diglycidyl dimethacrylate (Bis-EMA 30)	1686	$C_{83} H_{144} O_{34}$	
Poly-ethyleneglicol (400) extended urethane dimethacrylate (PEG 400 UDMA)	1139	$C_{54} H_{98} N_4 O_{21}$	
2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA)	130	$C_6 H_{10} O_3$	

*Data supplied by Esstech, Inc.

Table 2. Composition of the experimental self-etching primers

<i>Primers (Groups)</i>	<i>Surfactant Monomer</i>	Composition (% weight)			
		Surfactant	Ethanol	Water	GDMA-P
P400	PEG 400	30	20	20	30
P1000	PEG 1000	30	20	20	30
B10	Bis-EMA 10	30	20	20	30
B30	Bis-EMA 30	30	20	20	30
UP400	PEG 400 UDMA	30	20	20	30
AH*	HEMA	30	20	20	30

PEG 400, poly-ethyleneglycol (400) dimethacrylate; PEG 1000, poly-ethyleneglycol (1000) dimethacrylate; Bis-EMA 10, ethoxylated bisphenol A diglycidyl ether dimethacrylate with 10 ethylene oxide units; Bis-EMA 30, ethoxylated bisphenol A diglycidyl ether dimethacrylate with 30 ethylene oxide units; PEG 400 UDMA, poly-ethyleneglycol (400) extended urethane dimethacrylate; HEMA, 2-hydroxyethyl methacrylate; GDMA-P, is an equimolar mixture of glycerol dimethacrylate dihydrogen phosphate and glycerol tetramethacrylate hydrogen phosphate.

* Control group

Table 3. Composition of the experimental resin bonds

<i>Resin Bond (Groups)</i>	<i>Surfactant Monomer</i>	Composition (% weight)				
		Surfactant	Bis-GMA	TEGDMA	CQ	EDAB
P400	PEG 400	25	49	24.8	0.4	0.8
P1000	PEG 1000	25	49	24.8	0.4	0.8
B10	Bis-EMA 10	25	49	24.8	0.4	0.8
B30	Bis-EMA 30	25	49	24.8	0.4	0.8
UP400	PEG 400 UDMA	25	49	24.8	0.4	0.8
AH*	HEMA	25	49	24.8	0.4	0.8

PEG 400, poly-ethyleneglycol (400) dimethacrylate; PEG 1000, poly-ethyleneglycol (1000) dimethacrylate; Bis-EMA 10, ethoxylated bisphenol A diglycidyl ether dimethacrylate with 10 ethylene oxide units; Bis-EMA 30, ethoxylated bisphenol A diglycidyl ether dimethacrylate with 30 ethylene oxide units; PEG 400 UDMA, poly-ethyleneglycol (400) extended urethane dimethacrylate; HEMA, 2-hydroxyethyl methacrylate; Bis-GMA, 2,2-bis[4-(2-hydroxy-3-methacryloyloxypropyl)phenyl]-propane; TEGDMA, triethyleneglycol dimethacrylate; CQ, camphorquinone; EDAB, ethyl 4-dimethylaminebenzoate.

* Control group

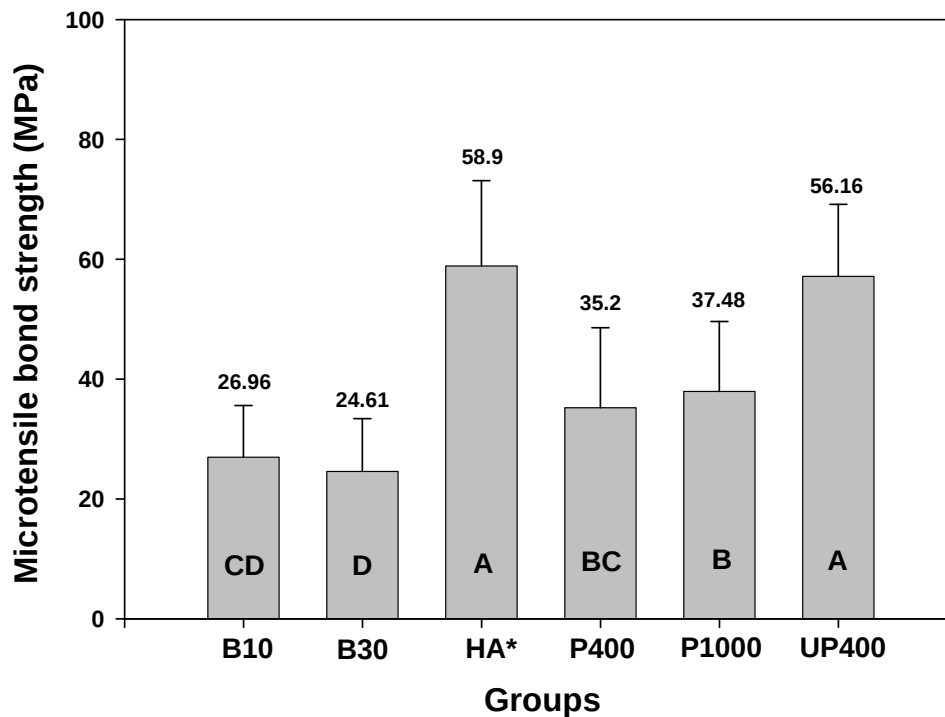


Figure 1. Microtensile bond strength in MPa (n=24) and standard derivation. Different letters indicate statistical differences between groups ($p < 0.05$). * Control group.

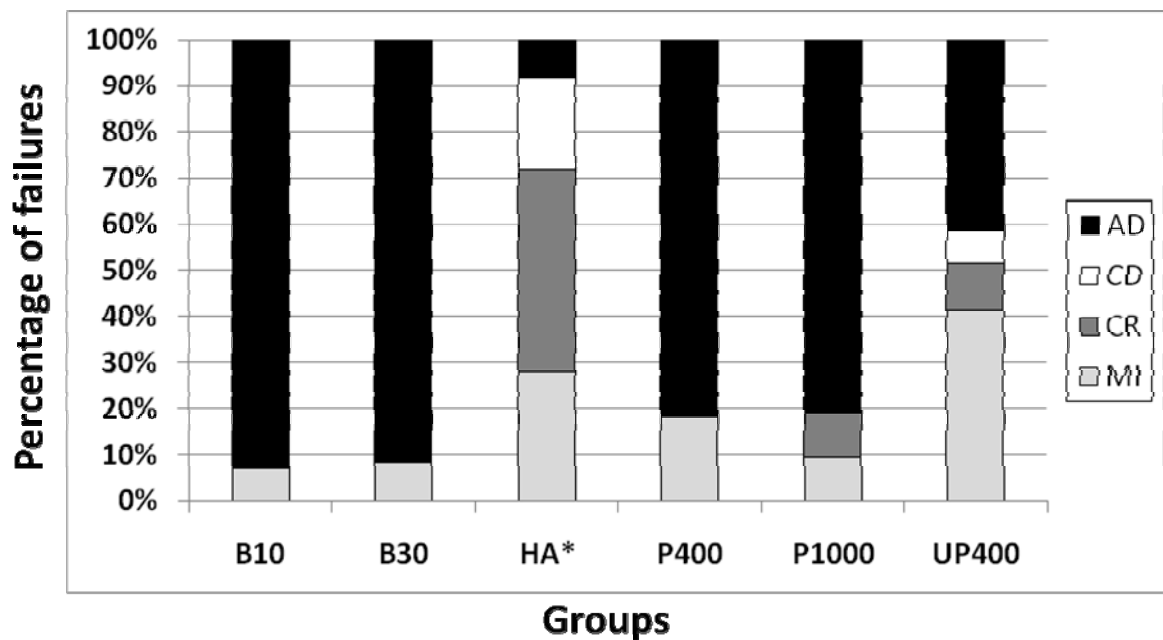


Figure 2. Failure distribution evaluated with optical microscopy, at 100X and 500X magnifications classified as: CD: cohesive in dentin; MI: mixed; AD: adhesive interface; CR: cohesive in the adhesive resin.

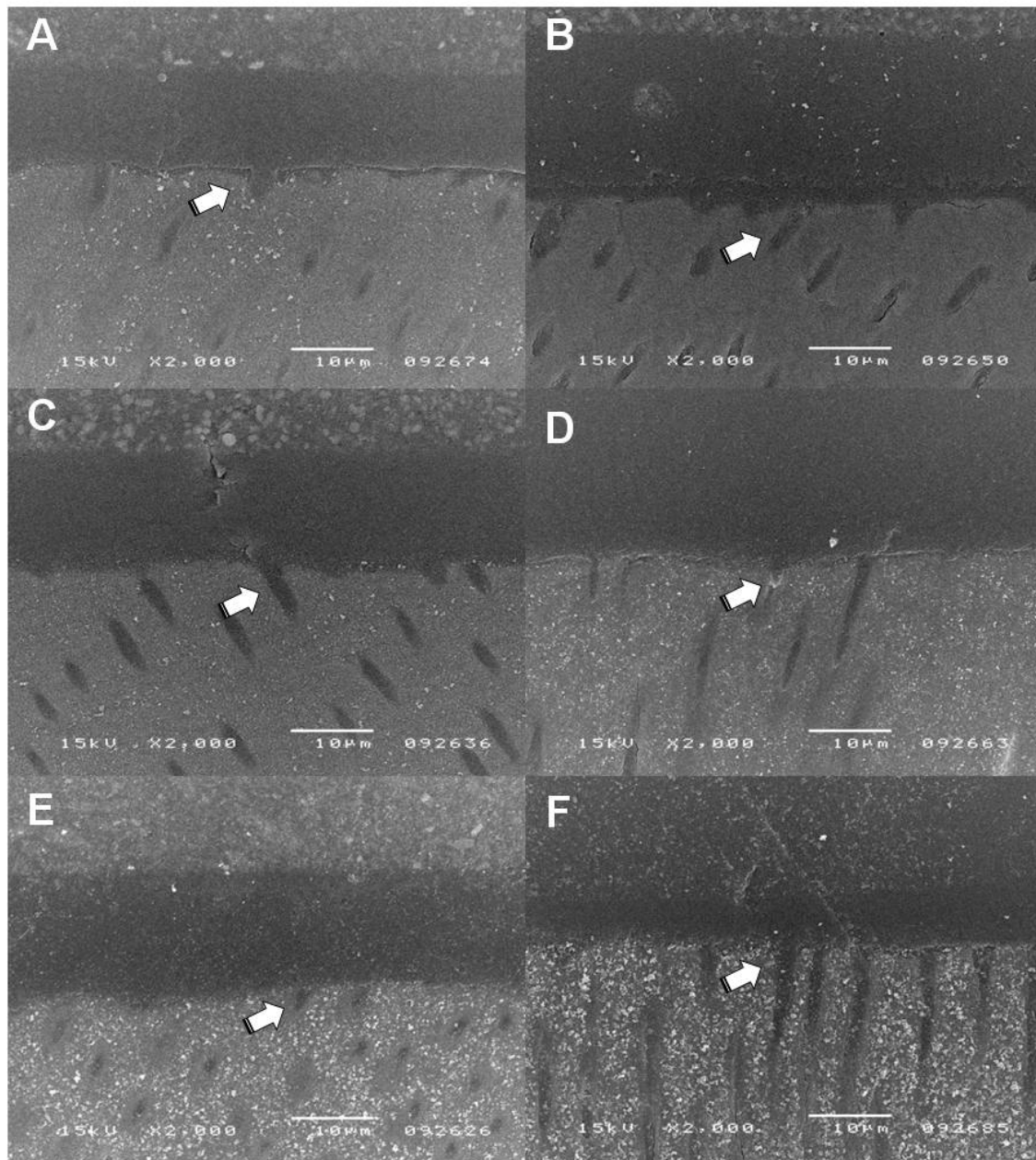


Figure 3. SEM micrographs of sectioned surfaces, at the resin-dentin interface bonded by experimental adhesive systems at 15 KV and 2000 magnifications. Typical resin interdiffusion dentin layer can be observed in all the experimental groups. The arrows indicate resin cores of inside each tag. (A) B10, (B) B30, (C) HA, (D) P400, (E) P1000, (F) UP400.

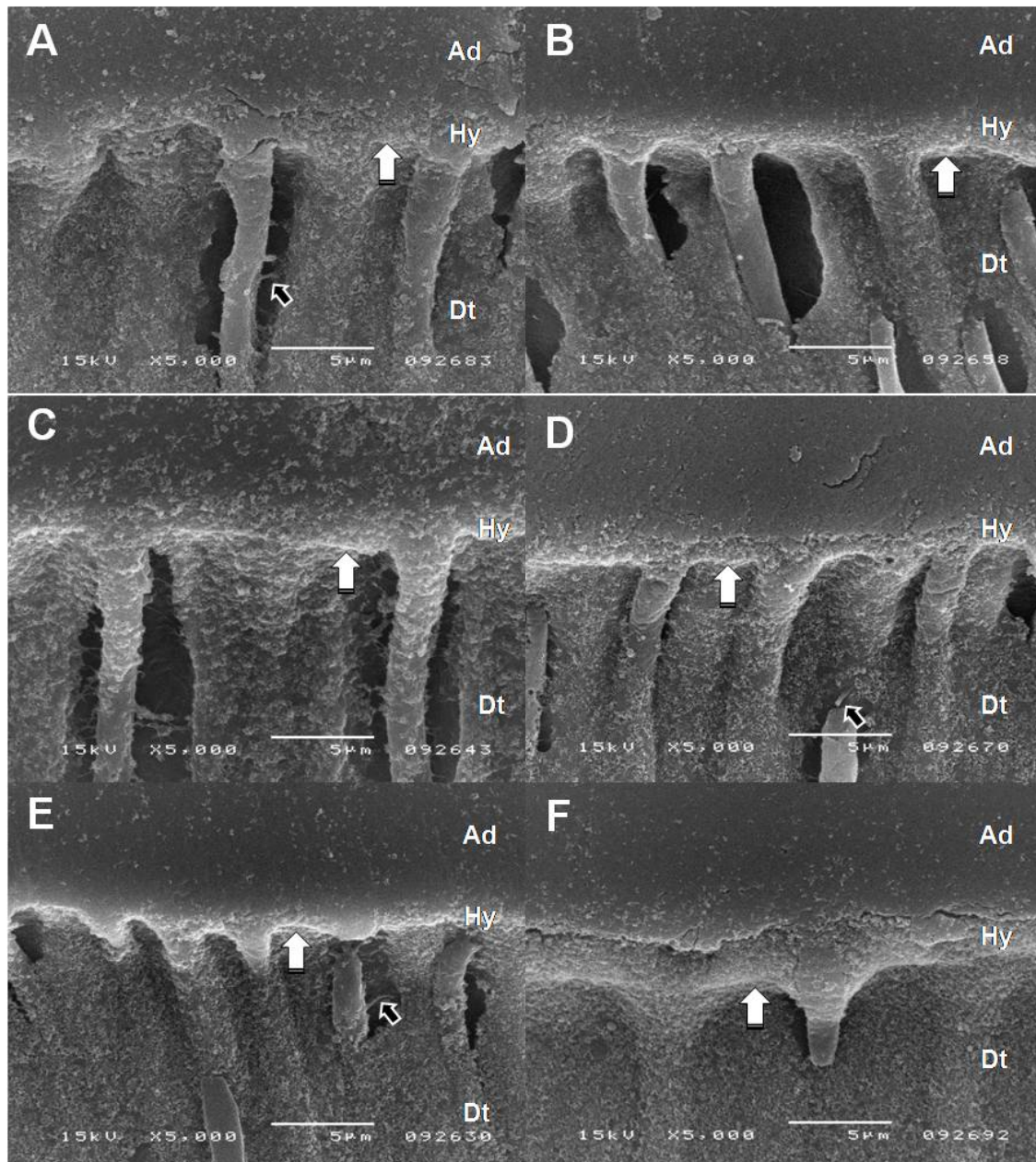


Figure 4. SEM micrographs after phosphoric acid treatment of sectioned surfaces at the resin-dentin interface bonded by experimental adhesive systems (15 KV and 5000X magnifications). A bonding hybrid layer (Hy) ranged 1.5-3.0 μm thickness (white arrows) can be seen between the adhesive resin (Ad) and dentin substrate (Dt) in all SEM micrographs. Typical resin lateral branches (black arrows) can be observed in some images. (A) B10, (B) B30, (C) HA, (D) P400, (E) P1000, (F) UP400.

ARTIGO 2

Original Research

Title: **EXPERIMENTAL HEMA-FREE SELF-ETCHING ADHESIVE SYSTEMS: EFFECT OF LONG-TERM WATER STORAGE ON BOND STRENGTH**

Cesar Henrique Zanchi, Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil

Eliseu Aldrich Münchow, Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil

Fabricio Aulo Ogliari, Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, RS, Brazil.

Stefano Chersoni, Department of Endodontics, School of Dentistry, University of Bologna, BO, Italy

Carlo Prati, MD, Department of Endodontics, School of Dentistry, University of Bologna, BO, Italy

Flávio Fernando Demarco, Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, RS, Brazil

*Evandro Piva, Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, RS, Brazil

Running title: **BOND STRENGTH OF HEMA-FREE ADHESIVES**

*Corresponding author at: Biomaterials Development and Control Center, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, Rua Gonçalves Chaves, 457, CEP:

96015-560 Pelotas, RS, Brazil. Tel.: +55 53 3222 6690; fax: +55 53 3222 6690.

email address: evpiva@pq.cnpq.br

O Artigo 2 foi redigido segundo o Guia para Autores do Periódico European Journal of Oral Science disponível em: <http://www.wiley.com/bw/submit.asp?ref=0909-8836&site=1>

ZANCHI CH, MÜNCHOW EA, OGLIARI FA, CHERSONI S, PRATI C, DEMARCO FF, PIVAE.

EFFECT OF LONG-TERM WATER STORAGE ON BOND STRENGTH OF EXPERIMENTAL HEMA-FREE SELF-ETCHING ADHESIVE SYSTEMS

Eur J Oral Sci

Abstract

This study evaluated the influence of surfactant dimethacrylates (SD) on the resin-to-dentin immediate and long-term microtensile bond strength (μ TBS) of the experimental HEMA-free self-etching systems. Five experimental HEMA-free two-step self-etching systems containing different surfactant dimethacrylates (SD) (Bis-EMA 10, Bis-EMA 30, PEG 400, PEG 1000, and PEG 400 UDMA) and a HEMA-containing system (control) were formulated. Sixty bovine incisors had the superficial coronal dentins exposed and were allocated into six groups according to their SD or HEMA containing formulation. The teeth were restored and sectioned to obtain sticks randomly allocated into three storage periods: 24 hours, 6 months, and 12 months. Thereafter, the specimens were subjected to the μ TBS test. Data (MPa) were analyzed by Kruskal-Wallis and Dunn test ($\alpha = 0.05$). Between the HEMA-free groups, the adhesive system formulated with PEG 400 UDMA produced the highest μ TBS and was similar to HEMA-containing group. Specimens store for 24 hours were statistically higher for all groups tested when compared those after 6 and 12 months storage ($p < 0.05$). The PEG 400 UDMA showed that μ TBS could be considered satisfactory substitutes for HEMA in adhesive systems compositions.

Keywords: Dental adhesive; surfactant, microtensile bond strength test; resin-dentin interface; biodegradation.

Corresponding author at: Biomaterials Development and Control Center, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, Rua Gonçalves Chaves, 457, CEP: 96015-560 Pelotas, RS, Brazil. Tel.: +55 53 3222 6690; fax: +55 53 3222 6690. E-mail address: evpiva@pq.cnpq.br

Introduction

Dentin-bonding agents are blends of hydrophobic and hydrophilic monomers with a two-fold purpose: adhesion between the hydrophobic restorative materials and the intrinsically wet dentin substrate. Generally, hydrophobic monomers are characterized by the presence of at least two polymerizable groups (vinyl groups or --C=C--) (1). These dimethacrylates can form densely cross-linked polymers (2), providing mechanical strength (3, 4), and reducing the susceptibility to hydrolysis in aqueous solutions (5). On the other hand, the hydrophilic monomers act like adhesion-promoting agents, called “functional monomers”. These functional monomers had on one extremity a polymerizable group that links to the hydrophobic dimethacrylates and on the other extremity a hydrophilic functional radical (6).

The 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) is a hydrophilic functional monomer broadly used in commercial dentin bonding agents in amounts that vary between 35-55% (6, 7). Due to the low molecular weight, HEMA acts as a co-solvent, helping to mix hydrophobic and hydrophilic ingredients in a single homogeneous blend (8). Additionally, its great penetration ability makes this water-soluble monomer an excellent adhesion-promoting agent, leading to an increase in immediate bond strengths (9-10).

However, HEMA has been extensively associated to allergenic reactions and is a trigger to induce pulp apoptotic cell death when diffusing into dentinal tubules (11, 12). Also, HEMA is a common sensitizer among dentists and dental technicians because it can penetrate through conventional gloves during adhesives handling (13) and may lead to the development of contact dermatitis (15).

As verified by a chemical analysis, HEMA cannot form cross-linking like the dimethacrylate monomers, and it only links in linear space positions, resulting in a polymer more prone to hydrolysis in the oral environment. Thus, a potential decrease in mechanical properties of the adhesive resin can be expected over time (5, 6). In fact, several *in vivo* and *in vitro* studies have shown that resin–dentin interfaces become much weaker over time (15-19). Although a concept of degradation of naked collagen fibril by host-derived matrix metalloproteinases (MMPs) has recently been established (20), Carrilho et al., 2005 (21) suggested that alterations in resin components, such as the plasticizing effects of water and chemical hydrolysis, may be the first step in the degradation of such interfaces due to rapid loss of the monomers and chemicals from hybrid layers in humid environments.

An interesting approach to maintain the hydrophilicity of the adhesive blends and at the same time to form more stable cross-linked polymers with reduced adhesive toxicity is to replace HEMA with some surfactant dimethacrylates (SD) with high molecular weights (Table 1). Surfactant dimethacrylates are solubility enhancers that facility penetration of hydrophobic components into wet demineralized dentin, reducing the phase separation (22, 23) and increasing the bond strengths to dentin (24, 25). Unlike HEMA, SD presents two polymerizable groups ($-C=C-$) that form cross-linked polymers that less susceptible to hydrolysis in humid environments (1, 5). Additionally, the high molecular weight may impair the monomer diffusion through non-sclerotic dentin (11), and, theoretically, a reduction of the adhesive toxicity and pulp reactions by steric impedance would be expected (26).

Considering the potential and advantages of using SD, the aim of this study was to test the hypothesis that replacing HEMA for different SD does not affect the immediate and long-term microtensile bond strength (μ TBS) of experimental two-step self-etch HEMA-free adhesive systems applied on dentin.

Material and methods

Experimental HEMA-free self-etching adhesive systems formulation

Six experimental self-etching primers evaluated in the study were formulated by mixing the components described in Table 2. The respective resin bonds were formulated through intensive mixture of components described in Table 3. To make the resin bond light-curing, a binary light-curing system constituting of 0.4 wt% of camphorquinone (CQ, Esstech) and 0.8 wt% of ethyl 4-dimethylaminebenzoate (EDAB, Fluka, Milwaukee, WI, USA) were dissolved in the mixture. Ethoxylated bisphenol A diglycidyl dimethacrylate, with 10 and 30 ethylene oxide units (Bis-EMA 10 and Bis-EMA 30, respectively), poly-ethyleneglycol (400) dimethacrylate (PEG 400), poly-ethyleneglycol (1000) dimethacrylate (PEG 1000), poly-ethyleneglycol (400) extended urethane dimethacrylate (PEG 400 UDMA), 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA), 2,2-bis[4-(2-hydroxy-3-methacryloyloxypropyl)phenyl]-propane (Bis-GMA), and triethyleneglycol dimethacrylate (TEGDMA) were purchased from Esstech (Esstech Inc., Essington, PA, USA). GDMA-P is an equimolar mixture of glycerol dimethacrylate dihydrogen phosphate and glycerol tetramethacrylate hydrogen phosphate, produced according to a previous investigation (27). The reagents were used as received, without further purification.

Specimen preparation

Forty-eight extracted bovine incisors were used in this study. After pulp and periodontal tissue removal, the teeth were stored frozen at -4°C for less than three months. The teeth were randomly allocated into six experimental groups. The vestibular enamel was removed with a model trimmer to form a flat, superficial, coronal dentin surface. The exposed dentin surface was wet polished with 180-grit silicon carbide paper to create a standardized smear layer.

The water excess of the prepared surface dentine was removed with a piece of absorbent paper. Each experimental self-primer was applied for 20 seconds and gently air-dried for 10 seconds. One coat of resin bond was applied and light activated for 20 seconds using a Light Emitting Diode light-curing unit (Radii SDI, Bayswater, Victoria, Australia). The irradiance was measured with a digital power meter (Ophir Optonics, Danvers, MA, USA) and was approximately 1400mW/cm². SBMP was used according to the manufacturer's instructions. After adhesive light-activation, two increments of resin composite (Charisma C2, Heraeus Kulzer, Germany) were placed, completely covering the dentin surface, and then were light-cured for 20 seconds each. The specimens were stored for 24 hours in distilled water at 37°C. The specimens were sectioned in two directions perpendicular to the bonded interface using a refrigerated diamond saw at low-speed (Isomet 1000, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL), producing beams with a cross-sectional surface area of approximately 0.5 mm² for microtensile bond testing. The beams of each adhesive system were allocated in three groups according to storage period (24 hours, 6 months, and 12 months), staying in distilled water at 37°C. Water was changed weekly to accelerate the degradation process.

μTBS evaluation and fracture analysis

The prepared beams had their ends covered and individually fixed to a custom-made testing jig using a cyanoacrylate glue (Super Bonder Gel, Loctite, Diadema, SP, Brazil) and were tested in tension until failure in a mechanical testing machine (DL-500, Emic, São José dos Pinhais, Brazil) at a crosshead speed of 1 mm/min. Microtensile bond strengths (μTBS) were calculated and expressed in MPa. The premature failures were registered but were not included in the statistical analysis. The half of each specimen corresponding to dentin was removed from the device and was examined in an optical microscope at a magnification of 100x and 500x. The failure patterns were classified as on the adhesive interface, cohesive in adhesive resin, cohesive in dentin, or mixed.

Statistical analysis

Due different sample size and data that did not fulfill normality and equal variances requirements, statistical analysis was performed using Kruskal-Wallis One Way of Variance on Ranks and Dunn's method as multiple comparison procedures ($\alpha=5\%$). Premature failure was registered as zero value (0 MPa) and included for statistical comparisons.

Results

Median values for μTBS in MPa, the number of specimens tested (n), failure distribution (in percentages), and premature failures (p.f.) according to adhesive groups and storage time are shown in Table 4. Box-plot representations are showed in Figure 1.

Statistical analysis revealed that the μTBS median values after 24 hours of storage were statistically higher for all groups tested compared to median values

after 6 months and 12 months storage. No difference was found between μ TBS of 6 months and 12 months storage for each group ($p>0.05$). The μ TBS of groups HA (Control) and UP400 were similar; however, both groups showed statistically higher median values for the three storage times evaluated.

Regarding to the distribution of failure patterns at 24-hour storage, B10, B30, P400, and P1000 groups presented higher adhesive failures percentages (above 80%) with few mixed and/or cohesive resin failures. In the HEMA-free UP400 group, equal percentages of mixed and adhesive failures were observed (41%), with some cases of cohesive dentin and cohesive resin failures. The HA control group showed few adhesive failures with a predominance of cohesive resin and mixed failures.

In all the groups, no premature failures were observed in this period. After 6 months of storage, an increase in adhesive failure percentages was observed in HA, UP400, and B30 groups, with 100% observed in B30. Additionally, some premature failures were observed in B30 group. In this period, HA e UP400 showed similar failure patterns. Concerning the specimens tested after 12 months of storage, in general, the failure patterns were similar to those observed after 6 months of storage. In this period, except for HA, all the groups showed some premature failures, mainly for B30 and P1000 groups (Table 4).

Discussion

The surface active agents (surfactants) are used to improve formulations and functionalities of many daily products and generally can be classified into four primary groups according the charge characteristic: anionic, cationic, non-ionic, and zwitterionic (dual charge) (28). In this study, five different non-ionic SD were

tested in the experimental HEMA-free self-etching adhesive formulations. The composition of the adhesive systems was identical, except for the kind of amphiphilic monomer, thus allowing for an indisputable evaluation of the effect of HEMA substitution on adhesion performance.

The SD employed are basically characterized by the presence of two methacrylate radicals corresponding to hydrophobic groups and long oxyethylene chain extenders ($[-CH_2-CH_2-O-]_n$) or urethanes radicals ($R^1-O-(CO)NR^2-R^3$) corresponding to hydrophilic groups (28). These hydrophilic radicals improve wettability, diffusibility, and penetrability of the resin blend, which are crucial properties to reaching an effective hybridization on the wet demineralized dentin (24, 25).

According to data of the immediate and long-term μ TBS rejections, the hypothesis was partially refuted. Thus, replacing HEMA with different SD affects the immediate and long-term microtensile bond strength (μ TBS) of experimental two-step self-etch HEMA-free adhesive systems applied on dentin. The exception occurs when UP400 was used in the formulation. The immediate μ TBS data showed that UP400 and HA (control HEMA-containing) produced the highest μ TBS ($p < 0.05$). Additionally, a predominance of mixed failures was observed in both groups (Table 4).

The group UP400 was formulated with PEG 400 UDMA, a urethane-containing SD with a high molecular weight. These molecule acts as a hybridization agent into the collagen fibrils due to the presence of a long chain extender of ethylene oxide units and four urethanes between the two hydrophobic unsaturated radicals. Thus, a bi-polar behavior is created, allowing at the same time the monomer diffusion into the collagens fibrils and the formation of the cross-

linked polymer (22). Also, the four -NH- present in the urethanes (Table 1) can bind the monomers by hydrogen bonding (H-bonding), leading to a more rigid polymer network with increased mechanical properties (2). Considering that SD conducted to higher hydrophobic dimethacrylates concentrations into the collagens fibrils (22), this adhesive system probably produced a very strong hybrid layer, making the adhesive-dentin interface more resistant (24).

The HEMA-free experimental groups B10, B30, P400, and P1000 produced μ TBS values significantly lower than UP400 and HA in all storage periods (Table 4 and Figure 1). Additionally, high adhesive failure rates were observed in the fractured specimens at 24 hours (above 80%). These findings can be explained by the hydrophilic groups that characterize the SD employed in these experimental adhesives, which are composed by one or two very long chain extenders of ethylene oxide units. These long chain extenders can act as an aprotic solvent (29), increasing the wettability and the degree of conversion of the resin blend (30, 31), and also can determine a higher network parameter and consequently a more flexible polymer, acting as a rubber solid (30). The formation of the polymer with high flexibility and high network parameter may result in a weak resin-dentin interface that is more susceptible to swelling (5) with high appearance flaws inside the incompletely infiltrated zones, which could be the reason for the low μ TBS on dentin and the high adhesive failure rates (16, 32).

In relation to the storage time, the μ TBS values after 24 hours were statistically higher for all groups tested when compared to values after 6 months and 12 months of storage. No statistical difference was found between μ TBS of 6 months and 12 months of storage for each group. After 12 months storage, except for HA, all the groups showed some premature failures, mainly for B30 and P1000

groups (Table 4). These findings can be explained by the adhesive resin degradation that probably occurs because of adhesive displacement by water into the adhesive-dentin interface, as a result of hydrolysis (33). Although the degradation of naked collagen fibril by MMPs occurs into adhesive-dentin interfaces (20), in case of self-etching adhesives, the hydrolysis of adhesive resin may be more damaging to long-term bonding effectiveness due to their bond structure having less demineralized dentin (33). In fact, the evaluation of the μ TBS in *in vivo* specimens after long-term functional restorations demonstrated a severe hydrolysis of adhesive resin within the hybrid layer created by a self-etching adhesive system (34). Additionally, physical changes such as plasticization, softening, and chemical changes such as oxidation alter permanently the mechanical properties of the polymer network in the adhesive-dentin interface (5).

Furthermore, the hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymers are dependent on the extent and water uptake rate that is determined by the density of the polymer network and the potential for hydrogen bonding and polar interactions (5). Thus, the low μ TBS observed in groups B10, B30, P400, and P1000 after 6 and 12 months of storage can be related to the presence of several ether groups (R-O-R') into the long chain extenders of ethylene oxide present in the SD employed. Venz et al., 1991 (35) reported that the hydrophilic ether linkage is the main group related to water sorption, following by hydroxyl groups, and, in the end, urethane linkages. Hence, the chemical nature of the cross-linking agent may overcome the effect of higher molecular density (36).

The increased water sorption will result in a polymer plasticization, thereby reducing interchain interactions, such as entanglements and secondary bonds. Consequently, this sponge effect results in reduction of the polymer mechanical

properties (5). However, when μ TBS data at 6 months and 12 months of storage were compared, no statistical differences were observed (Table 4). The probable reason lies in the fully saturation of the network, which reaches a maximum within one or two months (37). Additionally, the elution of the unreacted monomers, oligomers, by-products, and polymerization promoters occurs mainly in the first weeks, creating initial chemical polymer stabilization. But the chemical polymer degradation through oxidation, chain scission, and attack of functional groups remains over time, resulting in the increased porosity in the hybrid in specimens produced *in vivo* after long-term function (38).

Considering the potential and advantages of SD and the lack of information available in literature, further studies of issues such as cytotoxicity and new formulations testing are necessary for better understanding SD usage as adhesion promoters in dental adhesives.

Conclusions

Within the limits of this study, it was concluded that SD have a potential use in the development of HEMA-free self-etching adhesive systems. The experimental system containing PEG 400 UDMA presented satisfactory, immediate, and long-term bond strengths, demonstrating a performance similar to the HEMA-containing control system.

Acknowledgements

Authors would like to thank Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for financial support, CAPES/MEC (Brazilian Government) for scholarship (Process - 1145-09-6) and Esstech Inc for reagents donation.

References

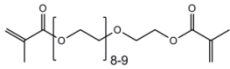
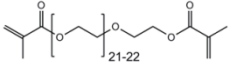
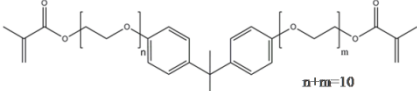
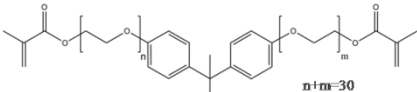
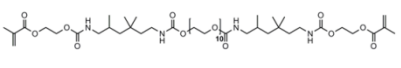
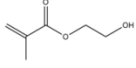
1. COESSENS V, PINTAUER T, MATYJASZEWSKI K. FUNCTIONAL POLYMERS BY ATOM TRANSFER RADICAL POLYMERIZATION. *Prog Polym Sci* 2001; **26**: 337-377.
2. ASMUSSEN E, PEUTZFELDT A. Influence of selected components on crosslink density in polymer structures. *Eur J Oral Sci* 2001; **109**: 282-285.
3. ODIAN G. *Principles of polymerization*. New York: Willey Interscience; 2004.
4. ASMUSSEN E, PEUTZFELDT A. Influence of UEDMA BisGMA and TEGDMA on selected mechanical properties of experimental resin composites. *Dent Mater* 1998; **14**: 51-56.
5. FERRACANE JL. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. *Dent Mater* 2006; **22**: 211-222. Review.
6. VAN LANDUYT KL, SNAUWAERT J, DE MUNCK J, PEUMANS M, YOSHIDA Y, POITEVIN A, COUTINHO E, SUZUKI K, LAMBRECHTS P, VAN MEERBEEK B. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials* 2007; **28**: 3757-3785.
7. PASHLEY EL, ZHANG Y, LOCKWOOD PE, RUEGGEBERG FA, PASHLEY DH. Effects of HEMA on water evaporation from water-HEMA mixtures. *Dent Mater* 1998; **14**: 6-10.
8. VAN LANDUYT KL, YOSHIDA Y, HIRATA I, SNAUWAERT J, DE MUNCK J, OKAZAKI M, SUZUKI K, LAMBRECHTS P, VAN MEERBEEK B. Influence of the chemical structure of functional monomers on their adhesive performance. *J Dent Res* 2008; **87**: 757-761.
9. NAKAOKI Y, NIKAIDO T, PEREIRA PN, INOKOSHI S, TAGAMI J. Dimensional changes of demineralized dentin treated with HEMA primers. *Dent Mater* 2000; **16**: 441-446.
10. HASEGAWA T, MANABE A, ITOH K, WAKUMOTO S. Investigation of self-etching dentin primers. *Dent Mater* 1989; **5**: 408-410.
11. RATHKE A, ALT A, GAMBIN N, HALLER B. Dentin diffusion of HEMA released from etch-and-rinse and self-etch bonding systems. *Eur J Oral Sci* 2007; **115**: 510-516.
12. PARANJPE A, BORDADOR LC, WANG MY, HUME WR, JEWETT A. Resin monomer 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) is a potent inducer of apoptotic cell death in human and mouse cells. *J Dent Res* 2005; **84**: 172-177.

13. ANDREASSON H, BOMAN A, JOHNSON S, KARLSSON S, BARREGÅRD L. On permeability of methyl methacrylate, 2-hydroxyethyl methacrylate and triethyleneglycol dimethacrylate through protective gloves in dentistry. *Eur J Oral Sci* 2003; **111**: 529-535.
14. WALLENHAMMAR LM, ORTENGREN U, ANDREASSON H, BARREGÅRD L, BJÖRKNER B, KARLSSON S, WRANGSJÖ K, MEDING B. Contact allergy and hand eczema in Swedish dentists. *Contact Dermatitis* 2000; **43**: 192-199.
15. FOXTON RM, MELO L, STONE DG, PILECKI P, SHERRIFF M, WATSON TF. Long-term durability of one-step adhesive-composite systems to enamel and dentin. *Oper Dent* 2008; **3**: 651-657.
16. 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; **84**: 118-132.
17. PEUMANS M, KANUMILLI P, DE MUNCK J, VAN LANDUYT K, LAMBRECHTS P, VAN MEERBEEK B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: a systematic review of current clinical trials. *Dent Mater* 2005; **21**: 864-881. Review.
18. TAKAHASHI A, INOUE S, KAWAMOTO C, OMINATO R, TANAKA T, SATO Y, PEREIRA PN, SANO H. In vivo long-term durability of the bond to dentin using two adhesive systems. *J Adhes Dent* 2002; **4**: 151-159.
19. HASHIMOTO M, OHNO H, KAGA M, ENDO K, SANO H, OGUCHI H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res* 2000; **79**: 1385-1391.
20. PASHLEY DH, TAY FR, YIU C, HASHIMOTO M, BRESCHI L, CARVALHO RM, ITO S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res* 2004; **83**: 216-221.
21. CARRILHO MR, CARVALHO RM, TAY FR, YIU C, PASHLEY DH. Durability of resin-dentin bonds related to water and oil storage. *Am J Dent* 2005; **18**: 315-319.
22. GUO X, SPENCER P, WANG Y, YE Q, YAO X, WILLIAMS K. Effects of a solubility enhancer on penetration of hydrophobic component in model adhesives into wet demineralized dentin. *Dent Mater* 2007; **23**: 1473-1481.
23. BLACKWELL GB. inventor. US patent 6,387,982 B1 assignee. *Self etching adhesive primer composition and polymerizable surfactant*; 2002.
24. VENZ S, DICKENS B. Modified surface-active monomers for adhesive bonding to dentin. *J Dent Res* 1993; **72**: 582-586.

25. ZANCHI CH, MÜNCOW EA, OGLIARI FA, CHERSONI S, PRATI C, DEMARCO FF, PIVA E. Development of experimental hema-free three-step adhesive system. *J Dent* 2010; **In press**. Doi:10.1016/j.jdent.2010.03.006
26. GERZINA TM, HUME WR. Effect of hydrostatic pressure on the diffusion of monomers through dentin in vitro. *J Dent Res* 1995; **74**: 369-373.
27. LIMA GS, OGLIARI FA, DA SILVA EO, ELY C, DEMARCO FF, CARRENO NL, PETZHOLD CL, PIVA E. Influence of water concentration in an experimental self-etching primer on the bond strength to dentin. *J Adhes Dent* 2008; **10**: 167-172.
28. MYERS D. *Surfactant science and technology*. Hoboken: Willey Interscience; 2006.
29. YU Q, NAUMAN S, SANTERRE JP, ZHU S. Photopolymerization behavior of di(meth)acrylate oligomers. *J Mater Sci* 2001; **36**: 3599–3605.
30. OGLIARI FA, ELY C, ZANCHI CH, FORTES CB, SAMUEL SM, DEMARCO FF, PETZHOLD CL, PIVA E. Influence of chain extender length of aromatic dimethacrylates on polymer network development. *Dent Mater* 2008; **24**: 165-171.
31. ANSETH KS, KLINE LM, WALKER TA, ANDERSON KJ, BOWMAN CN. Reaction kinetics and volume relaxation during polymerizations of multiethylene glycol dimethacrylates. *Macromolecules* 1995; **28**: 2491–2499.
32. ZANCHI CH, D'ÁVILA OP, RODRIGUES-JUNIOR SA, BURNETT JR LH, DEMARCO FF, PINTO MB. Effect of additional acid etching on bond strength and structural reliability of adhesive systems applied to caries-affected dentin. *J Adhes Dent* 2010. **In press**. Doi 10.3290/j.jad.a17529
33. HASHIMOTO M. A review--micromorphological evidence of degradation in resin-dentin bonds and potential preventional solutions. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2010; **92**: 268-280.
34. SANO H, YOSHIKAWA T, PEREIRA PN, KANEMURA N, MORIGAMI M, TAGAMI J, PASHLEY DH. Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. *J Dent Res* 1999; **78**: 906-911.
35. VENZ S, DICKENS B. NIR-spectroscopic investigation of water sorption characteristics of dental resins and composites. *J Biomed Mater Res* 1991; **25**: 1231-1248.

36. ARIMA T, MURATA H, HAMADA T. The effects of cross-linking agents on the water sorption and solubility characteristics of denture base resin. *J Oral Rehabil* 1996; **23**: 476-480.
37. FERRACANE JL, BERGE HX, CONDON JR. In vitro aging of dental composites in water-effect of degree of conversion, filler volume, and filler/matrix coupling. *J Biomed Mater Res* 1998; **42**: 465-472.
38. KOSHIRO K, INOUE S, TANAKA T, KOASE K, FUJITA M, HASHIMOTO M, SANO H. In vivo degradation of resin-dentin bonds produced by a self-etch vs. a total-etch adhesive system. *Eur J Oral Sci* 2004; **112**:368-375.

Table 1. Description of surfactants used in this study

Surfactant	Molecular weight (g/mol)*	Molecular formula	Molecular Structure
Poly-ethyleneglicol (400) dimethacrylate (PEG 400)	550-594	$C_{26-28} H_{46-50} O_{12-13}$	
Poly-ethyleneglicol (1000) dimethacrylate (PEG 1000)	1124-1168	$C_{52-54} H_{98-102} O_{25-26}$	
Ethoxilate bisphenol A diglycidyl dimethacrylate (Bis-EMA 10)	805	$C_{43} H_{64} O_{14}$	
Ethoxilate bisphenol A diglycidyl dimethacrylate (Bis-EMA 30)	1686	$C_{83} H_{144} O_{34}$	
Poly-ethyleneglicol (400) extended urethane dimethacrylate (PEG 400 UDMA)	1139	$C_{54} H_{98} N_4 O_{21}$	
2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA)	130	$C_6 H_{10} O_3$	

*Data supplied by Esstech, Inc.

Table 2. Composition of the experimental self-etching primers

<i>Primers (Groups)</i>	<i>Surfactant Monomer</i>	Composition (% wt)			
		Surfactant	Ethanol	Water	GDMA-P
P400	PEG 400	30	20	20	30
P1000	PEG 1000	30	20	20	30
B10	Bis-EMA 10	30	20	20	30
B30	Bis-EMA 30	30	20	20	30
UP400	PEG 400 UDMA	30	20	20	30
AH*	HEMA	30	20	20	30

PEG 400, poly-ethyleneglycol (400) dimethacrylate; PEG 1000, poly-ethyleneglycol (1000) dimethacrylate; Bis-EMA 10, ethoxylated bisphenol A diglycidyl ether dimethacrylate with 10 ethylene oxide units; Bis-EMA 30, ethoxylated bisphenol A diglycidyl ether dimethacrylate with 30 ethylene oxide units; PEG 400 UDMA, poly-ethyleneglycol (400) extended urethane dimethacrylate; HEMA, 2-hydroxyethyl methacrylate; GDMA-P, is an equimolar mixture of glycerol dimethacrylate dihydrogen phosphate and glycerol tetramethacrylate hydrogen phosphate.

* Control group

Table 3. Composition of the experimental resin bonds

<i>Resin Bond (Groups)</i>	<i>Surfactant Monomer</i>	Composition (% wt)				
		Surfactant	Bis-GMA	TEGDMA	CQ	EDAB
P400	PEG 400	25	49	24.8	0.4	0.8
P1000	PEG 1000	25	49	24.8	0.4	0.8
B10	Bis-EMA 10	25	49	24.8	0.4	0.8
B30	Bis-EMA 30	25	49	24.8	0.4	0.8
UP400	PEG 400 UDMA	25	49	24.8	0.4	0.8
AH*	HEMA	25	49	24.8	0.4	0.8

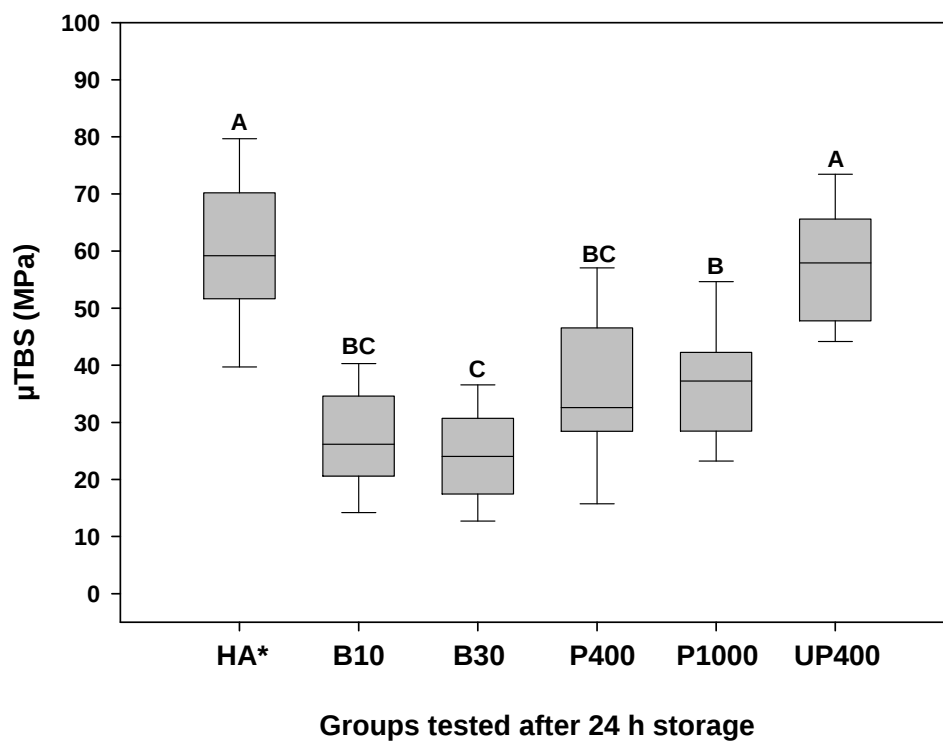
PEG 400, poly-ethyleneglycol (400) dimethacrylate; PEG 1000, poly-ethyleneglycol (1000) dimethacrylate; Bis-EMA 10, ethoxylated bisphenol A diglycidyl ether dimethacrylate with 10 ethylene oxide units; Bis-EMA 30, ethoxylated bisphenol A diglycidyl ether dimethacrylate with 30 ethylene oxide units; PEG 400 UDMA, poly-ethyleneglycol (400) extended urethane dimethacrylate; HEMA, 2-hydroxyethyl methacrylate; Bis-GMA, 2,2-bis[4-(2-hydroxy-3-methacryloyloxypropyl)phenyl]-propane; TEGDMA, triethyleneglycol dimethacrylate; CQ, camphorquinone; EDAB, ethyl 4-dimethylaminebenzoate.

* Control group

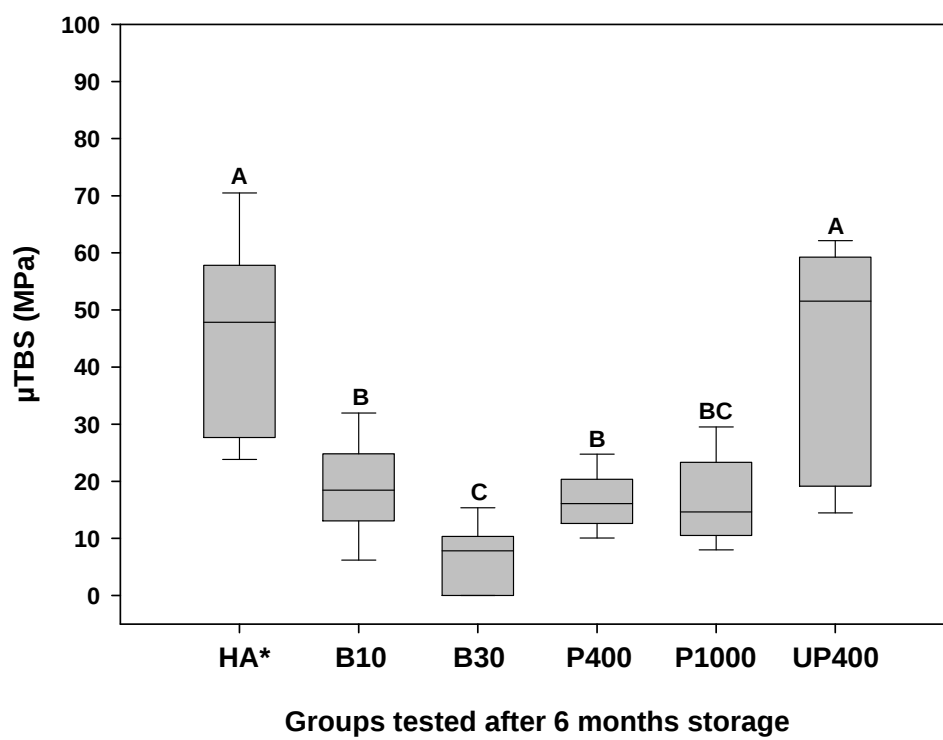
Table 4. Median values for microtensile bond strength in MPa, number of specimens tested (n), failure distribution (in percentage) and premature failures (p.f.) according to groups and storage time.

Groups tested according to storage times		Median (MPa)	n	p.f.	Failure distribution (%)			
					AD	CD	CR	MI
24 hours								
	HA*	57.2 ^A	25	-	8	20	44	28
	B10	26.2 ^A	28	-	93	-	-	7
	B30	24.0 ^A	24	-	92	-	-	8
	P400	32.6 ^A	22	-	82	-	-	18
	P1000	37.3 ^A	21	-	80	-	10	10
	UP400	57.9 ^A	29	-	41	7	11	41
6 months								
	HA*	47.9 ^B	25	-	50	-	15	35
	B10	18.5 ^B	23	-	64	-	10	26
	B30	7.8 ^B	15	7	100	-	-	-
	P400	16.1 ^B	26	-	77	8	2	13
	P1000	14.6 ^B	22	-	69	-	5	26
	UP400	51.6 ^B	24	-	55	13	12	20
12 months								
	HA*	31.2 ^B	25	-	50	-	15	35
	B10	15.2 ^B	23	2	77	-	-	23
	B30	9.0 ^B	14	9	100	-	-	-
	P400	9.1 ^B	20	3	70	5	-	20
	P1000	13.3 ^B	16	8	67	6	-	27
	UP400	35.7 ^B	23	1	48	17	4	31

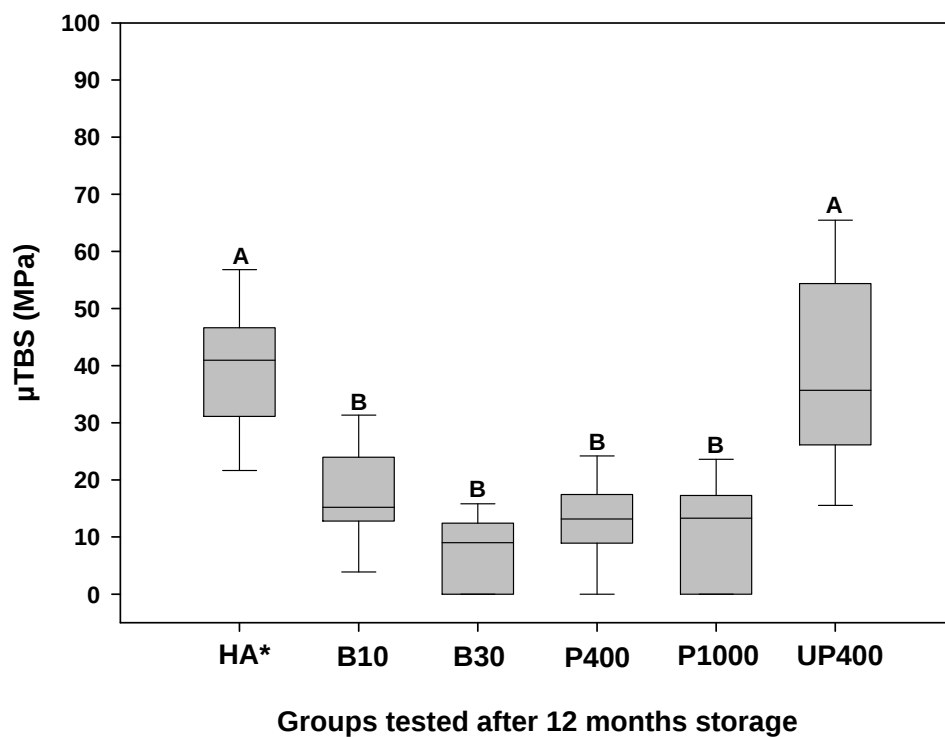
A)



B)



C)



* Different superscript capital letters represent differences statistically significant between median values at different storage period. ** Failure distribution observed at 100X and 500X magnifications. CD: cohesive in dentin; MI: mixed; AD: adhesive interface; CR: cohesive in the adhesive resin.

CONCLUSÕES

Dentro das limitações deste estudo, pode-se concluir que os dimetacrilatos surfactantes testados são uma alternativa promissora no desenvolvimento de sistemas adesivos livres de HEMA. Particularmente, o sistema adesivo experimental PEG 400 UDMA apresentou resistência de união imediata e após envelhecimento similar ao grupo controle contendo HEMA. Todos os sistemas produziram semelhante micro-morfologia da interface de união, com típica formação de substrato híbrido e prolongamentos resinosos.

REFERÊNCIAS

- ADENARO, M.; ANTONIOLLI, F.; SAURO, S.; TAY, F. R.; DI LENARDA, R.; PRATI, C.; BIASOTTO, M.; CONTARDO, L.; BRESCHI, L. Degree of conversion and permeability of dental adhesives. **Eur J Oral Sci**, v.113, n.6, p.525-30, 2005.
- ANDREASSON, H.; BOMAN, A.; JOHNSON, S.; KARLSSON, S.; BARREGÅRD, L. On permeability of methyl methacrylate, 2-hydroxyethyl methacrylate and triethyleneglycol dimethacrylate through protective gloves in dentistry. **Eur J Oral Sci**, v.111. p.529-35, 2003
- ANSETH, K.S.; KLINE, L.M.; WALKER, T.A.; ANDERSON, K.J.; BOWMAN, C.N. Reaction kinetics and volume relaxation during polymerizations of multiethylene glycol dimethacrylates. **Macromolecules**, v.28, p.2491–99, 1995.
- ARIMA, T.; MURATA, H.; HAMADA, T. The effects of cross-linking agents on the water sorption and solubility characteristics of denture base resin. **J Oral Rehabil**, v.23, p.476-80, 1996.
- ASMUSSEN, E.; PEUTZFELDT, A. Influence of selected components on crosslink density in polymer structures. **Eur J Oral Sci**, v.109, p. 282-85, 2001.
- ASMUSSEN, E.; PEUTZFELDT, A. Influence of UEDMA BisGMA and TEGDMA on selected mechanical properties of experimental resin composites. **Dent Mater**, v.14, p.51-56, 1998.
- BLACKWELL, G. B. inventor. US patent 6,387,982 B1 assignee. Self etching adhesive primer composition and polymerizable surfactant; 2002.
- BURROW, M. F.; INOKOSHI, S.; TAGAMI, J. Water sorption of several bonding resins. **Am J Dent**, v.12, p.295-98, 1999.
- CARRILHO, M.R.; CARVALHO, R.M.; TAY, F.R.; YIU, C.; PASHLEY, D.H. Durability of resin-dentin bonds related to water and oil storage. **Am J Dent**, v.18, p.315-319, 2005.
- CHANG, J. C. Amalgam repair with a 4-META resin. **J Prosthet Dent**, v.92, p.506-07, 2004.
- CHO, B. H.; DICKENS, S. H. Effects of the acetone content of single solution dentin bonding agents on the adhesive layer thickness and the microtensile bond strength. **Dent Mater**, v.20, p.107-15, 2004.
- COESSENS, V; PINTAUER, T; MATYJASZEWSKI, K. Functional polymers by atom transfer radical polymerization. **Prog Polym Sci**, v.26, p.337-77, 2001.
- COSTA, C. A.; GIRO, E. M.; DO NASCIMENTO, A. B.; TEIXEIRA, H. M.; HEBLING, J. Short-term evaluation of the pulpo-dentin complex response to a resin-modified glass-ionomer cement and a bonding agent applied in deep cavities. **Dent Mater**, v.19, p.739-46, 2003.
- DA ROSA RODOLPHO, P. A.; CENCI, M. S.; DONASSOLLO, T. A.; LOGUÉRCIO, A. D.; DEMARCO, F. F. A clinical evaluation of posterior composite restorations: 17-year findings. **J Dent**, v.34, p.427-35, 2006.

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**, v.84, p.118-32, 2005.

DE SOUZA COSTA, C. A.; DO NASCIMENTO, A. B.; TEIXEIRA, H. M. Response of human pulps following acid conditioning and application of a bonding agent in deep cavities. **Dent Mater**, v.18, p.543-51, 2002.

DICKENS, S.H.; CHO, B.H. Interpretation of bond failure through conversion and residual solvent measurements and Weibull analyses of flexural and microtensile bond strengths of bonding agents. **Dent Mater**, v.21, p.354-64, 2005.

DOI, J.; ITOTA, T.; TORII, Y.; NAKABO, S.; YOSHIYAMA, M. Effect of 2-hydroxyethyl methacrylate pre-treatment on micro-tensile bond strength of resin composite to demineralized dentin. **J Oral Rehabil**, v.31, p.1061-67, 2004.

FALCONI, M.; TETI, G.; ZAGO, M.; PELOTTI, S.; BRESCHI, L.; MAZZOTTI, G. Effects of HEMA on type I collagen protein in human gingival fibroblasts. **Cell Biol Toxicol**, v.2, p.313-22, 2007.

FERRACANE, J. L. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. **Dent Mater**, v.22, p.211-22, Review, 2006.

FERRACANE, J.L.; BERGE, H.X.; CONDON, J.R. In vitro aging of dental composites in water-effect of degree of conversion, filler volume, and filler/matrix coupling. **J Biomed Mater Res**, v.42, p.465-72, 1998.

FERRACANE, J. L. Elution of leachable components from composites. **J Oral Rehabil**, v.21, p.441-52. Review, 1994.

FONTES, S. T.; LIMA, G. S.; OGLIARI, F. A.; PIVA, E.; BUENO, M.; ALMEIDA, L. H. S. Uso do tetrahidrofurano como solvente na composição do primer de adesivos odontológicos. **Braz Oral Res**, v.22, p.238. Resumo. 2008.

FOXTON, R.M.; MELO, L.; STONE, D.G.; PILECKI, P.; SHERRIFF, M.; WATSON, T.F.; Long-term durability of one-step adhesive-composite systems to enamel and dentin. **Oper Dent**, v.3: p.651-57, 2008.

FUKEGAWA, D.; HAYAKAWA, S.; YOSHIDA, Y.; SUZUKI, K.; OSAKA, A.; VAN MEERBEEK, B. Chemical interaction of phosphoric acid ester with hydroxyapatite. **J Dent Res**, v.85, p.941-44, 2006.

GAENGLER, P.; HOYER, I.; MONTAG, R.; GAEBLER, P. Micromorphological evaluation of posterior composite restorations - a 10-year report. **J Oral Rehabil**, v.31, p.991-00, 2004.

GARCIA, F. C. P.; OTSUKI, M.; PASHLEY, D. H.; TAY, F. R.; CARVALHO, R. M. Effects of solvents on the early stage stiffening rate of demineralized dentin matrix. **J Dent**, v.33, p.371-77, 2005.

GERZINA, T. M.; HUME, W. R. Effect of hydrostatic pressure on the diffusion of monomers through dentin in vitro. **J Dent Res**, v.74, p.369-73, 1995.

GOLDBERG, M. In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin components: a review. **Clin Oral Investig**, v.12, p.1-8, Review, 2008.

GOOSSENS, A. Contact allergic reactions on the eyes and eyelids. **Bull Soc Belge Ophtalmol**, v.292, p.11-17, 2004.

GUO, X.; SPENCER, P.; WANG, Y.; YE, Q.; YAO, X.; WILLIAMS, K. Effects of a solubility enhancer on penetration of hydrophobic component in model adhesives into wet demineralized dentin. **Dent Mater**, v.23, p.1473-81, 2007.

GWINNETT, A. J.; TAY, F. Early and intermediate time response of the dental pulp to an acid etch technique in vivo. **Am J Dent**, v.11 Spec No:S35-44, 1998.

HAMID, A.; HUME, W.; R. Diffusion of resin monomers through human carious dentin in vitro. **Endod Dent Traumatol**, v.13, p.1-5, 1997.

HASEGAWA, T.; MANABE, A.; ITOH, K.; WAKUMOTO, S. Investigation of self-etching dentin primers. **Dent Mater**, v.5, p.408-10, 1989.

HASHIMOTO, M.; OHNO, H.; KAGA, M.; ENDO, K.; SANO, H.; OGUCHI, H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. **J Dent Res**, v.79, p.1385-91, 2000.

HASHIMOTO, M. A review--micromorphological evidence of degradation in resin-dentin bonds and potential preventional solutions. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v.92, p.268-80, 2010.

HAYAKAWA, T.; KIKUTAKE, K.; NEMOTO, K. Influence of self-etching primer treatment on the adhesion of resin composite to polished dentin and enamel. **Dent Mater**, v.14, p.99-05, 1998.

HEBLING, J.; GIRO, E. M.; COSTA, C. A. Human pulp response after an adhesive system application in deep cavities. **J Dent**, v.27, p.557-64, 1999.

HITMI, L.; BOUTER, D.; DEGRANGE, M. Influence of drying and HEMA treatment on dentin wettability. **Dent Mater**, v.2, p.503-11, 2002.

HOLMES, B. N. inventor. US Patent 6,030,606, assignee. Dental restoratives comprising Bis-EMA6; 1998.

IMAZATO, S.; RUSSELL, R. R.; MCCABE, J. F. Antibacterial activity of MDPB polymer incorporated in dental resin. **J Dent**, v.23, p.177-81, 1995.

INTERNATIONAL STANDARD. **ISO 4049**: 2000 (E). Dentistry – Polymer-based filling restorative and luting materials. Third Edition 2000-07-15.

INTERNATIONAL STANDARD. **ISO TS11403**: 2003 (E). Dental materials — Testing of adhesion to tooth structure. Second Edition 2003-01-01.

JACOBSEN, T.; SÖDERHOLM, K. J. Some effects of water on dentin bonding. **Dent Mater**, v.11, p.132-36, 1995.

KOSHIRO, K.; INOUE, S.; TANAKA, T.; KOASE, K.; FUJITA, M.; HASHIMOTO, M.; SANO, H. In vivo degradation of resin-dentin bonds produced by a self-etch vs. a total-etch adhesive system. **Eur J Oral Sci**, v.112, p.368-75, 2004.

LIMA, G. DA S.; OGLIARI, F. A.; DA SILVA, E. O.; ELY, C.; DEMARCO, F. F.; CARREÑO, N. L.; PETZHOLD, C. L.; PIVA, E. Influence of water concentration in an experimental self-etching primer on the bond strength to dentin. **J Adhes Dent**, v.10, p.167-72, 2008.

LONNROTH, E.C.; WELLENDORF, H.; RUYTER, E. Permeability of different types of medical protective gloves to acrylic monomers. **Eur J Oral Sci**, v.111, p.440–6, 2003.

MANSO, A.P.; MARQUEZINI, L.; SILVA, S. M. A.; PASHLEY, D. H.; TAY, F. R.; CARVALHO, R. M. Stability of wet versus dry bonding with different solvent-based adhesives. **Dent Mater**, v.24, p.476-82, 2008.

MANTELLINI, M. G.; BOTERO, T.; YAMAN, P.; DENNISON, J. B.; HANKS, C. T.; NÖR, J. E. Adhesive resin and the hydrophilic monomer HEMA induce VEGF expression on dental pulp cells and macrophages. **Dent Mater**, v.22, p.434-40, 2006.

MURRAY, P. E.; WINDSOR, L. J.; HAFEZ, A. A.; STEVENSON, R. G.; COX, C. F. Comparison of pulp responses to resin composites. **Oper Dent**, v.28, p.242-50, 2003.

MYERS, D. **Surfactant science and technology**. Hoboken: Willey Interscience; 2006.

NAKABAYASHI, N.; PASHLEY, D. H. **Hibridization of Dental Hard Tissues**. 1.ed. São Paulo: Quintessence, 2000. 129p.

NAKABAYASHI, N.; SAIMI, Y. Bonding to intact dentin. **J Dent Res**, v.75, p.1706-15, 1996.

NAKABAYASHI, N.; TAKARADA, K. Effect of HEMA on bonding to dentin. **Dent Mater**, v.2, p.125–30, 1992.

NAKAOKI, Y.; NIKAIDO, T.; PEREIRA, P. N.; INOKOSHI, S.; TAGAMI, J. Dimensional changes of demineralized dentin treated with HEMA primers. **Dent Mater**, v.16, p.441-46, 2000.

ODIAN G. **Principles of polymerization**. New York: Willey Interscience; 2004

OGLIARI, F. A.; ELY, C.; ZANCHI, C. H.; FORTES, C. B.; SAMUEL, S. M.; DEMARCO, F. F.; PETZHOLD, C. L.; PIVA, E. Influence of chain extender length of aromatic dimethacrylates on polymer network development. **Dent Mater**, v.24, p.165-71, 2008.

OHNO, H.; ENDO, K.; HASHIMOTO, M. New mechanical retention method for resin and gold alloy bonding. **Dent Mater**, v.20, p.330-37, 2004.

OPDAM, N. J.; LOOMANS, B. A.; ROETERS, F. J.; BRONKHORST, E. M. Five-year clinical performance of posterior resin composite restorations placed by dental students. **J Dent**, v.32, p.379-83, 2004.

ORTENGREN, U.; WELLENDORF, H.; KARLSSON, S.; RUYTER, I. E. Water sorption and solubility of dental composites and identification of monomers released in an aqueous environment. **J Oral Rehabil**, v.28, p.1106-15, 2001.

OSORIO, R.; PISANI-PROENCA, J.; ERHARDT, M. C.; OSORIO, E.; AGUILERA, F. S.; TAY, F. R.; TOLEDANO, M. Resistance of ten contemporary adhesives to resin-dentine bond degradation. **J Dent**, v.36, p.163-69, 2008.

PAMEIJER, C. H.; STANLEY, H. R. The disastrous effects of the "total etch" technique in vital pulp capping in primates. **Am J Dent**, Spec No:S45-54, p.148, 1998.

PARANJPE, A.; BORDADOR, L.C.; WANG, M.Y.; HUME, W.R.; JEWETT, A. Resin monomer 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) is a potent inducer of apoptotic cell death in human and mouse cells. **J Dent Res**, v.84, p.172-77, 2005.

PASHLEY, D.H.; TAY, F.R.; YIU, C.; HASHIMOTO, M.; BRESCHI, L.; CARVALHO, R.M.; ITO, S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. **J Dent Res**, v.83, p.216-221, 2004

PASHLEY, E. L.; ZHANG, Y.; LOCKWOOD, P. E.; RUEGGERBERG, F. A.; PASHLEY, D. H. Effects of HEMA on water evaporation from water-HEMA mixtures. **Dent Mater**, v.14, p.6-10, 1998.

PASHLEY, D. H.; LIVINGSTON, M. J.; REEDER, O. W.; HORNER, J. Effects of the degree of tubule occlusion on the permeability of human dentine in vitro. **Arch Oral Biol**, v.23, p.1127-33, 1978.

PEUMANS, M.; KANUMILLI, P.; DE MUNCK, J.; VAN LANDUYT, K.; LAMBRECHTS, P.; VAN MEERBEEK, B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: a systematic review of current clinical trials. **Dent Mater**, v.21, p.864-881. 2005. Review.

QIAN, X. inventor; US Patent 6,837,712 B2, assignee. Dental restorative compositions; 2005.

RATHKE, A.; ALT, A.; GAMBIN, N.; HALLER, B. Dentin diffusion of HEMA released from etch-and-rinse and self-etch bonding systems. **Eur J Oral Sci**, v.115, p.510-16, 2007.

REIS, A.; ALBUQUERQUE, M.; PEGORARO, M.; MATTEI, G.; BAUER, J. R.; GRANDE, R. H.; KLEIN-JUNIOR, C. A.; BAUMHARDT-NETO, R.; LOGUERCIO, A. D. Can the durability of one-step self-etch adhesives be improved by double application or by an extra layer of hydrophobic resin? **J Dent**, v.36, p.309-15, 2008.

SALZ, U.; ZIMMERMANN, J.; ZEUNER, F.; MOSZNER, N. Hydrolytic stability of self-etching adhesive systems. **J Adhes Dent**, v.7, p.107-16, 2005.

SANDBERG, E.; BERGENHOLTZ, G.; EKLUND, C.; DAHLGREN, U.I. HEMA bound to self-protein promotes auto-antibody production in mice. **J Dent Res**, v.81, p.633-36, 2002.

SANO, H.; YOSHIKAWA, T.; PEREIRA, P.N.; KANEMURA, N.; MORIGAMI, M.; TAGAMI, J.; PASHLEY, D.H. Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. **J Dent Res**, v.78, p.906-11, 1999.

SCHMALZ, G. Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials. **Clin Oral Investig**, v.1, p.154-62. Review, 1997.

SCHWEIKL, H.; HILLER, K. A.; ECKHARDT, A.; BOLAY, C.; SPAGNUOLO, G.; STEMPEL, T.; SCHMALZ, G. Differential gene expression involved in oxidative stress response caused by triethylene glycol dimethacrylate. **Biomaterials**, v.29, p.1377-87, 2008.

SCHWEIKL, H.; SPAGNUOLO, G.; SCHMALZ, G. Genetic and cellular toxicology of dental resin monomers. **J Dent Res**, v.85, p.870-77. Review, 2006.

SCRANTON, A. B.; BOWMAN, C. N.; KLIER, J.; PEPPAS, N. A. Polymerization reaction dynamics of ethylene-glycol methacrylates and dimethacrylates by calorimetry. **Polymer**, v.33, p.1683-89, 1992.

SIDERIDOU, I.; TSERKI, V.; PAPANASTASIOU, G. Study of water sorption, solubility and modulus of elasticity of light-cured dimethacrylate-based dental resins. **Biomaterials**, v.24, p.655-65, 2003.

SPAGNUOLO, G.; D'ANTÒ, V.; VALLETTA, R.; STRISCIUGLIO, C.; SCHMALZ, G.; SCHWEIKL, H.; RENGO, S. Effect of 2-hydroxyethyl methacrylate on human pulp cell survival pathways ERK and AKT. **J Endod**, v.34, p.684-88, 2008.

TAKAHASHI A, INOUE S, KAWAMOTO C, OMINATO R, TANAKA T, SATO Y, PEREIRA PN, SANO H. In vivo long-term durability of the bond to dentin using two adhesive systems. **J Adhes Dent**, v.4, p.151-59, 2002.

TEIXEIRA, H. M.; DO NASCIMENTO, A. B.; HEBLING, J.; DE SOUZA COSTA, C. A. In vivo evaluation of the biocompatibility of three current bonding agents. **J Oral Rehabil**, v.33, p.542-50, 2006.

TOLEDANO, M.; OSORIO, R.; OSORIO, E.; AGUILERA, F. S.; YMAUTI, M.; PASHLEY, D. H.; TAY, F. Durability of resin-dentin bonds: effects of direct/indirect exposure and storage media. **Dent Mater**, v.23, p.885-92, 2007.

TORKABADI, S.; NAKAJIMA, M.; IKEDA, M.; FOXTON, R. M.; TAGAMI, J. Bonding durability of HEMA-free and HEMA-containing one-step adhesives to dentine surrounded by bonded enamel. **J Dent**, v.36, p.80-86, 2008.

VAN DIJKEN, J.W. Durability of three simplified adhesive systems in Class V non-carious cervical dentin lesions. **Am J Dent**, v.17, p.27-32, 2004

VAN LANDUYT, K.L.; YOSHIDA, Y.; HIRATA, I.; SNAUWAERT, J.; DE MUNCK, J.; OKAZAKI, M.; SUZUKI, K.; LAMBRECHTS, P.; VAN MEERBEEK, B. Influence of the chemical structure of functional monomers on their adhesive performance. **J Dent Res**, v.87: p.757-61, 2008.

VAN LANDUYT, K. L.; SNAUWAERT, J.; DE MUNCK, J.; PEUMANS, M.; YOSHIDA, Y.; POITEVIN, A.; COUTINHO, E.; SUZUKI, K.; LAMBRECHTS, P.; VAN MEERBEEK. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. **Biomaterials**, v.28, p.3757-85, 2007.

VENZ, S.; DICKENS, B. Modified surface-active monomers for adhesive bonding to dentin. **J Dent Res**, v.72, p.582-86, 1993.

VENZ, S.; DICKENS, B. NIR-spectroscopic investigation of water sorption characteristics of dental resins and composites. **J Biomed Mater Res**, v.25, p.1231-48, 1991.

YE, Q.; SPENCER, P.; WANG, Y.; MISRA, A. Relationship of solvent to the photopolymerization process, properties, and structure in model dentin adhesives. **J Biomed Mater Res A**, v.80, p.342-50, 2007.

YOSHIDA, Y.; NAGAKANE, K.; FUKUDA, R.; NAKAYAMA, Y.; OKAZAKI, M.; SHINTANI, H.; INOUE, S.; TAGAWA, Y.; SUZUKI, K.; DE MUNCK, J.; VAN MEERBEEK, B. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. **J Dent Res**, v.83, p.454-58, 2004.

YU, Q.; NAUMAN, S.; SANTERRE, J.P.; ZHU, S. Photopolymerization behavior of di(meth)acrylate oligomers. **J Mater Sci**, v.36, p.3599-05, 2001.

WALLENHAMMAR, L.M.; ORTENGREN, U.; ANDREASSON, H.; BARREGÅRD, L.; BJÖRKNER, B.; KARLSSON, S.; WRANGSJÖ, K.; MEDING, B. Contact allergy and hand eczema in Swedish dentists. **Contact Dermatitis**, v.43, p.192-99, 2000.

ZANCHI, C.H.; D'ÁVILA, O.P.; RODRIGUES-JUNIOR, S.A.; BURNETT JR, L.H.; DEMARCO, F.F.; PINTO, M.B. Effect of additional acid etching on bond strength and structural reliability of adhesive systems applied to caries-affected dentin. **J Adhes Dent**. In press. Doi 10.3290/j.jad.a17529. 2010.

ZANCHI, C.H.; MÜNCHOW, E.A.; OGLIARI, F.A.; CHERSONI, S.; PRATI, C.; DEMARCO, F.F.; PIVA, E. Development of experimental HEMA-free three-step adhesive system. **J Dent**; In press. Doi:10.1016/j.jdent.2010.03.006. 2010.

ZHANG, Y.; XU, J. Effect of immersion in various media on the sorption, solubility, elution of unreacted monomers, and flexural properties of two model dental composite compositions. **J Mater Sci Mater Med**, v.19, p.2477-83, 2008.

ANEXOS

Relatório de artigos produzidos no período de Pós-Graduação de 2005 a 2010.

Artigos publicados em Periódicos

1. ZANCHI C.H., MÜNCHOW E. A., OGLIARI F. A., CHERSONI S., PRATI C., DEMARCO F.F., PIVA E. Development of experimental HEMA-free three-step adhesive system. J Dent 2010; In press. Doi:10.1016/j.jdent.2010.03.006
2. ZANCHI C.H., D'ÁVILA O. P., RODRIGUES-JUNIOR S. A., BURNETT JR L. H., DEMARCO F. F., PINTO M. B. Effect of additional acid etching on bond strength and structural reliability of adhesive systems applied to caries-affected dentin. J Adhes Dent 2010. In press. Doi 10.3290/j.jad.a17529
3. AZEVEDO, E. C. ; OGLIARI, F. A. ; ZANCHI, C. H. ; PIVA, E. ; BUENO, M; DEMARCO, F. F. Influence of eugenol-containing temporary restorations on the microleakage of total-etch and self-etching adhesive systems. Revista Odonto Ciência, v. 23, p. 5-9, 2008.
4. ARAUJO, C. S. ; SCHEIN, M. T. ; ZANCHI, C. H. ; RODRIGUES JÚNIOR, S. A. ; DEMARCO, F. F. Composite resin microhardness: the influence of light curing method, composite shade, and depth of cure. Journal of Contemporary Dental Practice, v. 9, p. 43-50, 2008.
5. DEMARCO, F. F. ; ZANCHI, C. H. ; BUENO, M; PIVA, E. . Composite Veneering of Complex Amalgam Restorations. Operative Dentistry, v. 32, p. 94-98, 2007.
6. RODRIGUES JUNIOR, S. A. ; ZANCHI, C. H. ; CARVALHO, R. V. ; DEMARCO, F. F. Flexural strength and modulus of elasticity of different types of resin-based composites. Brazilian Oral Research, v. 21, p. 16-21, 2007.
7. ZANCHI, C. H. ; CARVALHO, R. V. ; RODRIGUES JUNIOR, S. A. ; DEMARCO, F. F. ; BURNETT JÚNIOR, L. H. . Shrinkage stress of three composites under different polymerization methods. Brazilian Oral Research, v. 20, p. 137-142, 2006.
8. RAMOS, O. L. V. ; ZANCHI, C. H. ; PIVA, E. ; DEMARCO, F. F. Microinfiltração em restaurações de resina de classe II usando diferentes técnicas restauradoras. Revista Odonto Ciência, v. 21, p. 278-283, 2006.
9. OGLIARI F. A., ELY C, ZANCHI C. H., FORTES C. B., SAMUEL S. M., DEMARCO F. F. Influence of chain extender length of aromatic dimethacrylates on polymer network development. Dent Mater 2008; 24: 165-71.

10. COLLARES F. M.; AULO OGLIARI F. A., ZANCHI C. H., PETZHOLD C. L., PIVA E., SAMUEL S. M. W. Influence of 2-Hydroxyethyl Methacrylate concentration on Polymer Network of Adhesive Resin. J Adhes Dent 2010. In press. v:12 n (5).
11. PIEPER C. M., ZANCHI C. H., RODRIGUES-JUNIOR S. A., MORAES R. R., PONTES L. S., BUENO M. Sealing ability, water sorption, solubility and toothbrushing abrasion resistance of temporary filling materials. Int Endod J. 2009 Oct;42(10):893-9. Epub 2009 Jun 22.
12. CONDE M. C., ZANCHI C. H., RODRIGUES-JUNIOR S. A., CARREÑO N. L., OGLIARI F. A., PIVA E. Nanofiller loading level: Influence on selected properties of an adhesive resin. J Dent. 2009 May;37(5):331-5. Epub 2009 Feb 8.

Artigos aceitos para publicação

1. BOCANGEL, J. S. ; OGLIARI, F. A. ; ZANCHI, C. H. ; PIVA, E. ; DEMARCO, F. F. Applicability of bovine and human tooth substrates in three laboratory tests. Indian Journal of Dental Research.
2. ZANCHI, C. H. ; LUND, R. G. ; PERRONE, L. R. ; RIBEIRO, G. A. ; DEL-PINO, F. A. B. ; BUENO, M.; DEMARCO, F. F. . Microtensile bond strength of two-step etch-and-rinse adhesive systems on sound and caries-affected dentin. American Journal of Dentistry, 2010.