

Uso da microscopia eletrônica de varredura para visualizar a camada híbrida, tags resinosos e nanoinfiltração

FERNANDO SOUZA SIMIONI¹
CELSON AFONSO KLEIN-JUNIOR²

RESUMO

O objetivo deste estudo foi observar a camada híbrida, formação de tags resinosos nos túbulos dentinários bem como nanoinfiltração na região desta camada. Foram utilizados dois dentes terceiros molares, extraídos, hígidos, os quais receberam o preparo para a técnica restauradora. Ambos dentes foram seccionados nos eixos X,Y, Z para obtenção de palitos. Para visualização da nanoinfiltração, os palitos foram imersos em nitrato de prata e para visualização da camada híbrida e tags receberam aplicação de ácido clorídrico e hipoclorito de sódio. Todos espécimes foram polidos com sequência de lixas abrasivas e banhos ultra sônicos. Os espécimes foram cobertos por vaporização de carbono e ouro para análise em microscopia eletrônica de varredura. A presença da camada híbrida, formação de tags resinosos e nanoinfiltração ocorreu em todos os CPS sendo possível de ser observada com clareza e nitidez, pela técnica de preparo e visualização descrita.

Palavras-chave: nanoinfiltração, camada híbrida, microscopia eletrônica, adesivos dentinários

ABSTRACT

The aim of this study was showed the hybrid layer, tags and nanoleakage by scanning electronic microscopy. Two healthy teeth (third molars) were utilized and them were restored. The teeth were sectioned in x, y, z axes, for stick obtained. Some sticks were immersed in silver nitrate to showed nanoleakage and others, received sodium

¹ Acadêmico do Curso de Odontologia/ULBRA - Cachoeira do Sul, Bolsista PROICT/ULBRA

² Professor-Orientador do Curso de Odontologia/ULBRA - Cachoeira do Sul (profcelsoklein@yahoo.com.br).

hypochlorite and hydrochloric acid to showed hybrid layer and tags. All sticks were polish with sandpaper sequence and cleaning ultrasonic. The sticks were covered by carbon/gold to view on scanning electronic microscopy. The presence of hybrid layer, tags and nanoleakage occur in all sticks, and all images were observed with sharpness and clarity.

Key words: nanoleakage, hybrid layer, scanning electronic microscopy, adhesives systems.

INTRODUÇÃO

Os sistemas adesivos são combinações de monômeros resinosos hidrofóbicos e hidrofílicos de diferentes pesos moleculares e solventes (VAN MEERBEEK et al., 2003; CARVALHO et al., 2004; REIS et al., 2005). O desenvolvimento destas soluções hidrofílicas permitiu maior compatibilidade com o substrato dentinário, que é inerentemente úmido; contudo estes materiais se tornaram mais suscetíveis à degradação ao longo do tempo (DEMUNCK et al., 2005; BAE et al., 2005) e reduziu também suas propriedades mecânicas (REIS; LOGUERCIO, 2007). Devido ao fato do polímero do sistema adesivo se formar na presença de água e solvente residual (JACOBSEN; SODERHÖLM, 1995, TAKAHASHI et al., 2002), pode-se esperar que haja subpolimerização da película adesiva, que aliado com as terminações hidrofílicas dos monômeros presentes nestes materiais, leva a uma maior sorção de água do meio bucal, afetando suas propriedades mecânicas imediatas e ao longo do tempo (CARRILHO et al., 2005, HASHIMOTO et al., 2010). Esta é a razão pela qual a interface de união é considerada o elo mais frágil dentro do processo restaurador (MELACARNE et al., 2006, HOLMES et al., 2007). A microscopia eletrônica de varredura (MEV) tem possibilitado a visualização da camada híbrida em toda sua extensão, conseguindo mostrar a inter-relação do polímero adesivo com o substrato dentinário.

Da mesma forma, o microscópio possibilita a visualização da extensão dos prolongamentos do sistema adesivo para o interior dos túbulos dentinários (*Tags* resinosos) (SAURO et al., 2009). A forma de preparo do espécime é fundamental para o objetivo a ser visualizado, ficando a imagem de microscopia dependente do tipo de preparo da amostra (VAN MEERBEEK et al., 2003). Há ainda a possibilidade de ser observada a nanoinfiltração (SANO et al., 1995), condição que ocorre entre a dentina e a camada delgada de adesivo, fator este importante para a longevidade da camada híbrida e da restauração (KLEIN-JUNIOR et al., 2008). Esta nanoinfiltração requer um preparo muito específico da amostra, utilizando um nanomarcador, bem como uma técnica de visualização utilizando o sistema *backscattering* para visualização da imagem (KLEIN-JUNIOR, 2011). Desta forma, o objetivo deste estudo foi observar a camada híbrida, formação de *tags* resinosos nos túbulos dentinários bem como nanoinfiltração na região desta camada.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção e seleção dos dentes

Foram utilizados 2 dentes para à execução desta pesquisa, doados por pacientes com necessidades ortodônticas. Os mesmos foram submetidos a uma limpeza com água e armazenados em glutaraldeído + tampão

fosfato 25%. O comitê de ética aprovou este projeto para utilização de dentes humanos, sob número 43H.

Preparo dos dentes

Os dentes foram incluídos em tubos de PVC cilíndricos de 25 de diâmetro por 20mm de altura, preenchidos por resina epóxi. Após tomada de presa da resina, os dentes tiveram suas face oclusal desgastadas utilizando-se um disco rotatório com lixa abrasiva em baixa rotação (80rpm), sob refrigeração de água corrente. Este desgaste foi executado até profundidade a qual toda a face oclusal encontrou-se em dentina, sem resquícios de esmalte. As faces mesial, distal, vestibular lingual foram desgastadas em alta rotação com ponta diamantada (3216) e refrigeração para remoção de todo o esmalte. Após este procedimento, sobre a face oclusal dos dentes, foi passada manualmente uma lixa de granulação 600 durante 20 segundos, sob refrigeração, com o intuito de tornar todas as superfícies iguais, sem resquícios de detritos grosseiros causados pelo disco.

Restauração dos dentes

Os dentes receberam aplicação do ácido fosfórico 37% (Magic acid, Vigodent), seguido de lavagem por 15 segundos e secagem estratégia com papel absorvente (Dentsply), mantendo a superfície levemente úmida e, a seguir, o sistema adesivo (Ambar, FGM) foi aplicado utilizando-se um aplicador descartável tipo pincel (Microbrusch) na superfície de dentina exposta. Após, um jato de ar foi aplicado superficialmente para remover o excesso de solvente. Em seguida, foi aplicada mais uma camada do adesivo, utilizando-se novo pincel, fotopolimerização (Ultraled, Dabi) por 10

segundos. Após a aplicação do sistema adesivo, a resina (Opallis A2, FGM) foi inserida em pequenos incrementos (2mm) e fotoativada por 20 segundos após cada incremento, até formar um platô de 4mm de altura.

Confecção dos espécimes

Os dentes foram seccionados (eixos x, y, z) em pequenos palitos de resina/dente, com secção retangular em torno de 1,0mm a 1,4mm e com 7mm de comprimento, em média. Cada dente restaurado produziu uma média aproveitável de 12 palitos.

Preparo dos espécimes para análise da camada híbrida, tags e nanoinfiltração

Análise da camada híbrida e tags: foi realizado o polimento dos palitos com a seqüência de lixas d'água 800, 1200, 1500, 2000 e 2400 em uma politriz. Os espécimes receberam na região da camada híbrida, uma banho de ácido clorídrico 5M e hipoclorito de sódio, com o intuito de remover minerais e restos orgânicos provindos do polimento. Os palitos foram submetidos à desidratação lenta com sílica gel, unidos ao *stub* com cera de microscopia e metalizados com cobertura de ouro na metalizadora. As imagens foram obtidas por elétrons secundários, em um microscópio eletrônico de varredura (JSM 6060 – CME, UFRGS).

Análise de nanoinfiltração: os palitos passaram por um protocolo de procedimentos para prepará-los para a visualização ao microscópio eletrônico de varredura (M.E.V). Foi aplicado uma camada de esmalte ou verniz nos palitos bem próximo a linha

de união. Os palitos foram separados em potes e submersos em nitrato de prata por 24 horas. Decorrida às 24 horas, foi realizada lavagem abundante em água corrente e submersos por mais 8 horas em solução reveladora. O processo de polimento seguiu-se igualmente ao preparo descrito para visualizar camada híbrida. Após Os palitos foram submetidos à desidratação lenta com sílica gel, unidos ao *stub* com cera de microscopia e metalizados com cobertura de carbono na metalizadora. Foram analisadas as áreas de união do dente-adesivo-dentina para análise da nanoinfiltração em um microscópio eletrônico de varredura (JSM 5800 – CME, UFRGS).

RESULTADOS

A formação da camada híbrida ocorreu em todos os espécimes analisados e é possível observar com nitidez a formação e inter-relação do polímero com a dentina (Figura 1), caracterizando esta camada composta por substratos totalmente diferentes. Da mesma forma, a formação de prolongamentos de adesivo (Figura 2) (*tags*) é perfeitamente observada pela técnica de preparo descrita na metodologia. Porém, não foi possível de observar estes prolongamentos em toda a extensão da camada híbrida, ocorrendo pequenas falhas em uma linha contínua de corte (comprimento do espécime). As imagens de nanoinfiltração foram elucidativas e apareceram na linha de união do sistema adesivo com a dentina, sendo que ocorreu a nanoinfiltração (Figura 3) em todos os casos. O nitrato de prata pode ser visto de cor esbranquiçada, demonstrando que a sua pre-

sença permite confirmar a presença de nanoespaços na união adesivo-dentina.

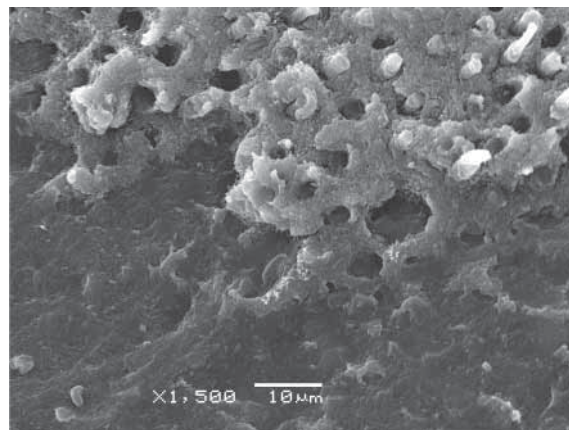


Figura 1. Imagem de microscopia eletrônica de varredura mostrando parte da camada híbrida. Observa-se a hibridização de dentina (túbulos e colágeno) com prolongamentos resinosos.

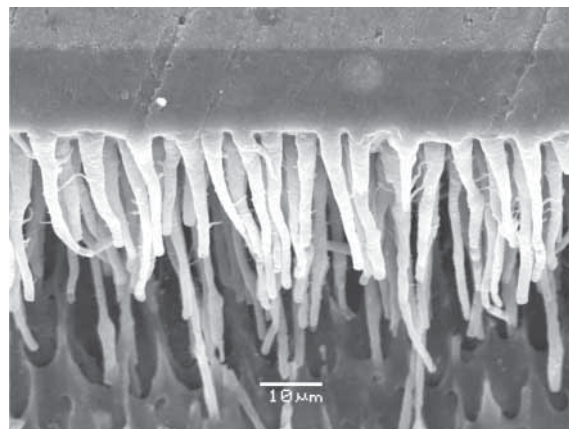


Figura 2. Imagem de microscopia eletrônica de varredura mostrando os prolongamentos resinosos do sistema adesivo (*tags* resinosos). A parte mineral da dentina foi removida para esta observação microscópica.

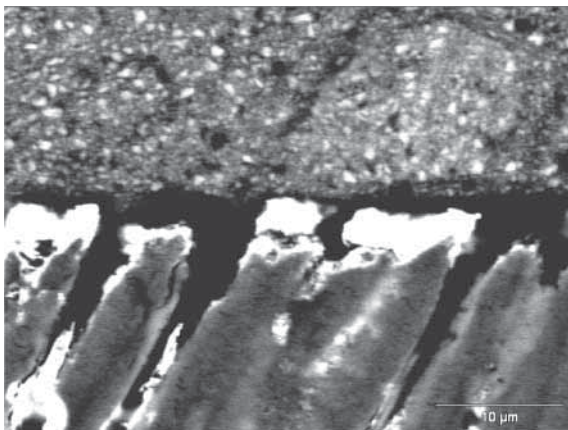


Figura 3. Imagem de microscopia eletrônica de varredura mostrando parte da nanoinfiltração. Observa-se o adesivo (em escuro) com presença de nitrato de prata (parte branca) demonstrando nanoinfiltração.

DISCUSSÃO

Nas imagens de formação dos tags, é possível de ser observado que há diferentes comprimentos de prolongamentos para o interior da dentina e cabe salientar que uma das possibilidades é apreensão de água no interior dos túbulos, a qual pode dificultar a penetração de monômeros, conforme relatado por Jacobsen e Soderhölml (1995) e Takahashi et al. (2002). Cabe ressaltar que em alguns casos a formação de tags não ocorreu, ficando uma área vazia ou mal aderida de camada híbrida, concordando com Melacarne et al. (2006), Holmes et al. (2007) de que a interface de união é o elo mais fraco de uma restauração. Relatado por Klein-Junior et al; (2008), a nanoinfiltração pode ser observada em qualidade e quantidade durante toda a extensão dos espécimes, e tal fato demonstra realmente que há presença de infiltrados na região onde une-se o adesivo com a dentina, sendo fundamental para a longevidade de uma restauração. Da mesma forma, a

qualidade da imagem de nanoinfiltração é dependente diretamente da qualidade do preparo do espécime, incluindo desde o preparo da técnica adesiva até a vaporização com carbono. O sistema de visualização de nanoinfiltração utilizado pelo MEV já foi descrito anteriormente por Sano et al. (1995), e Klein-Junior, (2011). Salienta-se novamente a qualidade que o nitrato de prata traz para a técnica de nanoinfiltração, sendo este um marcador de excelente qualidade e fácil de ser detectado pelo sistema *backscattering* do microscópio eletrônico de varredura.

CONCLUSÃO

A presença da camada híbrida, formação de tags resinosos e nanoinfiltração ocorreu em todos os CPS sendo possível de ser observada com clareza e nitidez, pela técnica de preparo e visualização descrita neste artigo

AGRADECIMENTOS

À PROICT/ULBRA pelo incentivo e apoio demonstrado durante o período de execução desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- BAE, J. H. et al. Adhesive layer properties as a determinant of dentin bond strength. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v. 74, p. 822-828, 2005.
- CARRILHO, M. R. O. et al. Mechanical stability of resin-dentin bond components. **Dent Mater**, v. 21, p. 232-241, 2005.

CARVALHO, R. M. et al. Sistemas adesivos: fundamentos para a compreensão de sua aplicação e desempenho clínico. **Biodonto**, v. 2, p. 1-85, 2004.

DE MUNCK, J. et al. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. **J Dent Res**, v. 84, p. 118-132, 2005.

HASHIMOTO, M. et al. Ten-years degradation of resin-dentin bonds. **Eur J Dent Sci**, v. 118, p. 404-410, 2010.

HOLMES, R. G. et al. Effect of solvent type and content on monomer conversion of a model resin system as a thin film. **Dent Mater**, v. 23, p. 1506-1512, 2007.

JACOBSEN, T.; SODERHOLD, K. J. Some effects of water on dentin bonding. **Dent Mater**, v. 11, p. 132-136, 1995.

KLEIN-JUNIOR, C. A. Nanoleakage phenomenon in human dentin. [S.l.]: Microscopy and analysis, 2011. Disponível em: <www.microscopy-analysis.com> Acesso em: 12 jun. 2011.

KLEIN-JÚNIOR, C. A. et al. Evaporating solvents with a warm air-stream: effects on adhesive layer properties and resin-dentin bond strengths. **J Dent.**, v. 36, p. 618-625, 2008.

MALACARNE, J. et al. Water sorption/solubility of dental adhesive systems. **Dent Mater**, v. 22, p. 973-980, 2006.

REIS, A. et al. Effect of smear layer thickness and acidity of self-etching solutions on early and long-term bond strength to dentin. **J Dent.**, v. 33, p. 549-559, 2005.

REIS, A.; LOGUERCIO, A. D. **Materiais dentários diretos: dos fundamentos à aplicação clínica**. São Paulo: Santos, 2007.

SANO, H. et al. Comparative SEM and TEM observations of nanoleakage within the hybrid layer. **Oper Dent.**, v. 20, p. 160-167, 1995.

SAURO, S. et al. Prevention of water contamination of ethanol-saturated dentin and hydrophobic hybrid layers. **J Adhes Dent.**, v. 11, p. 271-278, 2009.

TAKAHASHI, A. et al. Effects of mechanical properties of adhesive resins on bond strength to dentin. **Dent Mater**, v. 18, p. 263-268, 2002.

VAN MEERBEEK, B. et al. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. **Oper Dent**, v. 28, p. 215-235, 2003.