

ADESÃO DA RESINA EM DENTINA COM E SEM EXPOSIÇÃO À FUMAÇA DO CIGARRO: AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA, QUÍMICA E MECÂNICA.

Leandro Jorge Fernandes, Universidade Federal Fluminense, leandrojf@id.uff.br, 0000-0003-0533-3210. **Marcelo de Freitas Aguiar**, Universidade Federal Fluminense, mfaguiar@id.uff.br, 0000-0001-8300-0011. **Marcelo Henrique Prado**, Instituto Militar de Engenharia, marceloprado@ime.eb.br, 0000-0002-1182-5345. **Mariane Brandão da Silva Assis**, Instituto Militar de Engenharia, mariane.b.s.assis@gmail.com, 0000-0002-0902-4602. **Maria Isabel Bastos Valente**, UNIFASE, isabelvalente@unifase-rj.edu.br, 0000-0002-0911-4368

Leandro Jorge Fernandes (leandrojf@id.uff.br)

RESUMO

O presente estudo *in vitro* foi conduzido com o objetivo principal de avaliar a resistência de adesão de restaurações de resina composta em dentes expostos à fumaça de cigarro (FC), comparando os resultados com amostras não expostas (SF). Além disso, a pesquisa visou realizar a caracterização micromorfológica e a análise química da dentina nessas condições. Para tal, empregou-se uma combinação de técnicas analíticas, incluindo Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) e o teste de microtração (*non-trimming*). Foram utilizados vinte e quatro dentes molares extraídos, que foram inicialmente armazenados em solução de cloramina T a 0,5% e, posteriormente, divididos em dois grupos: Grupo 1, exposto à fumaça de cigarro (CF), e Grupo 2, sem exposição (SF). Todas as amostras foram submetidas à tomografia computadorizada (TC) para medições precisas, permitindo o recorte das coroas em uma cortadeira metalográfica, resultando em duas porções: oclusal e coronorradicular. As partes oclusais e coronorradiculares do grupo CF foram submetidas à exposição simultânea à fumaça de mil e vinte cigarros utilizando um Dispositivo Simulador de Fumar (DSF). O terço oclusal de ambos os grupos foi dividido mesiodistalmente para as análises caracterizadoras. A primeira metade foi destinada à análise química por FTIR, enquanto a segunda metade foi reservada para o exame da micromorfologia dentinária sob MEV. As partes coronorradiculares dos dois grupos foram preparadas para o teste de resistência adesiva (RU). Cilindros de resina composta micro-híbrida fotoativada foram confeccionados na superfície dentinária, utilizando dois sistemas adesivos: o Clearfil SE Bond 2 (autocondicionante) e o Clearfil Universal Bond Quick (universal). Os corpos de prova (n=4) foram então categorizados em quatro subgrupos: CFSE, CFU, SFSE e SFU. A resistência de união foi avaliada pelo teste de microtração. Os resultados do teste de microtração indicaram uma tendência a maior resistência de união nos dentes submetidos à fumaça, embora essa diferença não tenha atingido significância estatística. O padrão de fratura predominante em todos os grupos avaliados foi o adesivo. Na análise morfológica por MEV, não foram observadas alterações micromorfológicas na estrutura dentinária exposta à fumaça de cigarro. Contudo, detectou-se uma alteração topográfica que sugere a presença de contaminantes advindos da fumaça na superfície dentinária. A análise química por FTIR, apesar de não ser estatisticamente significativa, revelou uma tendência de aumento da absorvância dos picos vibracionais em todos os compostos do grupo CF, sugerindo a contaminação da dentina pela fumaça de cigarro. No entanto, essa contaminação não se mostrou suficiente para alterar negativamente a resistência de união à resina composta. Conclui-se que a adesão à superfície dentinária alterada pelas substâncias da fumaça de

cigarro é um tema que merece investigação mais aprofundada, tanto em ambiente laboratorial quanto clínico. Estudos adicionais são necessários para melhor compreender este substrato "contaminado" e sua interação com os materiais dentários, visando o aumento da longevidade das restaurações adesivas.

Palavras-chave: tabaco; adesão; resina composta

1 Introdução

As restaurações de resina composta representam uma ferramenta cada vez mais usual para se reconstruir o elemento dental, e pacientes tabagistas, assim como os não tabagistas, corriqueiramente necessitam realizar tais restaurações estéticas. Sabe-se que as substâncias presentes no cigarro são potencialmente tóxicas podendo causar diversos tipos de câncer (HAUSSMAN, 2012; TAKEUCHI et al., 2011). Porém as consequências da impregnação da fumaça do cigarro nas propriedades físico-químicas dos dentes, especificamente da dentina, associadas a restaurações de resina composta ainda não são totalmente conhecidas.

Atualmente, o elemento dental pode ser reconstruído de forma minimamente invasiva empregando-se tecnologia contemporânea adesiva (YOSHIDA e INOUE, 2012). As restaurações diretas de resina composta, após décadas de pesquisa e desenvolvimento de novos materiais, aumentaram a sua popularidade e são cada vez mais utilizadas (FUJIWARA et al., 2018). No cotidiano dos profissionais que praticam a odontologia restauradora, cada vez mais serão realizados procedimentos adesivos de uso direto e indireto, onde os sistemas adesivos representam a sua mais importante evolução (LOGUERCIO et al., 2018).

Os sistemas adesivos atuais permitem que se obtenha a adesão à estrutura dental sem necessidade de se confeccionar áreas retentivas, pois utilizam-se de sua força de união imediata (BRESCHI et al., 2018). A palavra adesão origina-se do latim *ad haerere* a qual significa “colar a”. As estruturas dentárias concatenam-se às restaurações de resina composta através de: força de adesão, adesivo e durabilidade. E ainda podemos significar adesão utilizando da especificação ASTM D 907 (American Society for Testing Materials) a qual a define como “o estado em que duas superfícies são mantidas unidas, por forças interfaciais, as quais podem consistir em forças covalentes, forças de interpenetração mecânica ou ambas” (PACKHAM, 1992). O maior desafio dos sistemas adesivos é proporcionar a mesma qualidade adesiva nos dois tecidos dentais que são de natureza diferente: esmalte e dentina, e essa ligação adesiva à dentina é muito mais complexa que ao esmalte (VAN MEERBEEK et al., 2011).

A crescente demanda por técnicas simples e produtos mais fáceis de usar levou a indústria a desenvolver uma nova classe de adesivos, os chamados adesivos universais (UA), os quais são versáteis e podem ser usados na forma de aplicação autocondicionante ou com condicionamento ácido prévio, e aplicados a vários materiais restauradores, diretos e indiretos (Nagarkar et al., 2019). Recentemente, um novo tipo de UA foi colocado no mercado, transmitindo a ideia de uma “adesão rápida”. O material é aplicado e em seguida o profissional pode proceder com a fotopolimerização, utilizando o conceito de “sem espera” (Van Meerbeek et al., 2019). Dentro deste conceito o adesivo Clearfil Universal Bond Quick (Kuraray Noritake, Tóquio, Japão) surge no mercado odontológico, o seu mecanismo de ação é baseado na utilização do novo monômero de acrilamida, no monômero funcional 10-MDP e na baixa concentração do monômero HEMA. Isto proporciona uma rápida penetração do adesivo, que pode ser fotopolimerizado imediatamente, sem tempo de espera, potencializando a ligação química do 10-MDP (Kuno et al., 2019).

A dentina possui características biológicas distintas, e essas particularidades a tornam um substrato que nos incentiva a buscar melhores técnicas adesivas, pois vários

fatores clínicos podem influenciar o sucesso ou fracasso de uma restauração adesiva (VAN MEERBEEK et al., 2011). Seguindo essa linha de raciocínio a contaminação do substrato dental pode representar um problema para a odontologia adesiva, e recentemente novos trabalhos apresentaram um possível novo contaminante, a fumaça do cigarro (ALMEIDA E SILVA et al, 2010; TAKEUCHI et al., 2011; THEOBALDO et al., 2016). Takeuchi et al. (2011) demonstraram através de análises no MEV que a dentina exposta a fumaça apresentou presença de substâncias químicas supostamente provenientes do tabaco, e sugeriram mais pesquisas que possam determinar os efeitos dessas substâncias na estrutura dentária. Outro estudo (THEOBALDO et al., 2016), o qual utilizou dentes bovinos e um simulador de fumaça de cigarro, relatou ter havido uma diminuição da resistência de união de restaurações de resina em dentina, utilizando sistemas adesivos diferentes. Almeida e Silva et al (2010), detectaram uma diminuição da força de união entre essa dentina exposta e a resina composta, além da visualização micromorfológica de contaminantes da fumaça nessa dentina.

A fumaça produzida durante o ato de fumar é resultante da queima do cigarro, esta combustão produz um aumento de temperatura em até 950°C (WHITE et al., 2001). Uma mistura complexa de inúmeros componentes constitui a fumaça do cigarro (HAUSSMANN, 2012). Essa mistura é proveniente não só originariamente do tabaco, mas também de sua queima, resultando em mais cinco mil compostos químicos. Dentre essas substâncias podem ser encontrados arsênio, chumbo, monóxido de carbono (TAKEUSHI et al., 2011), e também compostos orgânicos, tais como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos – HPAs (RODGMAN e PERFETTI, 2006).

Define-se como fumante regular o tabagista com consumo superior a 100 cigarros na vida e que continua fumando. Consumo inferior ao descrito caracteriza-se como fase de experimentação. A pessoa com consumo superior a 100 cigarros na vida e que interrompeu o uso é definida como ex-fumante (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2008).

Segundo a Pesquisa Nacional de Saúde, realizada em 2013, o uso de produtos de tabaco fumado é mais frequente do que o de produtos não fumados, sendo mais relevante na forma de cigarro industrializado. A prevalência de usuários de produtos derivados de tabaco, fumado ou não fumado, de uso diário ou ocasional, foi de 15,0% (21,9 milhões de pessoas). A prevalência de fumantes de cigarro foi de 14,5%, sendo a prevalência em homens 18,9% e em mulheres, 11,0%. O cigarro industrializado foi o produto do tabaco mais utilizado (MALTA et al., 2015).

A avaliação do comportamento mecânico de restaurações diretas de resina composta em dentina exposta clinicamente à fumaça de cigarro e a verificação da possível influência da mesma nas propriedades físicas e químicas desses substratos, poderão apresentar novos conceitos os quais engrandecerão os estudos nessa área.

2 Materiais e Métodos

Este é um estudo experimental, *in vitro* e multicêntrico, realizado na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal Fluminense, Instituto de Saúde de Nova Friburgo (FO-UFF/ISNF) e no Instituto Militar de Engenharia (IME). Para este trabalho, foram utilizados 24 dentes recém-extraídos de pacientes que procuraram atendimento de rotina na FO-UFF/ISNF e no Serviço Social do Transporte (SEST). Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal Fluminense – Instituto de Saúde de Nova Friburgo – RJ – Brasil (3.712.636 - CAAE 55892616.0.0000.5626) (Anexo B). Os procedimentos de coleta somente se iniciaram após os pacientes serem devidamente informados por escrito (carta de informação) e concordarem em participar, mediante a assinatura de um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Os critérios de inclusão adotados foram: dentes molares hígidos (saudáveis) e irrompidos com indicação de

extração – terceiros molares ou dentes com indicação periodontal. Os critérios de exclusão foram: pacientes ex-fumantes, dentes com lesões de cárie e/ou restaurações, bem como dentes com anomalias de desenvolvimento.

As amostras deste estudo foram selecionadas a partir dos dentes coletados, que foram divididos aleatoriamente em dois grupos: Grupo CF (exposição à fumaça de cigarro), o grupo teste; e Grupo SF (sem exposição à fumaça de cigarro), o grupo controle. A partir desses grupos, as amostras foram distribuídas aleatoriamente da seguinte forma: para avaliação por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), para avaliação por FTIR e para cada grupo de teste de microtração.

Após a extração, os dentes foram lavados em água corrente, e os resíduos de ligamento periodontal, tecido gengival e ósseo, bem como possíveis cálculos supra e subgengivais, foram removidos com curetas periodontais (Golgran, São Caetano do Sul, Brasil). Em seguida, os dentes foram submetidos à profilaxia com pedra-pomes e água, aplicadas com escova de Robinson inserida em um micromotor (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil). Os elementos dentários foram inspecionados com o auxílio de uma sonda exploradora (Duflex, Juiz de Fora, Brasil) e uma lupa com aumento de 3.5x para verificar a presença de fissuras. Posteriormente, os dentes foram identificados e armazenados em solução de cloramina T a 0,5% em recipientes de vidro vedados por uma semana para desinfecção (Armstrong *et al.*, 2017).

Os elementos dentários incluídos neste estudo foram submetidos a exames de Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico (TCFC) para determinar a região exata do corte das respectivas coroas dentárias, ou seja, abaixo da junção amelodentinária (JAD) no sulco oclusal. O tomógrafo utilizado foi o Vatech® (Gyeonggi-do, Coreia), modelo Pax i-3D. O protocolo de aquisição de imagem usado foi: campo de visão de 8,0 cm x 8,0 cm (diâmetro x altura), voxel de 0,2 mm, 89 quilovolts, 4,5 miliamperes e 24 segundos de exposição.

As imagens adquiridas foram transferidas para o programa de reconstrução e visualização de imagens EZ 3D-i (Vatech®, Gyeonggi-do, Coreia) e cada elemento dentário foi analisado individualmente, em secções com 1,0mm de espessura. Primeiramente, foi identificado o segmento oclusal da JAD e em seguida seu ponto mais convexo (Figura 1, seta vermelha), o qual foi considerado o ponto de referência para o início das medições. A partir deste ponto, foi traçada no sentido apical uma linha reta vertical com 1.0 mm de comprimento. Em seguida, foi traçada uma linha perpendicular à anterior (Figura 1, seta amarela), unindo os pontos mais externos da coroa dentária, demarcando a linha de corte dos dentes. Para possibilitar a demarcação desta linha de corte na porção externa dos dentes, foi identificado o ponto mais alto do órgão dental, ou seja, a cúspide mais alta de cada dente. Usando a linha horizontal como base, uma segunda linha reta vertical foi traçada (Figura 1, seta verde), a fim de determinar a distância do ponto mais alto da maior cúspide do órgão dental até a região de corte, 1.0 mm abaixo do ponto mais baixo da JAD (Figura 1). Esta medição final, individual para cada dente, foi utilizada para determinar fisicamente a região exata onde as respectivas coroas dentárias foram cortadas.

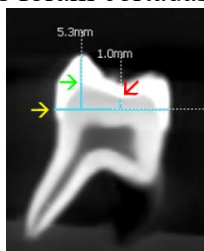


Figura 1. Imagem de um dos elementos dentários incluídos no estudo, com a delimitação da região dos cortes.

Após a medição tomográfica da espessura da dentina do terço oclusal, as amostras foram divididas aleatoriamente nos dois grupos: sem exposição à fumaça de cigarro (SF) e com exposição à fumaça de cigarro (CF). Em seguida, as medições finais foram transferidas, respectivamente, para cada dente dos dois grupos de amostras por meio de uma marcação feita com uma caneta Stabilo Point 88 (STABILO, São Paulo, Brasil) em toda a superfície vestibular, utilizando um paquímetro digital (MTX, Guarulhos, Brasil). Toda esta região foi seccionada do restante do tecido dentário através de um corte sagital, no sentido vestibulo-lingual, utilizando um disco diamantado (Precision Surfaces Internacional, Houston, EUA) com de espessura, sob constante irrigação, a uma velocidade de . Este disco foi montado em uma cortadeira metalográfica de precisão universal (Minitom – Struers, Cleveland, EUA), dividindo cada dente em duas partes: uma oclusal e uma coronorradicular.

As amostras do grupo CF foram acondicionadas simultaneamente em um Dispositivo de Simulação de Fumar (DSF), projetado por Cardoso & Vieira (Almeida e Silva, 2010), que consiste em uma tampa de PVC rígido branca (TIGRE, Rio Claro, Brasil) com de diâmetro; o dispositivo possui um orifício na frente com de diâmetro para encaixar um cigarro por vez e, na parte traseira, possui um conector cilíndrico metálico, que se conecta ao dispositivo de sucção de um equipamento odontológico para simular o ato de fumar. Cada amostra foi exposta à fumaça de cigarro por sete dias, com sete horas de exposição, em média, por dia, utilizando cerca de 20 cigarros por hora, totalizando cigarros (ROTHMANS, SOUZA CRUZ, Uberlândia, Brasil). Esta quantidade total equivale a 51 dias de fumo, considerando um maço com 20 cigarros por dia. Cada cigarro foi consumido em aproximadamente dois minutos (Almeida e Silva *et al.*, 2010).

Ao final desta etapa, as partes oclusais foram seccionadas paralelamente ao longo eixo dental, no sentido mésio-distal, com um disco diamantado (American Burrs, Palhoça, Brasil) montado em uma peça reta de um micromotor, sob refrigeração com água destilada, resultando em duas hemissecções. Estas metades foram testadas utilizando as técnicas de FTIR e MEV, enquanto as partes coronárias foram submetidas ao teste de microtração. Estas três partes, de ambos os grupos, foram preparadas de forma diferente para os três testes deste estudo, conforme segue:

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

As hemissecções das partes oclusais destinadas a este teste (n=3) foram previamente preparadas. Elas foram lixadas manualmente em uma politriz com lixa de carbetto de silício de grão 600. Em seguida, foram polidas com disco de feltro e pasta de diamante (granulometria: 1 µm) e colocadas em cuba ultrassônica com água destilada por 15 minutos. Posteriormente, foram imersas em solução de ácido fosfórico a 85% por 30 segundos, lavadas em água corrente por dois minutos e imersas em água destilada na cuba ultrassônica por mais cinco minutos. Logo após, as amostras foram imersas em solução de hipoclorito de sódio a 10% por dez minutos. Após esta etapa, iniciou-se a dessecação; as amostras foram imersas em soluções progressivas de álcool a 25%, 50%, 75% e absoluto por 15 minutos cada. Em seguida, as amostras foram armazenadas em um dessecador, em temperatura ambiente, com sílica e vácuo, por 48 horas.

Para a avaliação qualitativa por MEV, as amostras dos grupos CF e SF foram fixadas a uma tira retangular de isopor com uma fita adesiva de carbono dupla face e levadas a um metalizador (LEICA EM ACE600, Leica Microsystems, Viena, Áustria) para a aplicação de uma fina camada de ouro com 100 a 200 Angstroms de espessura pelo processo de *sputtering*. Posteriormente, as amostras foram fixadas a *stubs* (suportes metálicos de amostras) com fita adesiva de carbono dupla face para serem analisadas em um microscópio eletrônico de varredura com canhão de emissão de campo (MEV-FEG) do fabricante FEI (modelo QUANTA 250 FEG, Hillsboro, EUA). As fotomicrografias foram obtidas em modo de alto

vácuo, com voltagem de aceleração entre 10 e 30 Kv, usando 10 mm como a distância de trabalho. As áreas de dentina intertubular e peritubular foram analisadas em aumentos de 2.000 e 4.000 vezes.

ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A superfície das hemisseções das partes oclusais destinadas a este teste (n=6), dos grupos CF e SF, foi raspada com um recortador de margem gengival e macerada manualmente com grau e pistilo de ágata até ser reduzida a pó de dentina; o pó foi armazenado a seco em tubos Eppendorf, em CNTP, até o início do teste.

A análise química da dentina por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) foi realizada utilizando de cada amostra. Esta medida foi misturada manualmente com brometo de potássio (KBr), na proporção de 1:1, em grau e pistilo de ágata, até obter uma mistura homogênea. Em seguida, esta mistura foi prensada em pastilhas (Perkin-Elmer, Waltham, EUA) inseridas em uma prensa pneumática (SHIMADZU, Kyoto, Japão) com uma força de compressão de 20 kN por 15 segundos, formando pastilhas com 13 mm de diâmetro, que foram instaladas no suporte de amostras de um espectrofotômetro FTIR (IR Prestige21 – SHIMADZU, Kyoto, Japão). Os espectros de infravermelho foram gravados automaticamente pelo equipamento, por um computador acoplado para mapear o teste, utilizando o software IR Solution (SHIMADZU, Kyoto, Japão), específico para o equipamento. A medição experimental de cada amostra consistiu na aquisição do espectro de absorbância na região entre 4.000 and 400 cm^{-1} , com uma resolução de 16 cm^{-1} ; 32 varreduras foram realizadas para cada medição, e o espectro adquirido foi a média de todas essas varreduras. As bandas vibracionais dos espectros contidas nas amostras analisadas dos grupos CF e SF foram obtidas e expressas através de um gráfico cartesiano em que o eixo X corresponde ao número de ondas do espectro e o eixo Y corresponde à sua intensidade de absorção (absorbância); o gráfico foi denominado "espectro de infravermelho do composto" (Bachmann *et al.*, 2005; Maske *et al.*, 2015).

MICROTRAÇÃO

As porções de dentina das partes coronárias, previamente expostas pelos cortes já descritos acima, foram submetidas à formação e padronização da *smear layer* (camada de esfregaço) com o auxílio de lixa de grão 120, sob refrigeração a água, montada em uma politriz, com movimentos horários, por 30 segundos, seguidos de mais 30 segundos de movimento anti-horário. Imediatamente após, as seções coronárias foram submetidas à confecção das restaurações de acordo com cada um dos grupos (n=4) e divididas da seguinte forma:

- GRUPO CFSE (n=4): com exposição à fumaça – sistema adesivo Clearfil SE Bond 2
- GRUPO CFU (n=4): com exposição à fumaça – sistema adesivo Clearfil Universal Bond Quick
- GRUPO SFSE (n=4): sem exposição à fumaça – sistema adesivo Clearfil SE Bond 2
- GRUPO SFU (n=4): sem exposição à fumaça – sistema adesivo Clearfil Universal Bond Quick

Os protocolos relativos aos dois sistemas adesivos estudados foram realizados. Em seguida, a resina composta (Clearfil™APX A2 – KURARAY) foi inserida em incrementos de até que toda a superfície da dentina fosse coberta com uma sobreposição no esmalte, a fim de evitar a exposição de qualquer porção de dentina e partes com uma altura de 4 mm. Posteriormente, os elementos foram armazenados em água destilada a 37°C por 24 horas e testados quanto à sua resistência à fratura.

A resistência de união foi avaliada pelo teste de microtração, técnica *non-trimming* (sem recorte) (Sano *et al.*, 1994). Os corpos de prova foram fixados a dispositivos Bencor Multi-T (Danville Engineering, San Ramon, CA, EUA) pelas suas extremidades usando cola de cianoacrilato, de modo que a superfície de união ficasse posicionada perpendicularmente ao dispositivo e ao longo eixo da força de tração. Para evitar a secagem da interface adesiva, cada espécime foi inserido em uma câmara com umidade relativa de 100% e envolto em gaze embebida em água destilada até que o dispositivo Bencor Multi-T fosse fixado a uma máquina de teste (Kratos, Cotia, Brasil) com uma célula de carga de 5.000 N, padronizando a carga utilizada em 500 N. No momento da fratura, o movimento foi imediatamente interrompido, e os valores foram expressos em Mpa (Sano *et al.*, 1994). Finalmente, foi realizada a análise fractográfica dos palitos submetidos ao teste de microtração, que foram analisados utilizando um microscópio eletrônico de varredura (MEV); os palitos foram fixados a *stubs* com fita adesiva de carbono dupla face e levados a um metalizador (LEICA EM ACE600, Leica Microsystems, Viena, Áustria) para aplicar uma fina camada de ouro com 100 a 200 Angstroms de espessura pelo processo de *sputtering*. Sucessivamente, as amostras foram fixadas a *stubs* com fita adesiva de carbono dupla face para serem analisadas em um microscópio eletrônico de varredura com canhão de emissão de campo (MEV-FEG) do fabricante FEI (modelo QUANTA 250). As fotomicrografias foram obtidas em modo de alto vácuo, com voltagem de aceleração entre 10 e 30 kV, usando 10 mm como distância de trabalho, permitindo que esta fratura fosse classificada em:

- Tipo A: Falha adesiva;
- Tipo B: Falha mista (adesiva e coesiva);
- Tipo C: Falha coesiva na resina composta;
- Tipo D: Falha coesiva na dentina.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise química realizada no FTIR foi em relação aos espectros de absorção das bandas de absorção selecionadas do grupo fosfato (número de onda entre 900 e 1200 cm^{-1}), do grupo carbonato (número de onda entre 870 and 1070 cm^{-1}), do grupo amida (número de onda entre 1400 and 1700 cm^{-1}) e do grupo água (número de onda entre 2800 and 3800 cm^{-1}); e quantitativamente através da análise de variância com dois critérios de medição repetida (ANOVA). O software utilizado foi o Statistica 10.0. Os dados do teste de microtração foram analisados quanto à normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade (Brown-Forsythe); eles foram submetidos à análise de variância de dois fatores (ANOVA *two-way*). Os testes foram realizados utilizando o software Sigma Stat. Todos os testes foram realizados com nível de significância de 5% ($p < 0.05$).

3 Resultados

As secções transversais de todas as superfícies dentinárias das amostras (expostas ou não à fumaça de cigarro) foram analisadas por MEV-FEG. Foram registradas fotomicrografias das regiões mais representativas dessas superfícies, e as imagens foram examinadas quanto à possível presença de partículas contaminantes no grupo de amostras expostas à fumaça de cigarro. As imagens fornecidas pelo MEV demonstram similaridades morfológicas entre os dois grupos de amostras, com e sem exposição à fumaça (Figura 2). A dentina intertubular e a peritubular, assim como a entrada dos túbulos dentinários, apresentaram aspecto morfológico semelhante. Entretanto, foram observadas características topográficas distintas em certas áreas dessas estruturas nas amostras expostas à fumaça de cigarro. Foi detectada uma deposição de partículas de diversos tamanhos e formas irregulares nessas amostras. Desta forma, foi observada a presença de partículas, em tamanho reduzido, em algumas áreas da dentina intertubular. Um número menor de pequenas partículas foi

observado em regiões da dentina peritubular. Um número maior de partículas elevadas foi encontrado na entrada dos túbulos dentinários, preenchendo-os parcial ou totalmente.

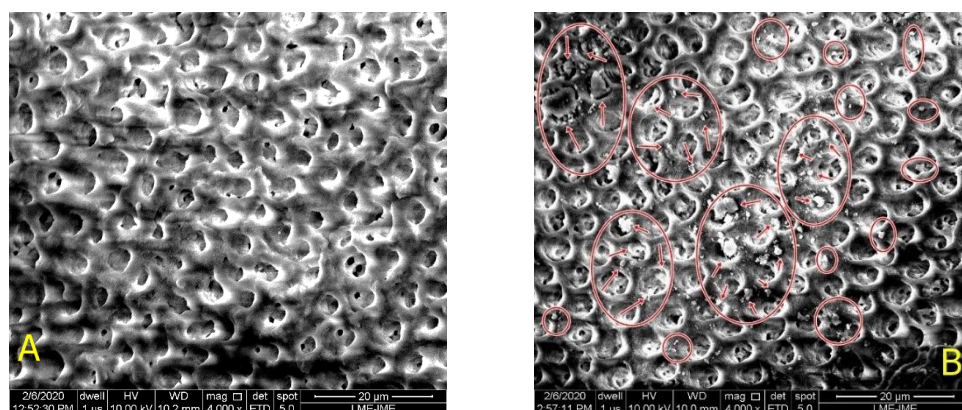


Figura 2. Fotomicrografias de superfície não exposta à fumaça (A) e superfície exposta à fumaça (B), respectivamente, com ampliação de 2000x (círculos vermelhos e setas apontando para as partículas encontradas na superfície exposta à fumaça).

As amostras dos grupos CF e SF foram analisadas utilizando a técnica FTIR. Foram identificados os principais grupos funcionais presentes na dentina (Bachmann *et al.*, 2005; Maske *et al.*, 2015; Marta-Miranda *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2017) sem e com exposição à fumaça: grupo fosfato (número de onda entre 900 e 1200 cm^{-1}), do grupo carbonato (número de onda entre 870 and 1070 cm^{-1}), do grupo amida (número de onda entre 1400 and 1700 cm^{-1}) e do grupo água (número de onda entre 2800 and 3800 cm^{-1}). A Figura 3 mostra os espectros de FTIR para as amostras CF e SF, respectivamente. As intensidades de absorbância obtidas para as amostras SF foram 0,97 para fosfato, 0,73 para carbonato, 0,82 para amida e 0,97 para água. Para o grupo CF, as intensidades de absorbância foram 1,00 para fosfato, 0,87 para carbonato, 0,94 para amida e 1,04 para água. A análise de variância (ANOVA) foi baseada em dois critérios de medidas repetidas para comparação entre os grupos (variável independente: com e sem fumaça), levando em consideração os diferentes valores das variáveis dependentes (fosfato, carbonato, amida e água), e os resultados não foram estatisticamente significantes.

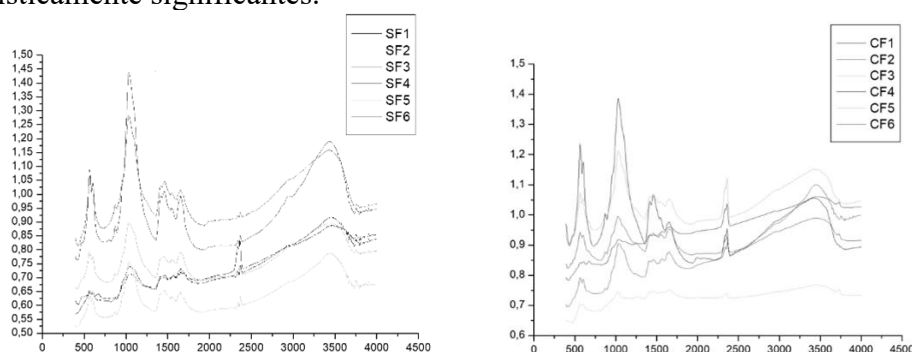


Figura 3. Espectroscopias de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do grupo sem fumaça (SF), grupo controle e com fumaça (CF), grupo teste, respectivamente.

Na análise do teste de microtração, a média e o desvio padrão dos quatro grupos estudados (CFSE, CFU, SFSE e SFU) são apresentados na Tabela 1. A maior média foi verificada no grupo CFSE (52.93 MPa), com exposição à fumaça de cigarro e utilizando o adesivo Clearfil SE Bond 2. E a menor média foi observada no grupo SFU (43.36 MPa), sem

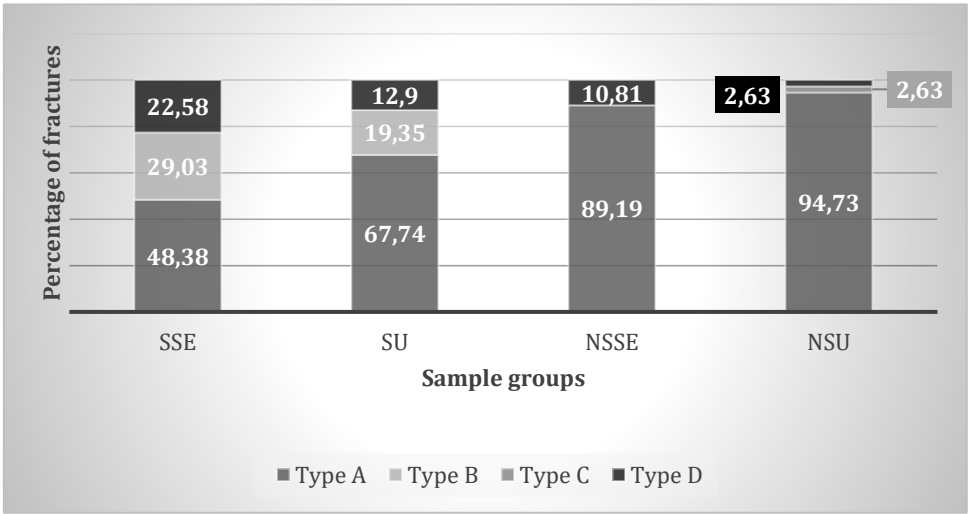
exposição à fumaça e utilizando o adesivo Clearfil Universal Bond Quick. Verificou-se que as médias mais altas foram encontradas nos grupos que utilizaram o adesivo Clearfil SE Bond 2, enquanto as médias mais baixas foram encontradas nos grupos que utilizaram o adesivo Clearfil Universal Bond Quick. A análise de variância considerou dois critérios; as variáveis independentes foram o tratamento do substrato (com ou sem exposição à fumaça) e o material (sistema adesivo) aplicado. O teste ANOVA foi realizado considerando três fatores: tratamento, material e a interação tratamento-material. Os resultados dos três fatores não foram estatisticamente significantes.

Amostras	Resistência de união (MPa)	Desvio padrão (DP)
Grupo 1(CF) - Clearfil SE bond 2	52.93 aA*	(6.03) aA
Grupo 1(CF) - Clearfil universal bondquick	50.78 aA	(4.6) aA
Grupo 2 (SF) - Clearfil SE bond 2	52.39 aA	(7.76) aA
Grupo 2 (SF) - Clearfil universal bondquick	43.36 aA	(10.90) aA

Tabela 1. Média, desvio padrão (DP) e significância estatística da resistência de união em MPa, n=4.

A classificação das fraturas dos grupos estudados é apresentada na Figura 4. Uma fratura tipo A (adesiva) é predominantemente observada em todos os grupos. No entanto, houve uma diminuição desse tipo de fratura nos grupos expostos à fumaça de cigarro e um aumento do tipo D (coesiva na dentina); também foi verificada a ocorrência de fraturas do tipo B (mista). A fratura tipo C (coesiva na resina composta) foi observada apenas no grupo sem exposição à fumaça que utilizou o adesivo Clearfil Universal Bond Quick.

Figura 4. Porcentagem dos tipos de fraturas nas amostras após o teste de microtração: Tipo



A – Falha adesiva; Tipo B – Falha mista (adesiva e coesiva); Tipo C – Falha coesiva no compósito; Tipo D – Falha coesiva na dentina.

4 Análise e Discussão

Sabe-se que a fumaça de cigarro permeia as superfícies com as quais entra em contato, chegando até a alterar sua cor (Almeida e Silva *et al.*, 2010; Theobaldo *et al.*, 2016). Este estudo analisou morfológica, química e mecanicamente o substrato dentinário exposto à fumaça de cigarro (CF) em relação ao substrato hígido (SF). A dentina saudável é composta por 70% de substâncias inorgânicas, 18% de matriz orgânica e 12% de água, em peso. Sua estrutura é composta por túbulos dentinários circundados por uma camada hipermineralizada chamada dentina peritubular, que reveste a parede interna dos túbulos, e uma dentina intertubular, menos mineralizada, localizada entre os túbulos (Marshall *et al.*, 1997; Ortiz-Ruiz *et al.*, 2018). A dentina exposta à fumaça de cigarro também possui partículas dessa fumaça contendo chumbo, cádmio e arsênio (Takeuchi *et al.*, 2011). No entanto, além desses contaminantes, existem milhares de outras substâncias na fumaça do cigarro, não apenas inorgânicas, mas também orgânicas (Hausmann, 2012; Rodgman e Perfetti, 2006). Existem vários relatos sobre a adesão de adesivos autocondicionantes ao substrato dentinário saudável, porém ainda há poucos estudos sobre a interação desses adesivos com o substrato dentinário exposto à fumaça de cigarro (Almeida e Silva *et al.*, 2010; Theobaldo *et al.*, 2016).

A fim de expandir a busca por esses contaminantes, este trabalho também analisou o tecido dentário das amostras utilizando o FTIR, que detecta as ligações químicas nas moléculas de certos compostos. Essas moléculas são excitadas em suas frequências vibracionais naturais e específicas para absorver a radiação infravermelha e, quanto maior o número de ligações químicas, maiores são os movimentos vibracionais; consequentemente, maior é a energia absorvida (Pavia *et al.*, 2010). Em relação à análise dos espectros por FTIR, as bandas dos compostos carbonato, fosfato, amida e água foram bastante semelhantes às relatadas em estudos anteriores. Padrões vibracionais dos compostos fosfato, amida e água foram encontrados na mesma região de comprimento de onda em um estudo com tecido dentário bovino (Bachmann *et al.*, 2005), e padrões vibracionais dos grupos amida, carbonato e fosfato, também ao usar tecido dentário bovino (Maske *et al.*, 2015). Da mesma forma, ao explorar tecido dentário humano, os resultados foram observados na mesma região de comprimento de onda que os padrões vibracionais dos grupos fosfato e amida (Zhao *et al.*, 2017). Marta-Miranda *et al.* (2019), estudando o tecido ósseo humano, observaram os padrões vibracionais dos grupos fosfato, amida e carbonato na mesma região de comprimento de onda. No entanto, esses estudos utilizaram metodologias e substratos diferentes e não avaliaram o papel da fumaça do tabaco.

Ao comparar os resultados de FTIR entre os grupos CF e SF, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes. A análise revelou um pequeno aumento na absorbância das bandas vibracionais de todos os compostos no grupo CF, o que sugere a presença de mais ligações químicas nessas frequências vibracionais. Talvez a presença de elementos químicos derivados de algumas substâncias na fumaça do cigarro, como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) – que são compostos caracterizados por possuírem 2 ou mais anéis aromáticos e formados pela combustão incompleta de material orgânico – possa contribuir para o aumento da absorbância neste grupo. Os HAPs permanecem depositados nas superfícies e são absorvidos por elas; eles tendem a se acumular nos tecidos de organismos vivos, e ao reagir participam de reações de substituição eletrofilicas, implicando na formação de novas ligações químicas (Rodgman e Perfetti, 2006). Assim, podemos supor que os compostos dentinários estudados (fosfato, carbonato, amida e água), quando expostos à fumaça de cigarro, ligaram-se aos HAPs através de seus grupos funcionais PO_4^{3-} , CO_3^{2-} , NH_2 and OH . Deve-se enfatizar o caráter inovador deste estudo ao analisar a dentina impregnada com fumaça de cigarro por FTIR.

A tecnologia adesiva evoluiu muito desde que foi introduzida na prática odontológica há mais de 60 anos (Buonocore, 1955). No entanto, uma ligação adesiva eficaz na dentina,

diferente em natureza do esmalte, continua sendo uma ação desafiadora, pois a interface dentina/adesivo é a área mais sensível de todo esse processo (Loguercio *et al.*, 2018; Van Meerbeek *et al.*, 2011). Para que essa adesão ocorra da melhor maneira, a energia superficial do substrato dental deve ser sempre maior do que a tensão superficial do adesivo. Desta forma, seu ângulo de contato será o menor possível e, conseqüentemente, sua molhabilidade será aprimorada, resultando em uma adesão bem-sucedida do adesivo ao tecido dentário, com a impregnação de seus monômeros resinosos nas fibrilas de colágeno da dentina, fomentando um embrião micromecânico e formando a chamada "camada híbrida" (Nakabayashi *et al.*, 1982).

Os adesivos utilizados neste estudo (Clearfil SE Bond 2 e Clearfil Universal Bond Quick) são autocondicionantes, ou seja, seus monômeros ácidos funcionais condicionam e penetram no substrato dentinário ao mesmo tempo, incorporando a "smear layer" na camada híbrida e criando ligações químicas com a hidroxiapatita (Loguercio *et al.*, 2018; Van Meerbeek *et al.*, 2011; Yoshihara *et al.*, 2018). Assim, eles possibilitam uma ligação micromecânica e química ao substrato dentinário. Acredita-se que essa ligação química crie nanocamadas auto-organizadas de sais de cálcio hidroliticamente estáveis, desempenhando um papel fundamental na prevenção de cáries secundárias, selando as margens das restaurações e aumentando a durabilidade das restaurações (Takamizawa *et al.*, 2019). Neste contexto, o monômero ácido funcional MDP tem um papel preponderante, otimizando o potencial adesivo, através do conceito de adesão-descalcificação ou "AD", pela formação de uma ligação química estável com os íons da hidroxiapatita (Sano *et al.*, 2017; Van Meerbeek *et al.*, 2011; Yoshihara *et al.*, 2018).

O Clearfil SE Bond 2 é um produto autocondicionante de dois frascos, e essa aplicação separada do *primer* e do adesivo, em conjunto com a adição de um fotoiniciador extra, que pode fornecer mais radicais livres durante a fotopolimerização e melhorar o grau de conversão da resina adesiva, parece influenciar positivamente a adesão à dentina (Sato *et al.*, 2017). O mecanismo de ligação dos adesivos universais funciona como um produto autocondicionante de frasco único (Takamizawa *et al.*, 2019; Saito *et al.*, 2020), onde sua aplicação é geralmente instruída pelo fabricante a ser realizada ativamente com um movimento de fricção, melhorando a interação local do adesivo com a dentina (Van Meerbeek *et al.*, 2019), e requer o uso de jato de ar após a aplicação do adesivo para evaporar adequadamente o solvente (Saito *et al.*, 2020; Van Meerbeek *et al.*, 2019). O Clearfil Universal Bond Quick contém um monômero amida hidrofílico multifuncional que melhora a infiltração do adesivo na dentina, resultando em um tempo de aplicação mais curto. Este monômero é mais hidrofílico que o HEMA antes de sua polimerização e mais hidrofóbico que o HEMA após a polimerização, o que aprimora as propriedades físico-químicas do adesivo (Kuno *et al.*, 2019).

Os valores médios da resistência de união do adesivo Clearfil SE Bond 2 à dentina sem exposição à fumaça foram bastante semelhantes e ligeiramente inferiores aos verificados em outros estudos (Sano *et al.*, 2019; Van Meerbeek *et al.*, 2019). Em relação ao adesivo Clearfil Universal Bond Quick, resultados equivalentes aos encontrados neste estudo também foram observados na literatura (Saito *et al.*, 2020; Van Meerbeek *et al.*, 2019). Não foi possível comparar os valores médios da resistência de união à dentina exposta à fumaça, visto que até a presente data não há estudos que relacionem a fumaça de tabaco com os adesivos utilizados nesta pesquisa. Poucos estudos anteriores foram realizados com este substrato, nos quais foram encontrados resultados de resistência de união muito inferiores com os adesivos Clearfil SE Bond e Single Bond Universal (Theobaldo *et al.*, 2016), e resultados ligeiramente inferiores foram encontrados com o adesivo Scotchbond Multi-Purpose (Almeida e Silva *et al.*, 2010).

O teste de microtração mostrou que não houve diferenças estatísticas nos valores entre as variáveis testadas: os tipos de substrato (expostos ou não à fumaça de cigarro), os tipos de material (adesivos Clearfil SE Bond 2 e Clearfil Universal Bond Quick) e os tipos de substrato versus os tipos de material. No entanto, verificou-se uma tendência de aumento nos valores de adesão em substratos expostos à fumaça de cigarro (grupos CFSE e CFU) em relação aos grupos não expostos (SFSE e SFU).

Como os resultados encontrados por FTIR não foram estatisticamente significantes, não podemos creditar a tendência crescente dos grupos SFU e CFU às ligações químicas com HAPs. No entanto, os resultados do FTIR sugerem que a ligeira maior capacidade de ligação dos grupos expostos à fumaça de cigarro pode ser derivada da presença de metais pesados em substratos impregnados com fumaça de cigarro, conforme já relatado em estudos anteriores (Takeuchi *et al.*, 2011), e como o Clearfil Universal Bond Quick é um adesivo multimodal, ele possui afinidade por vários substratos, incluindo metais (Kim *et al.*, 2014). Tais metais podem estar associados às partículas contaminantes que foram observadas nesta pesquisa por meio do MEV, como em outros estudos (Takeuchi *et al.*, 2011). Essas partículas foram observadas na dentina exposta à fumaça de cigarro em tamanhos variados e formas irregulares, na dentina intertubular, dentina peritubular e na entrada dos túbulos dentinários, obliterando-os em alguns locais. Outros estudos (Almeida e Silva *et al.*, 2010) também observaram essas partículas contaminantes, que preencheram parcialmente a boca dos túbulos dentinários e os obliteraram. Por outro lado, verificou-se uma leve tendência a valores médios de adesão mais altos nas amostras dos grupos SFSE e CFSE em relação aos grupos SFU e CFU, indicando a possibilidade de um melhor desempenho do adesivo autocondicionante Clearfil SE Bond 2, embora não haja diferença estatística. Um melhor desempenho do adesivo autocondicionante em relação ao universal também foi observado em outros estudos (Van Meerbeek *et al.*, 2019).

Embora ambos os adesivos utilizados nesta pesquisa contenham MDP como monômero funcional, os grupos SFSE e CFSE apresentaram uma tendência de maior adesão à dentina. Este efeito deve ser atribuído, provavelmente, à aplicação separada do *primer* e do adesivo, bem como à fotopolimerização da resina adesiva, mais hidrofóbica e livre de solventes, onde esta dupla camada estabiliza a camada híbrida, melhorando sua resistência (Van Meerbeek *et al.*, 2019).

Deve-se considerar que, no presente estudo, foram utilizados molares humanos hígidos com indicação de extração, uma amostra relativamente difícil de compor, mas com maior capacidade de responder ao objeto desta pesquisa. Houve perda de amostras durante o processo de preparação, o que reduziu o nos grupos estudados e, consequentemente, resultou em uma diminuição do poder do teste estatístico. No entanto, devido a essas limitações, as diferenças encontradas nos resultados discutidos neste trabalho e as hipóteses levantadas, a adesão à superfície dentinária alterada pelas substâncias na fumaça do cigarro merece ser mais aprofundada, tanto laboratorial quanto clinicamente, utilizando um número maior de amostras, uma maior diversificação de sistemas adesivos e uma maior gama de análises químicas, a fim de melhor compreender este substrato "contaminado" e sua relação com a adesividade dos materiais dentários, visando uma maior longevidade para as restaurações adesivas.

5 Conclusões

Não foram encontradas alterações morfológicas, mas sim topográficas, nas superfícies das amostras dentárias expostas à fumaça de cigarro, observadas por MEV, demonstrando a presença de partículas contaminantes. Os resultados da análise química do FTIR não foram estatisticamente significantes, mas revelaram uma tendência de aumento da absorbância das bandas vibracionais de todos os compostos no grupo CF, sugerindo a

presença de mais ligações químicas nessas frequências vibracionais. Se houve contaminação, ela não alterou a resistência de união entre a dentina exposta à fumaça de cigarro e a resina composta, visto que o teste de microtração não mostrou diferença estatística entre os grupos estudados, havendo predominância do padrão de fratura do tipo adesivo tanto nos espécimes expostos à fumaça de cigarro quanto naqueles sem exposição.

Agradecimentos

Esta pesquisa só foi possível graças à colaboração do Programa de Pós-graduação em Odontologia do ISNF/UFF; do Serviço Social do Transporte (SEST)/Deodoro – RJ; do Instituto Militar de Engenharia (IME) – RJ; do Centro Universitário Serra dos Órgãos (UNIFESO) e do Centro de Pesquisas de Energia Elétrica (CEPEL) – Eletrobrás/RJ.

Referências

- Almeida e Silva JS, dE Araújo Jr. EM, Araújo E. (2010). Cigarette smoke affects bonding to dentin. *General Dentistry*.; 58(4), 326-330.
- Armstrong, S., Breschi, L., Özcan, M., Pfefferkorn, F., Ferrari, M., & Van Meerbeek, B. (2017). Academy of Dental Materials guidance on in vitro testing of dental composite bonding effectiveness to dentin/enamel using micro-tensile bond strength (μ TBS) approach. *Dental Materials Journal*, 33(2), 133-143.
- Bachmann, L., Diebolder, R., Hibst, R., & Zezell, D. M. (2005). Changes in chemical composition and collagen structure of dentine tissue after erbium laser irradiation. *Spectrochim Acta A*, 61(11-12), 2634-2639.
- Bertassoni, L. E. (2017). Dentin on the nanoscale: Hierarchical organization, mechanical behavior and bioinspired engineering. *Dental Materials Journal*, 33(6), 637-649.
- Breschi, L., Maravic, T., Cunha, S. R., Comba, A., Cadenaro, M., Tjäderhane, L., ... & Mazzoni, A. (2018). Dentin bonding systems: from dentin collagen structure to bond preservation and clinical applications. *Dental Materials Journal*, 34(1), 78-96.
- Buonocore, M. G. (1955). A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *Journal of Dental Research*, 34(6), 849-53.
- Centers for disease control and prevention. (2008) Cigarette Smoking Among Adults MMWR, 57,1221-1248.
- Fujiwara, S., Takamizawa, T., Barkmeier, W. W., Tsujimoto, A., Imai, A., Watanabe, H., Erickson, R. L., ... & Miyazaki, M. (2018). Effect of double-layer application on bond quality of adhesive systems. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 77, 501-509.
- Grayson, W., Marshall Jr, Marshall, S. L., Kinney, J. H., & Balooch, M. (1997). The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *Journal of Dentistry*, 25(6), 441-458.
- Hausmann, H. J. (2012). Use of hazard indices for a theoretical evaluation of cigarette smoke composition. *Chemical Research in Toxicology*, 25(4), 794-810.
- Kim, J. H., Chae, S.Y., Lee, Y., Han, G.J., & Cho, B. H. (2014). Effects of Multipurpose, Universal Adhesives on Resin Bonding to Zirconia Ceramic. *Operative Dentistry*, 40(1), 55-62.
- Kuno, Y., Hosaka, K., NAKAJIMA, M., IKEDA, M., KLEIN, C. A., FOXTON, R. M., & TAGAMI, J. (2019). Incorporation of a hydrophilic amide monomer into a one-step self-etch adhesive to increase dentin bond strength: Effect of application time. *Dental Materials Journal*, 38(6), 892–899.

- Kuraray Noritake. (2018). CLEARFIL Universal Bond quick brochure. <<https://kuraraydental.com/wp-content/uploads/2018/12/clearfil-universal-bond-quick-new-cap-brochure-sm.pdf>>.
- Loguercio, A. D., Luque-Martinez, I. V., Fuentes, S., Reis, A., & Muñoz, M. A. (2018). Effect of dentin roughness on the adhesive performance in non-carious cervical lesions: a double-blind randomized clinical trial. *Journal of Dentistry*, 69, 60-69.
- Malta, D. C., Oliveira, T. P., Vieira, M. L., Almeida, L., & Szwarcwald, C. L. (2015). Uso e exposição à fumaça do tabaco no Brasil: resultados da Pesquisa Nacional de Saúde 2013. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 24, 239-248.
- Manuja, N., Nagpal, R., & Pandit, I. K. (2012). Dental adhesion: mechanism, techniques and durability. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 36, 223-234.
- Mata-Miranda, M. M., Guerrero-Ruiz, M., Gonzalez-Fuentes, J. R., Hernandez-Toscano, C. M., Garcia-Andino, J. R., Sanchez-Brito, M., & Vazquez-Zapien, G. J. (2019). Characterization of the Biological Fingerprint and Identification of Associated Parameters in Stress Fractures by FTIR Spectroscopy. *BioMed Research International*, 3, 1-10.
- Maske, T. T., Isolan, C. P., van de Sande, F. H., Peixoto, A. C., Faria-e-Silva, A. L., Cenci, M. S., & Moraes, R. R. (2015). A biofilm cariogenic challenge model for dentin demineralization and dentin bonding analysis. *Clinical Oral Investigations*, 19, 1047-1053.
- Nagarkar, S., Theis-Mahon, N., Perdigão, J. (2019). Universal dental adhesives: Current status, laboratory testing, and clinical performance. *Journal of biomedical materials research part b: applied biomaterials*, 107(6), 2121-2131.
- Nakabayashi, N., Kojima, K., & Masuhara, E. (1982). The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *Journal of Biomedical Materials Research. Res*, 16, 265-273.
- Ortiz-Ruiz, A. J., de Dios Teruel-Fernández, J., Alcolea-Rubio, L. A., Hernández-Fernández, A., Martínez-Beneyto, Y., & Gispert-Guirado, F. (2018). Structural differences in enamel and dentin in human, bovine, porcine, and ovine teeth. *Annals of Anatomy*, 218, 7-17.
- Packham, D. E. (1992) *Handbook of adhesion*. 1ª edição. Nova Iorque, NY: Longman Scientific & Technical; 1992.
- Pavia, D. I., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Vyvyan, Jr. (2010) *Introdução à espectroscopia*. São Paulo: Cengage.
- Pecie, R., Krejci, I., Garcia-Godoy, F., Bortolotto, T. (2011). Noncarious cervical lesions (NCCL) – A clinical concept based on the literature review. Part 2: Restoration. *American Journal of Dentistry*, 24(3), 183-192.
- Powers, J. M., O'Keefe, K. L., Pinzon, L. M. (2003). Factors affecting in vitro bond strength of bonding agents to human dentin. *Odontology*, 91, 1-6.
- Rodgman, A., & Perfetti, T. A. (2006). The composition of cigarette smoke: a catalogue of the polycyclic aromatic hydrocarbons. *Beiträge Zur Tabakforschung International.*, 22(1), 13-69.
- Sano, H., Shono, T., Sonoda, H., Takatsu, T., Ciucchi, B., Carvalho, R., & Pashley, D. H. (1994). Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength—evaluation of a micro-tensile bond test. *Dental Materials Journal*, 10(4), 236-240.
- Saito, T., Takamizawa, T., Ishii, R., Tsujimoto, A., Hirokane, E., Barkmeier, W. W., Latta, M. A., & Miyazaki, M. (2020). Influence of Application Time on Dentin Bond Performance in Different Etching Modes of Universal Adhesives. *Operative Dentistry*, 45(2), 183-195.
- Suzuki, T., Finger, W. J. (1988). Dentin adhesives: site of dentin vs. bonding of composite resins. *Dental Materials Journal*, 4, 379-383.
- Tay, F. R., Pashley, D. H. (2004). Resin bonding to cervical sclerotic dentin: A review. *Journal of Dentistry*, 32, 173-196.

Takamizawa, T., Imai, A., Hirokane, E., Tsujimoto, A., Barkmeier, W. W., Ericksonb, R. L., Lattab, M. A., Miyazaki, M. (2019). SEM observation of novel characteristic of the dentin bond interfaces of universal adhesives. *Dental Materials*, 35(12), 1791-1804.

Takeuchi, C. Y. G., Corrêa-Afonso, A. M., Pedrazzi, H., Dinelli, W., & Palma-Dibb, R. G. (2011). Deposition of lead and cadmium released by cigarette smoke in dental structures and resin composite. *Microscopy Research and Technique*, 74(3), 287-291.

Theobaldo, J. D., Catelan, A., Rodrigues-Filho, U., Marchi, G. M., Lima, D. A., & Aguiar, F. H. B. (2016). Effect of cigarette smoke on resin composite bond strength to enamel and dentin using different adhesive systems. *Operative Dentistry*, 41(3), E57-E63.

Tjäderhane, L., Carrilho, M. R., Breschi, L., Tay, F. R., & Pashley, D. H. (2009). Dentin basic structure and composition—an overview. *Endodontic Topics*, 20(1), 3–29.

Van Meerbeek, B., Yoshihara, K., Yoshida, Y., Mine, A. J. D. M. K. L. V. L., De Munck, J., & Van Landuyt, K. L. (2011). State of the art of self-etch adhesives. *Dental Materials Journal*, 27(1), 17-28.

Van Meerbeek, B., Ahmed, M. H., Yoshihara, K., Mercelis, B., Landuyt, K. V., Peumans, M. (2019). Quick bonding using a universal adhesive. *Clinical Oral Investigations*, 24(8), 2837-2851.

Vidal, C. D. M. P., Leme-Kraus, A. A., Rahman, M., Farina, A. P., & Bedran-Russo, A. K. (2017). Role of proteoglycans on the biochemical and biomechanical properties of dentin organic matrix. *Archives of Oral Biology*, 82, 203-208.

White, J. L., Conner, B. T., Perfetti, T. A., Bombick, B. R., Avalos, J. T., Fowler, K. W., ... & Doolittle, D. J. (2001). Effect of pyrolysis temperature on the mutagenicity of tobacco smoke condensate. *Food and Chemical Toxicology*, 39(5), 499-505.

World Health Organization. (2019). WHO Report on the Global Tobacco Epidemic, 2019. Geneva: World Health Organization. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Yoshida, Y., & Inoue, S. (2012). Chemical analyses in dental adhesive technology. *Japanese Dental Science Review*, 48(2), 141-152.

Yoshihara, K., Hayakawa, S., Nagaoka, N., Okihara, T., Yoshida, Y., & Van Meerbeek, B. (2018). Etching Efficacy of Self-Etching Functional Monomers. *Journal of Dental Research*, 97(9), 1010-1016.

Zhao, I. S., Mei, M. L., Burrow, M. F., Lo, E. C. M., Chu, C. H. (2017). Effect of Silver Diamine Fluoride and Potassium Iodide Treatment on Secondary Caries Prevention and Tooth Discolouration in Cervical Glass Ionomer Cement Restoration. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2), 340.