

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI**

**Programa de Pós-Graduação em Odontologia**

**Letícia Pena Botelho**

**ESTUDO IN VITRO DA FORÇA DE ADESÃO DE UM SISTEMA ADESIVO  
AUTOCONDICIONANTE COM INCORPORAÇÃO DA QUITOSANA APÓS  
ENVELHECIMENTO ARTIFICIAL**

**Diamantina**

**2017**

**Letícia Pena Botelho**

**ESTUDO IN VITRO DA FORÇA DE ADESÃO DE UM SISTEMA ADESIVO  
AUTOCONDICIONANTE COM INCORPORAÇÃO DA QUITOSANA APÓS  
ENVELHECIMENTO ARTIFICIAL**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Galo

Coorientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Simone G. Dias de Oliveira

**Diamantina**

**2017**

Ficha Catalográfica – Serviço de Bibliotecas/UFVJM  
Bibliotecário Anderson César de Oliveira Silva, CRB6 – 2618.

B748e

Botelho, Leticia Pena

Estudo *in vitro* da força de adesão de um sistema adesivo autocondicionante com incorporação da quitosana após envelhecimento artificial / Leticia Pena Botelho. – Diamantina, 2017.  
42 p. : il.

Orientador: Rodrigo Galo

Coorientadora: Simone Gomes Dias de Oliveira

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Odontologia) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

1. Cimentos dentários. 2. Dentina. 3. Envelhecimento. 4. Resistência de materiais. 5. Quitosana. I. Galo, Rodrigo. II. Oliveira, Simone Gomes Dias de. III. Título. IV. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

**CDD 617.6**

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

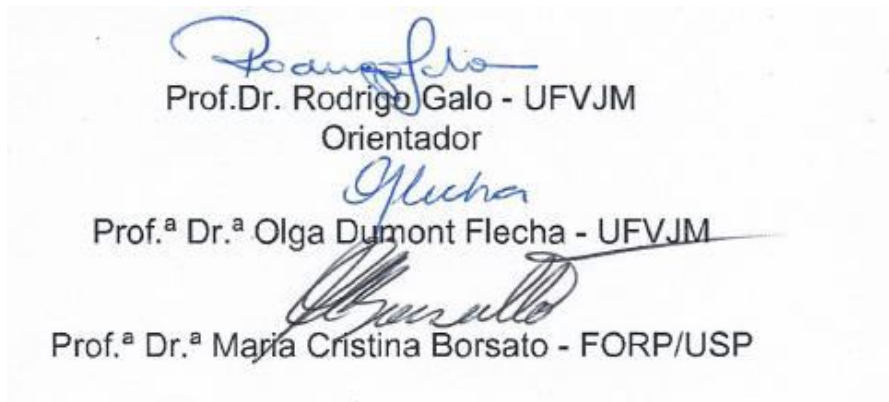
**Leticia Pena Botelho**

**AVALIAÇÃO DA FORÇA DE ADESÃO DE UM SISTEMA ADESIVO  
AUTOCONDICIONANTE COM INCORPORAÇÃO DA QUITOSANA**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Galo

Data de aprovação 27/07/2017



Prof.Dr. Rodrigo Galo - UFVJM  
Orientador

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Olga Dumont Flecha - UFVJM

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Cristina Borsato - FORP/USP

**Diamantina**

**2017**

## **Agradecimientos**

---

Agradeço a Deus, por me permitir concluir mais essa etapa.

Aos meus pais, pelo amor incondicional e por renunciarem dos seus sonhos, priorizando os meus e não medindo esforços para a realização deles.

Às minhas irmãs, pela amizade e amor de sempre.

Aos meus familiares, em especial à minha avó e tias, pelo carinho e incentivo em todos os momentos.

Aos amigos, que convivem de perto, me apoiando em tudo. E mesmo aos que estavam longe, mas se fizeram presentes em todos os momentos.

À Mel e Cíntia, que por viverem essa mesma experiência, apesar da distância, sempre estiveram do meu lado dando força e apoio.

À Anna Catharina, Lara, Rafaela e Tímilly, que se tornaram minhas amigas e estavam sempre dispostas a ajudar nos meus momentos mais difíceis e fizeram esse trabalho ser uma caminhada muito mais leve e prazerosa.

À Izabella, por ter se tornado uma grande amiga, sempre se esforçando para me ajudar no que fosse preciso.

À Prof. Dra. Simone Gomes Dias de Oliveira, pelo auxílio na execução desse trabalho e por estar sempre disponível para o que quer que fosse.

À coordenação do PPGODONTO, na pessoa da Prof. Dra. Maria Letícia Ramos Jorge, pelo carinho e incentivo de sempre.

À UFVJM, pelos ensinamentos e oportunidades.

Aos professores e funcionários pela disponibilidade e atenção a mim dedicados.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelos recursos financeiros de apoio para a realização deste curso.

E à todos que de uma forma ou de outra contribuíram para que eu chegasse até aqui.

Em especial:

Ao meu orientador Prof. Dr. Rodrigo Galo, minha admiração e gratidão pela paciência e calma frente aos meus momentos de maior desespero. Obrigada pela confiança e dedicação, por estar presente e pronto para ajudar a qualquer hora e em qualquer situação, por compartilhar comigo seus ensinamentos e sobretudo, por não me deixar desistir.

À Didi e Karine, meus exemplos de profissionais e pessoas. Que estão sempre do meu lado, seja comemorando comigo ou me incentivando a ir em busca do melhor. Obrigada pelo amor de sempre e pelos ensinamentos.

## RESUMO

Botelho, L.P. **ESTUDO IN VITRO DA FORÇA DE ADESÃO DE UM SISTEMA ADESIVO AUTOCONDICIONANTE COM INCORPORAÇÃO DA QUITOSANA APÓS ENVELHECIMENTO ARTIFICIAL**. 2017. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós Graduação em Odontologia – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. 42p.

O objetivo deste estudo foi avaliar a resistência à microtração da resina composta, em substrato dentinário bovino, após envelhecimento químico acelerado, em associação com um sistema adesivo modificado por quitosana na concentração de 2,5%. Sessenta dentes bovinos hígidos tiveram seus terços incisais e raízes seccionados e foram alocados aleatoriamente em três grupos (n=60). Grupo I (controle) – Ataque ácido + Clearfil SE Bond + Resina Z350 XT; Grupo II – Tratamento com quitosana 2,5% + Clearfil SE Bond + Resina Z350 XT; Grupo III – Tratamento com quitosana 2,5% incorporada ao adesivo dentinário + Resina Z350 XT. Os espécimes em forma de palitos confeccionados em cada grupo foram aleatoriamente divididos em dois subgrupos e então submetidos à degradação da interface adesiva (sem envelhecimento – os espécimes não foram submetidos ao envelhecimento; com envelhecimento – os espécimes foram imersos em hipoclorito de sódio a 2,5% por um período de doze horas e lavados em água destilada durante uma hora). Os grupos foram submetidos ao teste de resistência à microtração em máquina de ensaio universal, com velocidade de deslocamento de 0,5 mm/min até a ruptura. Os dados foram avaliados por análise estatística de acordo com a distribuição de normalidade encontrada (paramétrico – ANOVA e teste complementar de Duncan, para  $p=0,05$ ). Após a ruptura, os espécimes foram avaliados em lupa estereoscópica para verificação do tipo de fratura. Os dados de microtração foram então obtidos por meio do cálculo da área de cada palito, obtendo os valores em Mpa (Sem envelhecimento: G I:  $5,25\pm 1,69$ ; G II:  $5,52\pm 1,46$ ; G III:  $3,91\pm 1,21$ . Com envelhecimento: G I:  $3,45\pm 1,29$ ; G II:  $2,75\pm 0,78$ ; G III:  $3,53\pm 1,33$ ). A análise estatística mostrou que o fator de envelhecimento e de modificação do adesivo diminuíram a força de adesão da resina composta à dentina



bovina ( $p=0,001$ ). Assim como, a interação entre os fatores analisados mostraram diferenças estatisticamente significantes ( $p=0,002$ ). O tipo de fratura mais encontrada em todos os grupos foi a adesiva. Conclui-se que, o envelhecimento acelerado diminui a força de adesão no Grupo I, mesmo quando a quitosana é aplicada previamente ao sistema adesivo autocondicionante. No entanto, ao adicionar a quitosana no adesivo, a adesão permaneceu semelhante após o envelhecimento, porém menor, quando comparada aos outros dois grupos.

**Palavras-chave:** Cimentos dentários. Dentina. Envelhecimento. Resistência de materiais. Quitosana.

## ABSTRACT

Botelho, L.P. **IN VITRO STUDY OF BOND STRENGTH OF A SELF-ETCHING ADHESIVE SYSTEM WITH INCORPORATION OF CHITOSAN AFTER ARTIFICIAL AGING**. 2017. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós Graduação em Odontologia – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. 42p.

This study evaluated the microtensile bond strength of composite resin in bovine dentinal substrate after accelerated chemical aging in combination with an adhesive system modified chitosan concentration of 2.5%. Sixty healthy bovine tooth had their occlusal thirds and sectioned roots, and were randomly divided into three groups (n=60). Group I (control) – Acid attack + Clearfil SE Bond + Resin Z350 XT; Group II – Treatment with 2.5% chitosan + Clearfil SE Bond + Resin Z350 XT; Group III – Treatment with chitosan 2.5% incorporated into the dentin bonding + Resin Z350 XT. Specimens in stick shapes in each group were randomly divided into two subgroups and submitted to the degradation of the adhesive interface (without aging – the specimens were not subjected to aging; with aging – the specimens were immerse in 2,5% sodium hypochlorite for a period of twelve hours and then washed in distilled water for one hour. The groups were submitted to microtensile strength test in universal test machine at 0.5 mm/min until rupture. The data were evaluated by statistical analysis according to the found normal distribution (Parametric – ANOVA and Duncan complementary test  $p=0.05$ ). After the rupture, the specimens were evaluated in a stereomicroscope to evaluate the type of fracture.  $\mu$ TBS values were calculated in Mpa (without aging: G I:  $5,25\pm 1,69$ ; G II:  $5,52\pm 1,46$ ; G III:  $3,91\pm 1,21$ . With aging: G I:  $3,45\pm 1,29$ ; G II:  $2,75\pm 0,78$ ; G III:  $3,53\pm 1,33$ ) by means of the área of each resin-dentin stick. The statistical analysis showed that the aging and modifying factors of the adhesive decreased the adhesion ( $p=0.001$ ). As well, the interaction between the factors analyzed showed statistically significant diferences ( $p=0.002$ ). Adhesive fracture predominated in mosto f the groups. In conclusion, accelerated aging decreases adhesion strength in the G I, as even when the use of chitosan prior to self-etching adhesive system. However, when adding chitosan to the adhesive, adhesion remains similar after aging, but lower when compared to those with or withput aging.

**Keywords:** Aging. Chitosan. Dental cements. Dentin. Materials strength.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1A – Delimitação da dentina por meio de esmalte cosmético .....</b>	<b>42</b>
<b>Figura 1B – Confeção do corpo de prova com resina composta Z350 .....</b>	<b>42</b>
<b>Figura 2 – Confeção do palito de dentina + resina composta Z350 .....</b>	<b>42</b>
<b>Gráfico 1 – Tipos de fraturas .....</b>	<b>27</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1 – Médias e desvio-padrão dos grupos estudados quando submetidos ao teste de resistência à microtração .....</b>	<b>26</b>
---	-----------

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

-NHCOCH<sub>3</sub> – grupo amino

-OH – grupo hidroxila

CE – com envelhecimento

C2 – grupo carboxila

H<sup>+</sup> – íon hidrônio

K – potássio

Kgf – quilograma força

MEV – microscopia eletrônica de varredura

Min – minutos

mL – mililitros

mm – milímetros

mm<sup>2</sup> – milímetros quadrados

MMP – metaloproteinases

Mol/L – concentração molar por litro

MPa – megapascal

Na – sódio

NaOH – hidróxido de sódio

SE – sem envelhecimento

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>18</b>
<b>2.1 Objetivos Gerais</b> .....	<b>19</b>
<b>2.2 Objetivos Específicos</b> .....	<b>19</b>
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	<b>20</b>
<b>3.1 Preparo dos espécimes</b> .....	<b>21</b>
<b>3.2 Delineamento experimental</b> .....	<b>21</b>
<b>3.3 Preparo da solução de quitosana</b> .....	<b>22</b>
<b>3.4 Confeção dos palitos</b> .....	<b>22</b>
<b>3.5 Envelhecimento da interface adesiva</b> .....	<b>23</b>
<b>3.6 Ensaio de microtração</b> .....	<b>23</b>
<b>3.7 Análise dos dados</b> .....	<b>23</b>
<b>3.8 Análise dos padrões de fraturas</b> .....	<b>23</b>
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>25</b>
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	<b>28</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>33</b>
<b>7 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>35</b>
<b>8 FIGURAS</b> .....	<b>42</b>

## INTRODUÇÃO

---



## 1 INTRODUÇÃO

A adesão na Odontologia é definida como o processo pelo qual há a união dos materiais restauradores ao elemento dental. Essa união ocorre por meio da aplicação de um agente de ligação conhecido como sistema adesivo (NAKABAYASHI *et al.*, 1982). Desde então, os sistemas adesivos tornaram-se ferramentas indispensáveis na prática odontológica atual, sendo fundamentais para o sucesso das restaurações dentárias.

Os dentes humanos apresentam diferentes tecidos, cujas composições são distintas, o que faz com que os sistemas adesivos tenham diferentes comportamentos em dentina e esmalte (KOIBUCHI *et al.*, 2001; NARANJO *et al.*, 2015). O esmalte é composto por 85% em volume de mineral, na forma de cristais de hidroxiapatita e/ou fluorapatita, que estão organizados na conformação de prismas. A dentina, por sua vez, possui um substrato composto por componentes inorgânicos (70%), orgânicos (colágeno – 20%) e água (10%) (MAGALHAES *et al.*, 2009). Sendo assim, o processo de adesão ocorre de maneira distinta em cada um desses substratos dentários (BURROW *et al.*, 1994; PERDIGÃO *et al.*, 2004; DE MUNCK, 2004).

O tratamento com reabilitações bucais extensas envolve uma grande quantidade de perda de tecido dental, principalmente de esmalte. Tal método deixa a dentina como o substrato que ocupa a maior área exposta a ser restaurada, tornando o procedimento adesivo altamente sensível devido ao fato de ser um substrato intrinsecamente úmido, o que dificulta a união resina-dentina (BRACKETT *et al.*, 2008).

No momento em que o esmalte é perdido, a dentina e as fibras de colágeno que formam o substrato dentinário ficam expostas ao meio bucal, e inicialmente, essas fibras atuam como uma barreira mecânica à perda de minerais, associados a uma capacidade tampão (KLETER *et al.*, 1994; HARA *et al.*, 2005). Esta capacidade pode ser explicada devido à matriz orgânica atuar como uma membrana protetora suficiente para reduzir a desmineralização, retardando a perda de minerais e difusão de H<sup>+</sup> (ions de hidrogênio) para a dentina mais profunda (GANSS *et al.*, 2009; LUSSI *et al.*, 2011)

Além da dissolução mineral, a degradação enzimática do colágeno (GANSS *et al.*, 2004; SCHLUETER *et al.*, 2010) pode interferir na qualidade da rede de colágeno (SABATINI & PASHLEY, 2014). Isso reflete diretamente no sucesso das restaurações

com compósito, que são preferíveis por se basearem em abordagens minimamente invasivas (ATTIN & WEGEHAUPT, 2014), além de não serem solúveis em ácido (MILOSEVIC & JONES, 1996). A dentina também possui as metaloproteinases (MMP), que pertencem à classe dos colágenos de zinco e cálcio-dependentes, que têm a função de regular o metabolismo dos tecidos que contém o colágeno (CHAUSSAIN-MILLER *et al.*, 2006). Conseqüentemente, são capazes de degradar a matriz orgânica de dentina após a desmineralização, seja causada por lesões de cárie ou por ação de ácidos que estão envolvidos nos processos restauradores (PASHLEY *et al.*, 2004). Além disso, sua ação nas fibrilas de colágeno que estão expostas e na união material restaurador/dentina, é reconhecida atualmente como um importante mecanismo de degradação dessa interface (BRACKETT *et al.*, 2007; HEBLING *et al.*, 2005).

Na tentativa de melhorar a qualidade e longevidade de restaurações adesivas, estudos avaliaram a utilização de biopolímeros como a quitosana (FAWZY *et al.*, 2013; SHRESTHA *et al.*, 2011), para aumentar o número de ligações cruzadas entre as fibras colágenas e neutralizar as metaloproteinases da matriz. Contudo, o aumento gradual do teor de quitosana pode causar obliteração dos espaços fibrilares, afetando negativamente a ligação à dentina e tornando a concentração de quitosana um fator importante para qualquer aplicação posterior na odontologia adesiva (FAWZY *et al.*, 2013).

A quitosana é um polissacarídeo natural, proveniente da desacetilação da quitina (MUZZARELLI *et al.*, 1973). É totalmente biocompatível, biodegradável e atóxica (VENTER *et al.*, 2006), e tem sido utilizada como uma maneira de reforçar e estabilizar (BEDRAN-RUSSO *et al.*, 2007; SHRESTA *et al.*, 2011) o colágeno da dentina, uma vez que este biopolímero é capaz de produzir em matrizes proteicas, como a das fibras colágenas, arranjos microfibrilares (KUMAR, 2000) melhorando as propriedades mecânicas, como a longevidade das restaurações adesivas (PANDIT *et al.*, 2011; DASH *et al.*, 2011). A quitina está presente na composição estrutural do exoesqueleto de artrópodes (incluindo crustáceos e insetos), diatomáceas, algas e nas paredes celulares de alguns fungos que existem em abundância na natureza (AKNCBAY *et al.*, 2007).

A estrutura da quitina é promovida por um mucopolissacarídeo linear e insolúvel em água, estrutura muito semelhante à celulose em que o grupo hidroxila (-OH) da

posição C2 é substituído pela acetamina (-NHCOCH<sub>3</sub>) (KUMAR, 2000). Todo o processo de produção da

quitina envolve a remoção ácida do carbonato de cálcio e desproteinização em solução básica de hidróxido de Na ou K, tornando-se pouco solúvel e pouco reativa (KUMAR, 2000). Contudo, a estrutura pode ser modificada com a remoção de grupos de acetila por hidrólise química, e essa redução dos grupos acetilados resulta na quitosana (CONSTANTINE *et al.*, 2003).

Diante da necessidade de maior durabilidade dos procedimentos restauradores em dentina e da possibilidade de utilizar a solução de quitosana como inibidora de MMP, torna-se importante avaliar se a quitosana aplicada após o condicionamento ácido da dentina ou incorporada ao adesivo, interfere na resistência à microtração da interface dente – material restaurador. Sendo assim, o presente estudo avaliou o efeito da quitosana na concentração de 2,5%, na resistência à microtração de resina composta em dentina sadia.

## **OBJETIVOS**

---

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Entender o comportamento mecânico do substrato dentinário após a degradação das metaloproteinases por meio da utilização de quitosana previamente ou associada ao sistema adesivo, em ambiente de envelhecimento químico.

### **2.2 Objetivos específicos**

1. Visualizar os tipos de fratura obtidos após o ensaio mecânico.
2. Verificar o comportamento da interface adesiva após procedimentos de envelhecimento artificial químico;
3. Comparar o comportamento da interface adesiva com a quitosana quando aplicada antes ou quando incorporada ao adesivo;
4. Verificar o comportamento da quitosana a 2,5% aplicada previamente ou incorporada ao adesivo quando comparada ao grupo controle.



## **METODOLOGIA**

---

### **3 METODOLOGIA**

Sessenta incisivos bovinos hígidos, obtidos no frigorífico Mondelli, foram utilizados para confeccionar as amostras. Os dentes foram limpos e armazenados em água destilada à temperatura de 4°C para evitar que desidratassem. O número de dentes selecionados para esse estudo está de acordo com a norma ISO para ensaios de resistência à microtração (n = 10).

#### **3.1 Preparo dos espécimes**

Os terços incisais e as raízes dos dentes foram seccionados com disco diamantado (Struers A/S, Dinamarca), refrigerado com água em cortadeira metalográfica (Miniton, Struers A/S, Dinamarca). Em seguida, as superfícies dentinárias foram avaliadas com aumento de 40 X em lupa estereoscópica (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha), a fim de garantir que o esmalte tenha sido totalmente removido, e os dentes foram então armazenados em água destilada a 4°C por um período de 24 horas.

#### **3.2 Delineamento experimental**

Os corpos de prova foram isolados com esmalte cosmético ácido resistente, deixando uma área de aproximadamente 5 mm X 6 mm da superfície dentinária exposta, e então, foram aleatoriamente divididos por sorteio nos seguintes grupos com diferentes tratamentos a seguir:

Grupo 1 (controle): Clearfil SE Bond (Kuraray CO. LTDA, Umeda, Osaka Japão) + Resina Z350 XT cor A3,5 (3M Dental Products, St. Paul, MN, EUA).

Sobre a superfície preparada foi aplicado o adesivo autocondicionante de dois frascos, de acordo com o protocolo estabelecido pelo fabricante e a seguir os corpos de prova foram restaurados com resina composta, sendo confeccionado um platô de resina de aproximadamente 3 mm de altura, aplicando incrementos de 1 mm cada e fotopolimerizando (Fotopolimerizador Ultralux, Dabi Atlante S/A Ind. Médico Odontológicas, Ribeirão Preto, SP, Brasil) durante 20 segundos após cada inserção de modo contínuo.



Grupo 2: Tratamento com Quitosana 2,5% + Clearfil SE Bond (Kuraray CO. LTDA, Umeda, Osaka Japão) + Resina Z350 XT cor A3,5 (3M Dental Products, St. Paul, MN, EUA).

Na superfície do corpo de prova, foi aplicada a solução de quitosana com um pincel durante cinco segundos e removido o excesso de umidade com papel absorvente (URURAHY *et al.*, 2017). Posteriormente, a superfície foi preparada com o adesivo autocondicionante e restaurada com resina composta, como descrito no Grupo 1.

Grupo 3: Tratamento com quitosana 2,5% incorporada ao adesivo dentinário + Resina Z350 XT cor A3,5 (3M Dental Products, St. Paul, MN, EUA).

Sobre a superfície preparada foi aplicado o adesivo autocondicionante de dois frascos contendo a quitosana. Esta, foi incorporada ao adesivo pela professora responsável pela disciplina de materiais odontológicos, no laboratório de Biomateriais da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Em seguida, os corpos de prova foram restaurados com resina composta, como mencionado no Grupo 1. (Figuras 1A e 1B)

### **3.3 Preparo da solução de quitosana 2,5%**

Foram pesados 2,5 gramas de quitosana (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, EUA) de baixo peso molecular (75-85% de desacetilação) (CHUNG *et al.*, 2014) e adicionados lentamente a 100 mL de solução de ácido acético a 1%, sob agitação magnética (Marconi Equip. Lab. Ltda, Piracicaba, SP, Brasil) durante 20 minutos de agitação (tempo suficiente para solubilizar o polissacarídeo). A fim de evitar a agregação das partículas e elevar o pH da solução, foi adicionado 1 mol/L de solução de NaOH (FAWZY *et al.*, 2013).

### **3.4 Confeção dos palitos**

Durante 24 horas, os espécimes foram armazenados em água destilada a 37°C. Em seguida, cada grupo foi cortado, de maneira a obter palitos com uma área de secção transversal de 1 mm<sup>2</sup> aproximadamente, com o auxílio de uma cortadeira metalográfica (Minitom, Struers, Dinamarca) e disco diamantado sob refrigeração, série 15LC com espessura de 0,4 mm (Struers A/S, Copenhagen, Dinamarca). Após esta etapa, uma parte dos palitos foi submetida ao envelhecimento da interface adesiva. (Figura 2)

### **3.5 Envelhecimento da interface adesiva**

De acordo com o tempo de envelhecimento, os três grupos foram divididos em dois subgrupos (SE – sem envelhecimento e CE – com envelhecimento).

SE – Os espécimes não foram submetidos ao envelhecimento

CE – Os espécimes foram imersos em hipoclorito de sódio a 2,5% (Neon Comercial Ltda., São Paulo, Brasil) por doze horas e em seguida, deixados em água destilada durante uma hora (DE ALMEIDA *et al.*, 2015).

### **3.6 Ensaio de microtração**

A área transversal de cada palito foi medida com um paquímetro digital (Mitutoyo, Tokyo, Japão) e os espécimes foram fixados por suas extremidades, por meio de um adesivo à base de cianoacrilato e então submetidos ao teste de resistência à microtração (modelo Geraldeli). Os testes foram realizados em máquina de ensaios universal, sendo empregada uma velocidade de 0,5 mm/min, com uma célula de carga de 50 Kgf, onde os valores finais da resistência adesiva foram expressos em megapascal (MPa), calculados pelo programa de acordo com as áreas de secções transversais dos palitos. Foram incluídas na análise estatística e consideradas com valor de resistência igual a zero, as falhas pré-teste que ocorreram nos palitos selecionados.

### **3.7 Análise dos dados**

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk. Como a distribuição apresentou normalidade, foi utilizado o teste paramétrico pela análise de variância (ANOVA) e pelo teste complementar de Duncan, ao nível de significância de 5%.

### **3.8 Análise do padrão de fratura em lupa estereoscópica**

Após o teste de resistência adesiva, o operador foi calibrado por um pesquisador experiente e então, jmos espécimes foram avaliados em lupa estereoscópica (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha) com aumento de 40 vezes, a fim de analisar os padrões de fratura. As fraturas foram classificadas em: fratura adesiva (rompimento na interface dentina/adesivo ou adesivo/resina); fratura coesiva em dentina (rompimento da estrutura

dentínaria); fratura coesiva em resina (rompimento da resina) e fratura mista (presença de fratura em resina e dentina em um mesmo corpo de prova).

## **RESULTADOS**

---

## 4 RESULTADOS

Os dados foram submetidos ao teste de homogeneidade e foi verificada a normalidade dos grupos. Portanto, os valores foram analisados estatisticamente por meio da análise de variância (ANOVA), com nível de significância de 5% para dois fatores de variação: envelhecimento e tratamento superficial e a interação entre ambos. Observou-se haver diferenças estatisticamente significantes para ambos os fatores e interação significativa entre os mesmos, para  $p=0,001$  e  $p=0,002$  respectivamente.

Para as múltiplas comparações foi utilizado o teste de Duncan ( $p \leq 0,05$ ). A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa estatístico *software* SPSS para Windows, versão 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). As médias e desvio-padrão são apresentados na Tabela 1.

Foram obtidos em média 3 a 8 palitos por dente e os valores médios de resistência à microtração foram calculados por palito, sendo utilizados aproximadamente 45 palitos por grupo para o cálculo da média final e desvio padrão. As falhas pré-testes não foram incluídas na análise estatística.

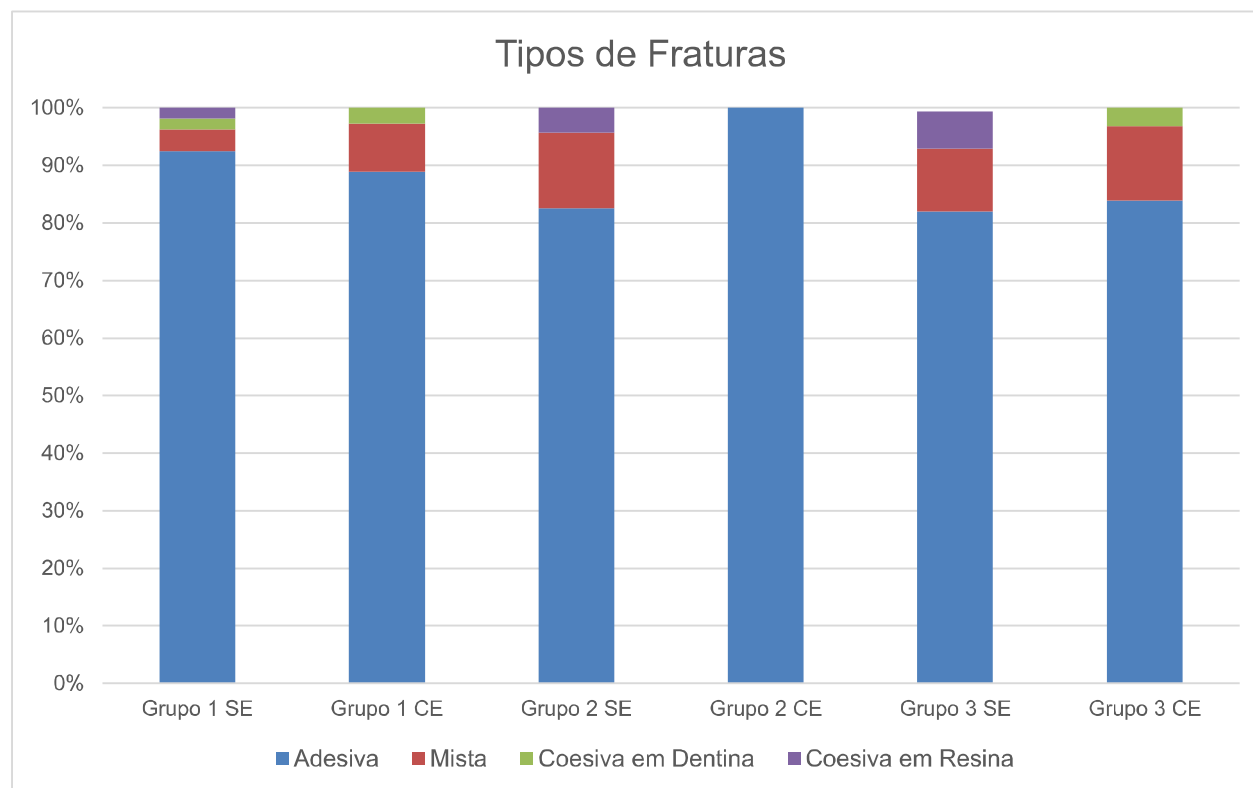
Tabela 1. Médias e desvio-padrão dos grupos estudados quando submetidos ao teste de resistência à microtração (MPa)

	Grupos		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Sem envelhecimento	5,25±1,69 <sup>a</sup>	5,52±1,46 <sup>a</sup>	3,91±1,21 <sup>b</sup>
Com envelhecimento	3,45±1,29 <sup>b</sup>	2,75±0,78 <sup>c</sup>	3,53±1,33 <sup>b</sup>

Após a realização do teste complementar de Duncan, observou-se que o procedimento de envelhecimento apresentou os menores valores de resistência adesiva quando comparados aos grupos que não foram envelhecidos, em todas as condições estudadas. Entre os grupos que receberam ou não o tratamento com o inibidor de metaloproteinases, o grupo sem quitosana apresentou valores maiores e semelhantes ao grupo em que a quitosana foi aplicada previamente ao sistema adesivo autocondicionante. No entanto, o grupo em que a quitosana foi manipulada de forma a ser parte do sistema adesivo, mostrou valores menores e estatisticamente significantes quando comparados os demais grupos sem envelhecimento.

Os padrões de fraturas foram analisados após o teste de microtração e observou-se o predomínio de fraturas adesivas em todos os grupos estudados (Gráfico 1).

**Gráfico 1.** Representa os dados percentuais dos tipos de fraturas. (Grupo 1 – sistema adesivo autocondicionante; Grupo 2 – solução de quitosana e adesivo autocondicionante; Grupo 3 – quitosana adicionada ao sistema adesivo autocondicionante. SE- Sem envelhecimento e CE – com envelhecimento)



**DISCUSSÃO**

---

## 5 DISCUSSÃO

As pesquisas em Odontologia restauradora procuram materiais adesivos que apresentem resultados eficientes e duradouros nas ligações com o tecido dentinário, principalmente quando há a incorporação de diferentes componentes em suas formulações.

Desde o aparecimento dos sistemas adesivos e as inúmeras modificações que este continua passando, há uma grande dificuldade no aumento da força de união entre as resinas compostas e o sistema dentinário, uma vez que o agente adesivo se baseia na eliminação da umidade para que haja a infiltração do *primer*/adesivo e formação da camada híbrida (HIGASHI *et al.*, 2009).

No agente adesivo, os componentes hidrofílicos são responsáveis por penetrar na matriz desmineralizada, com a função de remover por pressão a água existente, para que seja possível que os monômeros infiltrem nos espaços formados (KANCA *et al.*, 1992). No entanto, esses componentes promovem a formação de camadas permeáveis e muito sensíveis, principalmente à hidrólise, degradando as fibras de colágeno desnaturadas que não foram protegidas pelo monômero (YIU *et al.*, 2004). As fibras que permanecem desnaturadas pela ação do ataque ácido apresentam-se então, instáveis, passíveis de hidrólise e da ação de enzimas proteolíticas (MAZZONI *et al.*, 2013). Segundo Lehmann *et al.*, 2009, essas enzimas, quando presentes na matriz dentinária desmineralizada, são responsáveis pela desnaturação das fibras de colágeno.

Com a finalidade de minimizar o efeito da hidrólise, algumas substâncias com potencial de inibidor de enzimas que degradam toda a estrutura do colágeno foram estudadas (PASHLEY *et al.*, 2011; TJÄDERHANE *et al.*, 2013; RICCI *et al.*, 2014), principalmente as inibidoras de metaloproteinases como a clorexidina e a minociclina (GÖSTEMEYER & SCHWENDICK, 2016). Alguns estudos demonstraram que os inibidores de MMP podem reduzir a degradação das fibras de colágeno da camada híbrida, permitindo a formação de redes mais uniformes e protegidas (LI *et al.*, 2015). Mazzoni *et al.*, 2014, relataram que a preservação da matriz de colágeno pela inibição das MMP é crucial para melhorar a durabilidade e criar restaurações estáveis e de longa duração.



Os resultados obtidos nesse estudo demonstraram valores de resistência à microtração imediatos, estatisticamente iguais, quando comparando o grupo controle ao grupo em que a quitosana foi aplicada anterior ao sistema adesivo. No entanto, ao se incorporar a quitosana ao agente adesivo autocondicionante, os valores de resistência à microtração foram estatisticamente diferentes aos demais grupos estudados.

O potencial de inibição da atividade proteolítica serviu como hipótese para este presente estudo, por meio do tratamento da superfície dentinária com inibidores de metaloproteinases, realizado previamente à utilização do adesivo e pela incorporação da quitosana ao próprio sistema adesivo, associado ao processo de envelhecimento acelerado por meio da imersão em hipoclorito de sódio (DE ALMEIDA *et al.*, 2015).

De acordo com Elsaka 2012, ao incorporar concentrações mais altas de quitosana (0,5% e 1%) aos sistemas adesivos universais (Single Bond), os valores de resistência à microtração foram menores. Contudo, o mesmo autor verificou que menores concentrações de quitosana (0,12% e 0,25%) incorporadas ao sistema adesivo, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas nos valores de resistência à microtração quando comparados ao grupo controle.

A escolha da concentração de 2,5% foi por propiciar a formação de uma camada de fosfato de cálcio sobre a dentina (XU *et al.*, 2011), associado a um aumento na resistência do próprio substrato dentinário frente à degradação das metaloproteinases (SHERESTHA *et al.*, 2012). Além disso, Ururahy *et al.*, 2016 relataram que a concentração de 2,5% de quitosana não influenciou a molhabilidade do substrato dentinário, sugerindo que esse biopolímero pode ser utilizado para restabelecer a hidratação da matriz colágena.

Nesse estudo foi escolhido o adesivo dentinário autocondicionante de dois passos (ClearFil SE Bond – Kuraray) por ser considerado padrão ouro entre os adesivos autocondicionantes. Além de possuir maiores valores de força de adesão em dentina e não ser lavável, promovendo um controle maior da umidade e diminuindo a possibilidade de erro de técnica operatória (PASHLEY *et al.*, 1997). Conferindo também, dados de força de união mais confiáveis e duradouros quando comparados a outros adesivos.

A redução dos valores de resistência à microtração com envelhecimento desse estudo, corroboram com os encontrados por Deng *et al.*, 2014, que relataram que o

processo de envelhecimento reduz significativamente os valores de resistência à microtração no sistema dentina-resina, podendo ser explicado pelo ataque hidrolítico do hipoclorito de sódio que aumentou a desintegração do agente adesivo na interface dentina-resina (SATO & MIYAZAKI, 2005).

No entanto, para o grupo em que a quitosana foi incluída ao corpo do agente adesivo, os resultados encontrados após o envelhecimento foram semelhantes ao grupo sem envelhecimento, que pode ser devido à melhor dissolução dos constituintes da dentina, principalmente a parte inorgânica, e assim ocorreu uma melhor infiltração do agente adesivo ao redor do colágeno, formando uma camada híbrida mais uniforme e resistente à degradação química por envelhecimento (SATO *et al*, 2003).

Ururahy *et al.*, 2016 também verificaram por microscopia eletrônica de varredura (MEV), que a quitosana na concentração de 2,5% não apresentava partículas depositadas nos túbulos dentinários, o que pode justificar os valores de resistência à microtração do grupo 1 terem sido semelhantes ao grupo 2 sem envelhecimento.

Em função da observação e análise dos padrões de fraturas de todas as amostras por meio de lupa estereoscópica com aumento de 40X, pôde-se observar com certa facilidade os diferentes tipos de fraturas. A análise apresentou predomínio de fraturas adesivas em todos os grupos estudados, havendo um aumento do número de fraturas mistas no grupo 2 sem envelhecimento e no grupo 3 com envelhecimento, o que está de acordo em parte, com os valores de microtração encontrados nesse estudo, pois o adesivo aplicado posteriormente à quitosana apresentou os maiores valores de resistência à microtração (grupo 2 sem envelhecimento), demonstrando que o sistema proporcionou uma força de adesão tão forte que a interface se manteve mais íntegra. No entanto, o grupo 3 com envelhecimento não proporcionou os maiores valores de resistência à microtração, mas apresentou um aumento das fraturas mistas, demonstrando que o envelhecimento não interferiu na adesão da resina à dentina bovina.

Além disso, há necessidade da realização de mais estudos associando a quitosana aos sistemas adesivos autocondicionantes, principalmente *in vivo*, pois a utilização de inibidores de metaloproteinases é bem aceita na literatura, bem como a utilização dos agentes adesivos autocondicionantes pela facilidade da técnica e consequente redução no tempo de trabalho do cirurgião dentista.

**CONCLUSÃO**

---

## 6 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que o envelhecimento acelerado com hipoclorito de sódio a 2,5% diminui a resistência à microtração quando utilizada a quitosana previamente à aplicação do sistema adesivo autocondicionante. No entanto, ao utilizar a quitosana junto ao agente adesivo, a força de união permaneceu estatisticamente semelhante após envelhecimento acelerado.

## REFERÊNCIAS

---

## REFERÊNCIAS

AKNCBAY, H; SENEL, S; AY, ZY. **Application of chitosan gel in the treatment of chronic periodontitis.** J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2007 feb;80(2):290-6.

ATTIN, T; WEGEHAUPT, FJ. **Methods for assessment of dental erosion.** Monogr Oral Sci. 2014 jun;25:123-42.

BEDRAN-RUSSO, AK. et al. **Application of crosslinkers to dentin collagen enhances the ultimate tensile strength.** Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, v. 80, n. 1, p. 268-272, jan. 2007.

BRACKETT, WW. et al. **The effect of chlorhexidine in dentin hybrid layers in vivo.** Operative Dentistry, v. 32, n. 2, p. 107-111, mar/apr. 2007.

BRACKETT, WW. et al. **The effect of subject age on the microtensile bond strengths of a resin and a resin modified glassionomer adhesive to tooth structure.** Oper Dent. 2008 may-jun;33(3):282-6.

BURROW, MF; et al. **Early tensile bond strengths of several enamel and dentin bonding systems.** Journal of Dental Research, v. 73, n. 2, p. 522-528, fev. 1994.

CHAUSSAIN-MILLER, C. et al. **The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries.** Journal of Dental Research, v. 85, n. 1, p. 22-32, jan. 2006.

CHUNG, TW. et al. **Adenosine diphosphate-decorated chitosan nanoparticles shorten blood clotting times, influencing the structures and varying the mechanical properties of the clots.** Int J Nanomedicine. mar 2014. r 31;9:1655-64.

CONSTANTINE, CA. et al. **Layer-by-layer self-assembled chitosan/poly(thiophene-3-acetic acid) and organophosphorushydrolase multilayers.** J Am Chem Soc. 2003 feb 19;125(7):1805-9.

DASH, M. et al. **Chitosan-A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications.** Progress in Polymer Science. v. 36, n. 8, p.981-1014. aug 2011.

DE ALMEIDA, CG. **Influência do Laser de Er:YAG e da broca de cerâmica na microtração de um sistema adesivo autocondicionante em dentina desmineralizada após envelhecimento.** 2015. 67 f. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. FORP/USP. Ribeirão Preto, 2015.

DE MUNCK, J. et al. **Bonding of na auto-adhesive luting material to enamel and dentin.** Dental Materials, v. 20, n.10, p. 963-971, dec. 2004.

DENG, D. et al. **Effects of different artificial ageing methods on the degradation of adhesive-dentine interfaces.** J Dent. 2014 dec;42(12):1577-85.

ELSAKA, S; ELNAGHY, A. **Effect of addition of chitosan to self-etching primer: antibacterial activity and push-out bond strength to radicular dentin.** J Biomed Res. 2012 jul;26(4):288-94.

FAWZY, AS. et al. **Chitosan/Riboflavin-modified demineralized dentin as a potential substrate for bonding.** The Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, v. 17, p. 278-289, jan. 2013.

GANSS, C. et al. **Effect of two flurodation measures on erosion progression in human enamel and dentine in situ.** Caries Research, v. 38, n. 6, p. 561-566, nov/dec. 2004.

GANSS, C. et al. **Effects of toothbrushing force on the mineral content and demineralized organic matrix of eroded dentine.** European Journal of Oral Sciences, v. 117, n. 3, p. 255-260, jun. 2009.

GÖSTEMEYER, G; SCHWENDICKE, F. **Inhibition of hybrid layer degradation by cavity pretreatment: Meta- and trial sequential analysis.** J Dent. 2016 jun;49:14-21.

HARA, AT. et al. **Influence of the organic matrix on root dentine erosion by citric acid.** Caries Research, v. 39, n. 2, p. 134-138, mar/abr. 2005.

HIGASHI, C. et al. **Impact of adhesive application and moisture on the mechanical properties of the adhesive interface determined by the nano-indentation technique.** Oper Dent. 2009 jan-feb;34(1):51-7.

HEBLING, J. et al. **Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo.** Journal of Dental Research, v. 84, n. 8, p. 741-746, aug. 2004. Erratum in: Journal of Dental Research, v. 85, n. 4, p. 384, apr. 2005.

KANKA, J. **Improving bond strength through acid etching of dentin and bonding to wet dentin surfaces.** J Am Dent Assoc. 1992 sep;123(9):35-43.

KLETER, GA. et al. **The influence of the organic matrix on demineralization of bovine root dentin in vitro.** Effica. Journal of Dental Research, v. 75, n. 9, p. 1523-1529, sep. 1994.

KOIBUCHI, H; YASUDA, N; NAKABAYASHI, N. **Bonding to dentin with a self-etching primer: the effect of smear layers.** Dental Materials, v. 17, n. 2, p. 122-126, mar. 2001.

KUMAR, RMNV. **A review of chitin and chitosan applications.** Reactive and Functional Polymers, v. 46, n. 1, p.1–27, nov. 2000.



LEHMANN, N. et al. **Self-etching increases matrix metalloproteinase expression in the dentin-pulp complex.** J Dent Res. 2009 jan;88(1):77-82.

LI, H. et al. **Morphological effects of MMPs inhibitors on the dentin bonding.** Int J Clin Exp Med. 2015 Jul 15;8(7):10793-803.

LUSSI, A. et al. **Dental erosion – an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects.** Caries Res. v. 45 Suppl 1, p. 2-12. 2011. Epub May. Review. 2011.

MAGALHÃES, AC. et al. **Chlorexidine and green tea extrat reduce dentin erosion and abrasion in situ.** Journal of Dentistry, v. 37, n. 12, p. 994-998, dec. 2009.

MAZZONI, A. et al. **Carbodiimide inactivation of MMPs and effect on dentin bonding.** J Dent Res. 2014 mar; 93(3): 263–268.

MAZZONI, A. et al. **Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability.** J Dent Res. 2015 feb;94(2):241-51.

MILOSEVIC, A; JONES, C. **Use of resin-bonded ceramic crowns in a bulimic patient with severe tooth erosion.** Quintessence International, v. 27, n. 2, p. 123-127, fev. 1996.

MUZZARELLI, RA; ROCCHETTI, R. **The determination of molybdenum in sea water by hot grafite atomic absorption spectrometry after concentration on p-aminobenzylcellulose or chitosan.** Analytica Chimica Acta, v. 64, n. 3, p. 371-379, may. 1973.

NAKABAYASHI, N; KOJIMA, K; MASUHARA, E. **The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates.** Journal of Biomedical Materials Research, v.16, n.3, p. 265-73, may. 1982.

NARANJO, J; ALI, M; BELLES, D. **Comparison of shear bond strength of self-etch and self-adhesive cements bonded to lithium disilicate, enamel and dentin.** Texas Dental Journal, v. 132, n. 11, p. 914-921, nov. 2015.

OLIVEIRA, SSA. et al. **The influence of the dentin smear layer on adhesion: a self-etching primer vs. a total-etch system.** Dental Materials, v. 19. n. 8. p. 758-767. Dec. 2003.

PANDIT, AA; DASH, AK. **Surface-modified solid lipid nanoparticulate formulation for ifosfamide: development and characterization.** Nanomedicine (Lond), v. 6, n. 8, p. 1397-1412. Oct. 2011.

PASHLEY, DH; TAY, FR; IMAZATO, S. **How to increase the durability of resin-dentin bonds.** Compend Contin Educ Dent. 2011 Sep;32(7):60-4, 66.

PASHLEY, DH. et al. **Collagen degradation by host-derived enzymes during aging.** Journal of Dental Research, v. 83, n.3, p. 216-221, mar. 2004.

PERDIGÃO, J. et al. **Influence of acid etching and enamel beveling on the 6-month clinical performance of a self-etch dentin adhesive.** Compendium of Continuing Education in Dentistry, v. 25, n. 1, p. 33-34, jan. 2004. passim; quis 46-7.

RICCI, HA. et al. **Exposed collagen in resin bonds to caries-affected dentin after dentin treatment with aqueous and alcoholic chlorhexidine solutions.** J Adhes Dent. 2014 feb;16(1):21-8.

SABATINI, C; PASHLEY, DH. **Mechanisms regulating the degradation of dentine matrices by endogenous dentin proteases and their role in dental adhesion.** American Journal of Dentistry, v. 27, n. 4, p. 203-214, aug. 2014.

SATO, M; MIYAZAKI, M. **Comparison of depth of dentin etching and resin infiltration with single-step adhesive systems.** Journal of Dentistry. v. 33. n. 6. p. 475-484. jul. 2005.

SCHLUETER, N. et al. **Tin and fluoride as anti-erosive agentes in enamel and dentine in vitro.** Acta Odontologica Scandinavica, v. 68, n. 3, p. 180-184, may. 2010.

SHRESTHA, A; FRIEDMAN, S; KISHEN, A. **Photodynamically crosslinked and chitosan-incorporade dentin collagen.** Journal of Dental Research, v. 90, n. 11, p. 1346-1351, nov. 2011.

SHRESTHA, A; KISHEN, A. **Polycationic chitosan-conjugated photosensitizer for antibacterial photodynamic therapy.** Photochem Photobiol. 2012 May-Jun;88(3):577-83.

TJÄDERHANE, L. et al. **Strategies to prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer-A review.** Dent Mater. 2013 Oct; 29(10):999-1011.

URURAHY, MS. et al. **Wettability and surface morphology and eroded dentin treated with chitosan.** Arch Oral Biol. 2017, mar. 75:68-73.

VENTER, JP. et al. **Synthesis and evaluation of the mucoadhesivity of a CD-chitosan derivative.** International Journal of Pharmaceutics, v. 26, n. 313(1-3), p. 36-42, apr, 2006.

XU, Z. et al. **Biomimetic deposition of calcium phosphate minerals on the surfasse of partially demineralized dentine modified with phosphorylated chitosan.** J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2011 Jul;98(1):150-9.

YIU, CK. et al. **Effect of resin hydrophilicity and water storage on resin strength.** Biomaterials. 2004 Nov;25(26):5789-96.

## FIGURAS



**Fig.1A** – Delimitação da dentina por meio de esmalte cosmético



**Fig.1B** – Confeção do corpo de prova com resina composta Z350



**Fig.2** – Confeção do palito de dentina + resina composta Z350