

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
Faculdade de Odontologia
Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)

**Avaliação da resistência de união de sistemas adesivos
à dentina tratada com extrato de semente de uva**

Relatório Final

Apresentado à Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo, como requisito da disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso e para graduação no curso de Odontologia da Universidade de Passo Fundo.

Aluna - Eduarda Floriano de Oliveira
Orientador - Prof. Dr. Doglas Cecchin

Passo Fundo, junho de 2019

Sumário

1. TÍTULO	3
2. EQUIPE EXECUTORA	3
2.1. Aluno	3
2.2. Orientador	3
3. RESUMO	3
4. PROBLEMA DE PESQUISA	4
5. JUSTIFICATIVA	4
6. REVISÃO DE LITERATURA	5
7. OBJETIVOS	14
7.1. Objetivos gerais	14
7.2. Objetivos específicos	14
8. MATERIAIS E MÉTODOS	14
9. RESULTADOS	21
10. DISCUSSÃO	22
11. CONCLUSÃO	26
12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
13. AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DO ALUNO	31
14. ANEXOS	32

RELATÓRIO FINAL

1. TÍTULO

Avaliação da resistência de união de sistemas adesivos à dentina tratada com extrato de semente de uva.

2. EQUIPE EXECUTORA

2.1. Aluno

Nome: Eduarda Floriano de Oliveira

Matrícula: 147683

2.2. Orientador

Nome: Prof. Dr. Douglas Cecchin

Matrícula: 8388

3. RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a resistência de união de dois sistemas adesivos à dentina tratada com extrato de semente de uva (ESU). Para a realização do estudo foram utilizados 80 terceiros molares humanos que foram aleatoriamente divididos em 8 grupos (n=10). A porção coronária foi removida por meio de um corte aproximadamente 2 mm acima da junção cimento-esmalte de modo a expor a dentina. Os grupos controle foram restaurados de forma convencional utilizados os sistemas adesivos: *Scotch Bond Multi-purpose* e *Single Bond Universal*. Os demais grupos a dentina foi tratada com o extrato de semente de uva nas concentrações 30%, 50%, 70% por 1 minuto anteriormente aos procedimentos adesivos. Com os dentes restaurados, foram obtidos 20 palitos de cada grupo, os quais foram submetidos a teste de microtração. Os dados foram tabulados e submetidos à análise estatística ANOVA/Tukey ($\alpha=0,05$). Os resultados mostraram que para o sistema adesivo *Scotch Bond Multipurpose* não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e os grupos onde foi realizado o pré-tratamento da dentina com ESU,

independente da concentração de ESU utilizada ($P>0,05$). A aplicação do ESU nas concentrações de 30, 50 e 70% resultou em valores de resistência de união similares estatisticamente entre si ($P>0,05$) e que o grupo controle ($P<0,05$) quando o sistema adesivo *Single Bond Universal* fora utilizado. Pode-se concluir que, houve um aumento da resistência de união imediata após o uso de agentes de ligação cruzada com o ESU, independente da concentração, quando o sistema adesivo utilizado foi *Single Bond Universal*.

Palavras-chave: Extrato de Semente de Uva, adesivos, dentina.

4. PROBLEMA DE PESQUISA

Durante o restabelecimento da forma e função dental, causada pela perda da estrutura dental por cárie, a principal escolha atualmente são as restaurações diretas em resina composta. Para esse procedimento ser realizado, o ideal é que substrato dentinário apresente propriedades específicas, conferidas através de uma rede de colágeno resistente, insolúvel e que com estabilidade à longo prazo (Castellan, 2010).

A adesão ao substrato dentinário mostra-se como um desafio, pois depende da formação de uma camada híbrida compacta e homogênea. Essa camada é composta de fibrilas de colágeno da matriz da dentina desmineralizada incorporada com resina adesiva, as quais desempenham um papel fundamental nas ligações dentina-resina. Porém, a camada híbrida demonstra ser instável com o tempo, devido ser exposta frequentemente a fatores físicos e químicos, que resultam na degradação e desorganização das fibras colágenas, além da degradação dos componentes resinosos (Liu *et al.*, 2011).

5. JUSTIFICATIVA

Para melhorar as propriedades do substrato dentinário, a indução de ligações cruzadas de colágeno foi proposta como mecanismo para melhorar a estabilidade mecânica e reduzir as taxas de degradação do colágeno. Entre os produtos naturais que vem sendo utilizados estão as substâncias ricas em proantocianidinas, as quais já comprovaram ser bons agentes de ligações para colágeno (Kinney *et al.*, 2003).

O extrato de semente de uva (ESU), rico em proantocianidina, foi investigado em vários estudos como potencial agente para melhorar as propriedades mecânicas e

químicas da dentina desmineralizada e aumentar a sua resistência à degradação enzimática (Bedran-Russo *et al.*, 2013).

O ESU, demonstrou aumentar a resistência à degradação por colagenases da matriz orgânica dentinária, diminuíram a sorção de água na rede de fibras colágenas e aumentou a temperatura para que ocorra a desnaturação da matriz orgânica. Além disso, foi capaz de aumentar o módulo de elasticidade das matrizes orgânicas dentinárias (Castellan *et al.*, 2010.; Green *et al.*, 2010.; Castellan, 2010).

6. REVISÃO DE LITERATURA

A dentina é um tecido complexo mineralizado disposto através de um quadro tridimensional. Composta por 70% de mineral, 20% de matéria orgânica e 10% de água. Com a desmineralização as fibras colágenas mantem a forma e tamanho da dentina original. Entretanto, as moléculas que originam a rede de fibrilas colágenas, representam apenas 35% em peso, enquanto 65% da dentina é constituída pela parte mineral. Desta quantidade de matriz orgânica, 90% é representado pelo colágeno tipo I, que serve como um esqueleto para deposição mineral; 3% do tipo V, não tendo função definida, e o restante desta matriz são constituídas por proteínas não colágenas, fosfoproteínas e proteoglicanos (Castellan *et al.*, 2010; Bedran-Russo *et al.*, 2006). Os proteoglicanos, são fundamentais na mineralização dentinária e na integridade da forma das fibrilas colágenas. Também são responsáveis por manter a hidratação do tecido e na propagação das moléculas (Bedran-Russo *et al.*, 2014).

Na odontologia restauradora, o colágeno tipo I é responsável por fornecer uma série de papéis estruturais, como um esqueleto para a deposição mineralização e viscoelasticidade, dando origem a um biomaterial de preenchimento rígido e forte. Essas propriedades físicas do colágeno, deve-se as ligações cruzadas intermoleculares, base da estabilidade, resistência à tração e viscoelasticidade das fibrilas de colágeno (Castellan *et al.*, 2010).

A camada híbrida resulta da penetração de monômeros entre as fibras colágenas expostas pelo condicionamento, antes ou concomitante adição do *primer*/sistema adesivo. Em procedimentos restauradores, a formação e a qualidade de uma camada híbrida, desempenha um papel fundamental para criação de boas ligações dentina-resina. Assim, a estabilidade e manutenção do colágeno dentinário são críticas (Bedran-Russo *et al.*, 2007).

Grenn *et al.* (2010), realizaram um estudo com o objetivo de comparar as diferenças morfológicas de camada híbridas criadas por adesivos que apresentam em sua composição BIS-GMA / HEMA com e sem adição de extrato de semente de uva PA, expostos à degradação enzimática. Os adesivos formulados com e sem a PA a 5%, foram aplicados sobre a dentina condicionada. Assim, concluiu-se que a presença de extrato de semente de uva em adesivos dentários pode inibir a biodegradação de fibrilas de colágeno não protegidas dentro da camada híbrida.

Apesar das inovações em relação aos sistemas adesivos, a longevidade das restaurações pode ser afetada por fatores físicos e químicos. São considerados como fatores físicos, as forças mastigatórias e repetitivas tensões de expansões e contrações, devido à instabilidade térmica da cavidade bucal. Já entre os agentes químicos, destaca-se a degradação hidrolítica e enzimática, causada pela infiltração incompleta sobre a matriz condicionada do adesivo, fato que causa a exposição de fibras colágenas, levando a uma zona de deformação da resina. Fato considerado como uma das possíveis razões responsáveis pela durabilidade comprometida das ligações resina-dentina. Demonstrou-se também que a aplicação de processos de desmineralização por ácido, pode levar à ativação e ao aumento da expressão de MMP, aumentando o risco de quebra da camada híbrida recém-formada (Castellan, 2010.; Green *et al.*, 2010.; Spencer *et al.*, 2010.; Leme *et al.*, 2015.; Castellan *et al.*, 2013).

Além dessas maneiras que causam a degradação das restaurações ao longo do tempo, Pashley *et al.* (2004), verificou que a ação das enzimas proteolíticas derivadas da dentina do hospedeiro pode levar a degradação do colágeno ao longo do tempo. Nesse estudo, matrizes de dentina desmineralizadas foram armazenadas em dois grupos: em saliva artificial, e outro em saliva artificial com inibidores de enzimas proteolíticas ou em óleo puro. As únicas matrizes que se mantiveram foram as armazenadas em óleo, no restante ocorreu uma grande degradação.

Carrilho *et al.* (2005), estudaram a longo prazo do tempo de condicionamento das restaurações, utilizando dois sistemas adesivos, um a base de água e etanol (*Single Bond*), e outra à base de acetona (*One Step Bond*), os mesmos foram armazenados durante 6 meses ou 1 ano em água destilada ou óleo mineral. O estudo demonstrou que houve reduções significativa na resistência de união após ambos os períodos de armazenamento em água para todos os materiais. Já nos espécimes armazenados em óleo as forças de ligação foram preservadas.

Os tipos de sistemas adesivos empregados, também podem influenciar na adesão dentinária, pois mesmo com diversas melhorias sendo realizadas, a área ligada continua sendo a região responsável por falhas em restaurações. Os sistemas adesivos atuais são classificados, conforme o tratamento da *smear layer* e técnicas de aplicação (Filho *et al.*, 2014). Uma das formas é a remoção da *smear layer* (condicionamento total), podendo ser de três ou 2 passos, a outra forma é mantendo-a como substrato para a ligação (autocondicionantes), que podem ser utilizados de dois ou um passo (Baratieri *et al.*, 2013).

Com o objetivo de avaliar a interface adesiva após o envelhecimento, Breschi *et al.* (2007) realizou um estudo, através de uma discussão crítica dos últimos relatórios relacionados à formação envelhecimento e estabilidade de ligação de resina, em relação a degradação da interface adesiva. Através desse estudo, foi possível concluir, quanto mais simplificado o sistema adesivo menos durável ele se apresenta, enquanto os sistemas de condicionamento total, de 3 ou de 2 passos apresentam os melhores resultados nos estudos avaliados.

Já na revisão realizada por Dib Arinelli *et al.* (2016), possuía como objetivo analisar os mais recentes desenvolvimentos em relação aos sistemas adesivos. A seleção de artigos foi realizada através das bases de dados *LILACS* e *PubMed/MEDLINE*. A amostra final foi composta por 22 estudos publicados entre 2003-2016. Como resultado, atualmente no mercado os sistemas adesivos podem ser classificados como convencionais ou autocondicionantes. Como novidade houve o surgimento dos sistemas denominados universais, os quais podem ser aplicados tanto pela técnica convencional como da forma autocondicionantes. O estudo sugere que os adesivos universais não apresentam uma performance diferente daquelas apresentadas por gerações anteriores de adesivos convencionais e autocondicionantes.

Kose *et al.* (2013), apresentou um relato de caso com a aplicação clínica de um novo sistema adesivo considerado universal. As restaurações de lesões cervicais não cariosas foram realizadas testando as várias possibilidades de aplicação do adesivo Single Bond Universal, ou seja, aplicando o ácido fosfórico em toda a cavidade e deixando a dentina seca ou úmida; aplicando o ácido fosfórico apenas no esmalte, ou aplicando apenas o adesivo sem a utilização do ácido fosfórico. Essas restaurações foram avaliadas após seis meses. Conclui-se que esse novo sistema adesivo demonstrou excelente desempenho clínico, independente das estratégias propostas.

Perdigão *et al.* (2014) e Mena-Serrano *et al.* (2013) também realizaram um estudo com o objetivo de avaliar o desempenho clínico de 06 e 18 meses de um adesivo (*Scotchbond Universal Adhesive, SU, 3M ESPE, St Paul, MN, EUA*) em lesões cervicais não cariosas, utilizando dois critérios de avaliação. Participaram deste estudo 39 pacientes, duzentas restaurações foram distribuídas em quatro grupos: ER *m*, etch-and-enxaguar + úmido; ER *d*, condicionar e enxaguar + dentina seca; S *et*, etching Dseletivo do esmalte; e SE, autocondicionante. A resina composta *Filtek Supreme Ultra (3M ESPE)* foi colocada de forma incremental. As restaurações foram avaliadas no início do estudo e aos 06 e 18 meses, utilizando os critérios da *World Dental Federation (FDI)* e do Serviço de Saúde Pública dos Estados Unidos (USPHS). Chegou-se à conclusão que o comportamento clínico de 06 e 18 meses da *Scotchbond Universal Adhesive (3M ESPE)* não depende da estratégia de colagem utilizada. Esse sistema adesivo, cumpriu os critérios da ADA para aprovação total ao usar todas as estratégias de colagem sugeridas pelo fabricante.

O fortalecimento e estabilidade da matriz dentinária como substrato, é conseguido através do aumento do número de ligações cruzadas interfibrilares e intrafibrilares no colágeno tipo I. A indução de ligações cruzadas, podem ser alcançadas por meio de alguns métodos: métodos físicos, métodos químicos sintéticos, ou ainda agentes indutores naturais. Os físicos consistem na secagem, envelhecimento, ou irradiação com raios ultravioleta ou gama. Os métodos químicos sintéticos os aldeídos, carbodiamidas e ácido crômico. Porém, busca-se por agentes que não sejam tóxicos ao organismo. Com isso os agentes naturais de ligações cruzadas são os indicados para melhorar essas propriedades da dentina, além de demonstrarem efeitos como: atividades antibacterianas, antivirais, anticancerígenas e anti-inflamatórias e apresentarem nenhuma citotoxicidade até que a concentração se aproxime 200 µg / mL (Castellan, 2010.; Yourdkhani *et al.*, 2017; Han *et al.*, 2003).

Vários agentes naturais indutores de ligações cruzadas, provam ser bons para melhorar as propriedades do colágeno. Entre eles pode-se citar: genipin (GE), e produtos à base de proantocinidinas (PA), produto natural polifenólico, composto por subunidades de flavan-3-ol ligadas principalmente através de ligações C4-C8 (ou -C6) presentes frutas, vegetais, nozes, sementes e flores (Al-ammar *et al.*, 2009.; Liu *et al.*, 2011.; Castellan *et al.*, 2010). Extrato de semente de uva, rico em proantocinidina foi investigado como potencial agente de ligação do colágeno, para melhorar as

propriedades mecânicas da dentina desmineralizada e aumentar a resistência à digestão enzimática, aumentar as propriedades das ligações entre as interfaces resina-dentina, além de estender a sobrevida das restaurações. (Liu *et al.*, 2011.; Castellan *et al.*, 2013).

Para melhorar a estabilidade da dentina, Castellan *et al.* (2010), avaliou o pré-tratamento do colágeno, usando agentes de ligações cruzadas naturais ricos em proantocianidina (PA) melhorariam as propriedades mecânicas, assim conferiam mais resistência e substrato duradouro para restaurações adesivas. Foram usados extratos à base de proantocinidina de semente de uva (GSE), semente de cacau (CSE), cranberry (CRE), a canela (CNE) e açaí berry (ACE) foram aplicadas sobre a dentina desmineralizada. Chegou-se à conclusão que agentes naturais de ligações cruzadas do colágeno são capazes de aumentar o módulo de elasticidade de dentina desmineralizada. Os extratos à base de proantocianidina foram capazes de manter a rigidez de matrizes de colágeno constantes ao longo de 12 meses.

Liu *et al.* (2011) realizaram um estudo que utilizou pré-condicionadores à base de proantocianidina, os quais preparados por adição de (ESU) rico em proantocianidina em pó para vários solventes em diferentes concentrações: 5, 10 e 15%. Os espécimes dentinários desmineralizados foram pré-condicionados para 20, 30, 60 ou 120 s, seguida pela avaliação do grau de ligação, das propriedades mecânicas e da micromorfologia. O tratamento transitório com pré-condicionadores à base de PA, aumentou o grau de ligações cruzadas do colágeno e a resistência coesiva da dentina desmineralizada. As mudanças na matriz dentinária, após o tratamento foram dependentes da concentração e do tempo. Assim o uso de agentes naturais de ligações cruzadas do colágeno, durante procedimentos restauradores adesivos, pode ser uma abordagem potencial para melhorar a resistência da união dentinária.

Bedran-Russo *et al.* (2013) avaliou as propriedades mecânicas da matriz dentinária em dentes cariados não cavitados e o efeito após o tratamento da dentina em três zonas distintas próximas a lesão de cárie. Os agentes de ligação utilizados para a biomodificação da matriz dentinária foi: glutaraldeído, proantocinidinas e carbodiimida. Houve um aumento de 30 vezes, 2 vezes, e 2,2 vezes do módulo reduzido de elasticidade, seguindo a aplicação as áreas dentinárias com proantocinidina, carbodiimida e glutaraldeído, respectivamente.

Além disso, o fortalecimento das fibrilas de colágeno por agentes de ligações cruzadas pode aumentar as propriedades mecânicas e diminuir a degradação enzimática. Assim, pode ser uma aplicação importante na odontologia restauradora (Bedran-Russo *et al.*, 2006).

Castellan *et al.* (2013) investigou a resistência a longo prazo, da ligação resina-dentina, após o tratamento com agentes naturais rico em (PA). Foram utilizados 40 molares, na dentina exposta foi realizado o condicionamento e tratamento durante 10 minutos. Foram testadas as soluções de 6,5% de extrato de semente de uva (GSE), 6,5% de extrato de semente de cacau etanol-água (CSE-ET), 6,5% de extrato de semente de cacau acetona-água (CSE- AC) e água destilada (CO). Os sistemas adesivos utilizados foram *One-Step Plus* (OS) ou *Adper Single-Bond Plus* (SB). A resistência de união foi avaliada nos períodos de 3, 6 e 12 meses. Foi possível concluir que os agentes GSE e CSE-ET proporcionaram adesão e estabilização imediata aprimoradas à dentina desmineralizada após o armazenamento a longo prazo, dependendo do sistema adesivo.

Leme *et al.* (2015) estudou o efeito da modificação química da matriz dentinária sobre a molhabilidade e o módulo de elasticidade reduzido (E_r) de longo prazo das interfaces adesivas. Entre as soluções testadas estava 6,5 de (ESU) rico em PA, os (PACs). Os sistemas adesivos utilizados foram *One Step Plus* (OS), e *Single Bond Plus* (SB). Nesse estudo, foi possível concluir que a biomodificação da dentina, diminui a hidrofobicidade da superfície dentinária, o que contribui para melhores propriedades mecânicas. Os efeitos dessa modificação são duradouros, diminuindo a degradação das interfaces adesivas. Os PACs, aumentaram significativamente o E_r imediato, sendo estável a longo tempo. Também aumentou o E_r da SB, após 30 meses.

Através do estudo Bedran-Russo *et al.* (2006) tinha como objetivo avaliar o efeito de três agentes de ligação cruzada do colágeno na resistência coesiva (UTS) da dentina desmineralizada e não desmineralizada. Pode-se chegar à conclusão que os dois agentes naturais, isto é, PA e GE, aplicados no colágeno dentinário melhorou significativamente a UTS, indicando seu valor potencial na odontologia restauradora.

Outro estudo, Castellan (2010), observou através de três extratos a base de proantocinidina a interação com a matriz dentinária. Como resultado, o tratamento da dentina, aumentou significativamente o módulo de elasticidade, além de mostrar que diferentes solventes, mostraram diferenças na solubilidade. Os maiores resultados no aumento do módulo de elasticidade, foram demonstrados quando os extratos (GE) foram diluídos em água destilada, por 4 horas de tratamento. Além disso, Castellan (2010)

mostrou que o ESU em uma concentração de 30 % por 1 minuto, resultou em aumento dos valores de resistência de união e estabilidade após 6 meses.

Gré *et al.* (2018) investigou a ação de três agentes de ligação na tenacidade à fratura mini-interfacial (mini-iFT) de quatro adesivos colados à dentina seguindo os modos etch & rinse (E & R) ou autocondicionante (SE). Foram utilizados 60 molares, os quais foram divididos aleatoriamente de acordo com as três variáveis: cross-linker, adesivo e modo de colagem (n = 5). Como agentes de ligação foram usados glutaraldeído (5 % em peso; GA), proantocianidina (6,5 % em peso; PA) ou ribavilavina ativada por UVA (0,5 % em peso; RB) e água destilada (controle) foram aplicados na dentina por 60 s (E & R) ou antes do autocondicionamento (SE). Os sistemas adesivos foram aplicados de acordo com as instruções do fabricante. Foi possível observar que apenas para o PA foi capaz de manter estável o mini-iFT após 6 meses de envelhecimento. Já os outros dois agentes de ligação não se mostraram eficientes para a estabilidade entre resina-dentina.

Liu *et al.* (2013) testaram a capacidade das PA presente no (ESU) para melhorar a sustentabilidade do colágeno em um ambiente enzimático. A dentina foi seccionada em películas de 6 µm. Após a desmineralização da dentina com ácido fosfórico 35%, durante 15 segundos, as películas foram submetidas ao tratamento com PA de 0% (controle), 0,5%, 1%, 2%, 3,75%, 7,5% e 15% por 30 segundos. Após foram submetidos a digestão enzimática em 0,1% em peso de colagenase durante 1 h e 24 h. Conclui-se que o tratamento com 2% em peso ou mais de PA concentrado durante 30 segundos, protege o colágeno dentinário contra a degradação enzimática.

Seseogullari-Dirihan *et al.* (2016), avaliaram a atividade da metaloproteinases da matriz endógena (MMP) da matriz de dentina desmineralizada após zimografia de 1 ou 5 zimografias de gelatina e tecnologia multiplex bead para avaliar a atividade da MMP ligada à matriz. Foi utilizado seis agentes de ligação diferentes; glutaraldeído, riboflavina / UVA, riboflavina-5-monofosfato / UVA, extrato de sumagre, extrato de semente de uva e cúrcuma. Feixes de dentina desmineralizados foram pré-tratados com respectivos agentes de reticulação para 1 ou 5 zimografia e avaliados usando hidrólise de gelatina conjugada com fluoresceína auto-extinguida sob microscopia confocal. Foi possível observar que a atividade de MMP em amostras pré-tratadas com diminuiu significativamente entre 21% e 70%, já as das amostras de controle não tratadas aumentou até 84%. Assim, foi possível concluir que o uso de agentes de ligação por

menos de 1 minuto na dentina desmineralizada pode inativar a atividade protease endógena das matrizes de dentina.

Tang *et al.* (2013) realizaram um estudo com o objetivo de investigar se substancias ricas em proantocinidinas possuíam poder de remineralização sobre a dentina desmineralizada com ácido, semelhante a condição de cárie. Para esse estudo, os espécimes de dentina foram condicionados por ácido por 30 s, após tratadas usando pré-condicionadores à base de proantocianidina (em diferentes concentrações e valores de pH) por 2 min, seguidos por um regime de remineralização artificial de 15 dias. Este estudo obteve como resultado que o GSE promoveu remineralização na superfície da dentina desmineralizada, sendo influenciado pelo valor de concentração e pH do condicionador. O tratamento com o GSE na concentração de 15%, sem ajuste de pH, apresentou os melhores resultados.

Sousa *et al.* (2016) avaliaram o efeito de diferentes *primers* experimentais, entre eles uma substancia rica em proantocinidina, sobre a atividade enzimática e propriedades adesivas de interfaces dentina-resina a partir de restaurações oclusais classe I sob carga cíclica simulada. Foi possível constatar que o uso do primer e-GSE apresentou inativação completa (100%) do rMMP-2 nos dois tempos testados. Além disso, chegou-se ao resultado que o uso de *primers* experimentais diminuiu a atividade enzimática na interface dentina-resina após carga cíclica e rMMPs-2 inativada-2 e 9. Assim, os *primers* experimentais podem reduzir *in vitro* a atividade proteolítica na interface dentina-resina.

Com o avanço da biologia molecular, os polímeros estão ganhando interesse nas áreas da saúde. Por apresentarem características como estabilidade, propriedades de membranas ajustáveis, versatilidade e deslocamento de substancias hidrofílicas e hidrofóbicas. As forças estão se dirigindo para criação de polímero que sejam sensíveis a estímulos, de forma reversível e irreversível. Assim pode ser eficaz para tratamentos, reduzindo efeitos indesejados (Meng *et al.*, 2009).

Yourdkhani *et al.* (2017) estudou maneiras para manter a bioatividade de extratos ricos em plantas ricas em proantocianidinas através da encapsulação em microcápsulas de polímero biodegradáveis. Foi utilizado como matéria na microcápsula o Polylactide (PLA), no interior foi adicionado extrato de semente de uva (GSE), fabricados pela união da técnica de emulsão dupla e evaporação do solvente. A bioatividade dos extratos foi avaliada após a extração das cápsulas via partição de solvente, uma semana ou um ano pós-encapsulamento. Foram utilizados 15 molares

humanos desmineralizados e os grupos estudados como tratamento foram: GSE encapsulado, GSE original e não tratado. Observou-se que a bioatividade dos extratos foi preservada após a microencapsulação. Assim, sendo de grande relevância clínica, pois com o micro encapsulamentos dos agentes naturais pode proporcionar a entrega por maior tempo na interface dentina-resina, reforçando o colágeno, proporcionando maior vida útil às restaurações.

Aydin *et al.* (2019), investigou os extratos de PAC selecionados com base na diversidade estrutural para buscar os principais fatores de PAC que favorecem os efeitos nas matrizes de dentina durante um período de 18 meses. Os extratos utilizados foram de *Pinus massoniana* (PM), de *Cinnamomum verum* (CV) e de *Hamamelis virginiana* (HV), assim como de *Vitis vinifera* (VV). As matrizes de dentina (n = 15) molares humanos foram preparados para determinar o módulo aparente de elasticidade ao longo de 18 meses de envelhecimento. A resistência contra a degradação a longo prazo foi observada em todos os grupos experimentais; no entanto, a biomodificação dentinária mais potente e duradoura resultou de PACs não-galoiladas. Porém quando comparado o módulo de elasticidade, foi mostrado as fontes de PACs gaioladas possuem maior potencial para aumentar a ligação cruzada dentina, logo após o tratamento e também apresentou maior efeito estabilizador de colágeno contra a degradação proteolítica bacteriana.

De Carli *et al.* (2018), investigou os efeitos do extrato rico em proantocianidina (extrato de semente de uva, GSE; *Vitis vinifera*) sobre as propriedades mecânicas da matriz dentinária desmineralizada, a resistência de união e estabilidade da adesão de pinos de fibra à dentina radicular. Foram utilizados feixes de dentina desmineralizada (n = 15), as quais foram incubadas com GSE a 6,5% ou 10% por 30, 60 ou 120 s. O módulo de elasticidade (E) e a resistência de união foram determinados através da comparação dos espécimes antes e após o tratamento. Para o teste de resistência de união, os grupos foram divididos aleatoriamente em sete grupos: grupo controle, sem tratamento; e os grupos experimentais como descritos para o módulo de elasticidade. Os pinos de fibra foram cimentados com o *RelyX U200*. Cada grupo foi dividido aleatoriamente em dois subgrupos: os quais foram armazenados em água 24 horas e 12 meses. As raízes foram seccionadas transversalmente nas regiões coronal, média e apical, obtendo feixes de dentina de 1 mm de espessura, após o teste de *push-out* foi realizado. Os resultados mostraram que a concentração de GSE (10%) apresentou alto potencial de ligação para a matriz extracelular da dentina. Além disso, a resistência de

união dos pinos de fibra cimentados à dentina radicular com *RelyX U200*, permaneceu estável após 12 meses de armazenamento com ou sem pré-tratamento do GSE.

7. OBJETIVOS

7.1. Objetivos gerais

Avaliar a resistência de união de dois sistemas adesivos à dentina tratada com extrato de semente de uva.

7.2. Objetivos específicos

Avaliar a resistência de união utilizando dois sistemas adesivos: *Scotch Bond Multi-purpose* e *Single Bond Universal* entre as interfaces resina/dentina, após o tratamento do substrato com extrato de semente de uva (GSE) nas concentrações 30%, 50% e 70%.

Hipóteses em estudo: todas as concentrações testadas aumentarão os valores de resistência de união da resina à dentina.

8. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo teve a aprovação do Comitê de Ética, através do parecer número 2.435.496 (Anexo 1).

8.1 – Materiais

8.1.1 Dentes

Foram utilizados 80 terceiros molares humanos hígidos, armazenados em freezer, para manter a matriz dentinária íntegra. Os dentes ficaram armazenados por no máximo 6 meses.

8.1.2 Concentrações que serão testadas do extrato de semente de uva (ESU).

- ESU - 30%
- ESU - 50%
- ESU - 70%

8.1.3 Materiais Restauradores

8.1.3.1 Sistema adesivo

- *Scotch Bond Multi-purpose* (3M ESPE, St. Paul, EUA) (Fig. 1A).

- *Single Bond Universal* (3M ESPE, St. Paul, EUA) (Fig. 2A).



Figura 1. Sistemas Adesivos utilizados neste estudo. (A); *Scotch Bond Multi-purpose*; (B) *Single Bond Universal*

8.1.3.2 Resina Composta

- Resina Composta Opallis (FGM, Santa Catarina, Brasil) (Fig. 2A)



Figura 2. Resina Composta Opallis

8.2 - MÉTODOS

8.2.1 Preparo dos dentes

Foram utilizados 80 terceiros molares humanos hígidos (Fig. 3A). Os dentes foram limpos para remoção de tecidos e *debris* com curetas periodontais e discos de borracha. Após as superfícies oclusais foram removidas com o auxílio de um disco diamantado dupla face (*Buehler, Lake Bluff, IL, EUA*) (Fig. 3B), expondo dentina coronária 2mm acima da junção amelodentinária (Fig. 3C). As superfícies dentinárias

foram lixadas com lixa de granulação #600, sob refrigeração, para obtenção da *smear layer* padronizada.

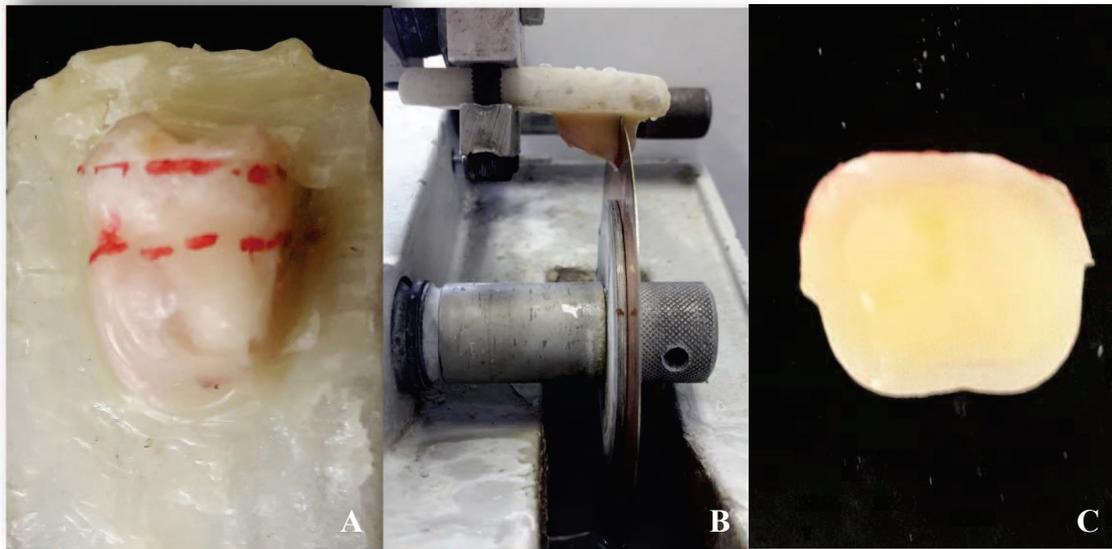


Figura 3. Preparo das amostras. (A) Molar hígido fixado na placa de acrílico; (B) Superfícies oclusais sendo removidas com o auxílio de um disco de diamante dupla face; (C) dentina coronária exposta.

8.2.2 – Divisão dos grupos experimentais

Logo após o condicionamento ácido com ácido fosfórico 37%, (Fig. 4A; 4B), os dentes foram divididos aleatoriamente em 8 grupos ($n = 10$), ilustrados através do fluxograma a seguir (Fig. 7).

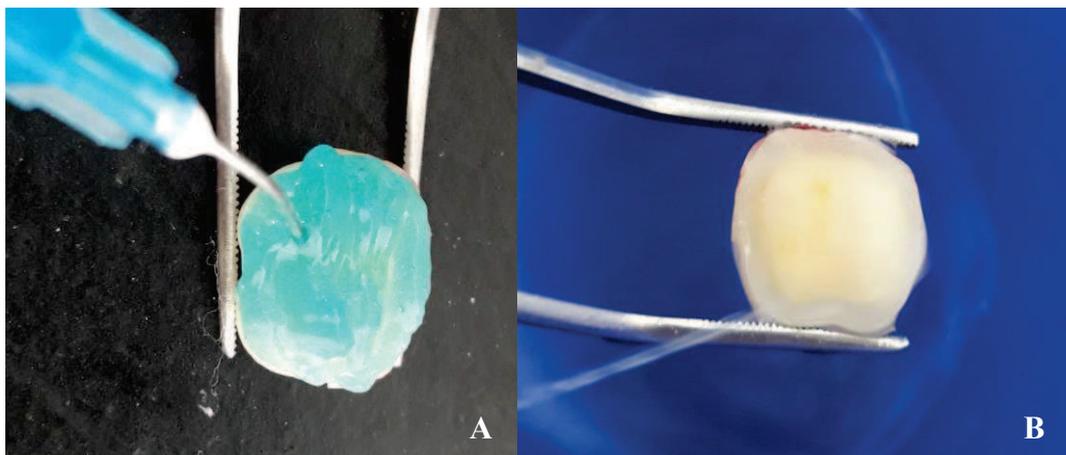


Figura 4. Procedimento Restaurador. (A) Condicionamento do elemento dental com ácido fosfórico, 15 segs. em dentina e 30 segs. esmalte; (B) Lavagem do ácido por 1 minuto com água destilada.

Grupo 1 (Controle, $n=10$): sistema adesivo *Scotch Bond Multi-purpose*, foi feito a aplicação do *primer* 2 vezes, por 20 segundos sobre a superfície dentinária, sempre friccionado e removendo os excessos, seguidos de leves jatos de ar. Em seguida,

foi aplicado uma película de água destilada até cobrir toda a superfície da dentina exposta, com o auxílio de uma seringa de 2,5 ml, após feita a aplicação do adesivo, 2 vezes, friccionado sobre a dentina úmida removendo os excessos e após feita a fotopolimerização por 20 segundos.

Grupo 2 (Controle, n=10): foi aplicado uma película de água destilada até cobrir toda a superfície de dentina exposta, com o auxílio de uma seringa de 2,5 ml, em seguida foi aplicado o adesivo *Single Bond Universal* durante 20 segundos, de forma ativa e logo um leve jato de ar por 5 segundos, fotopolimerização durante 20 segundos.

Grupo 3: 30% ESU (n=20): após o condicionamento ácido, tratamento da dentina com ESU 30% por 1 minuto (Fig. 5A); em seguida lavagem com água destilada (Fig. 5B) e aplicação do respectivo sistema adesivo, sobre a dentina úmida.

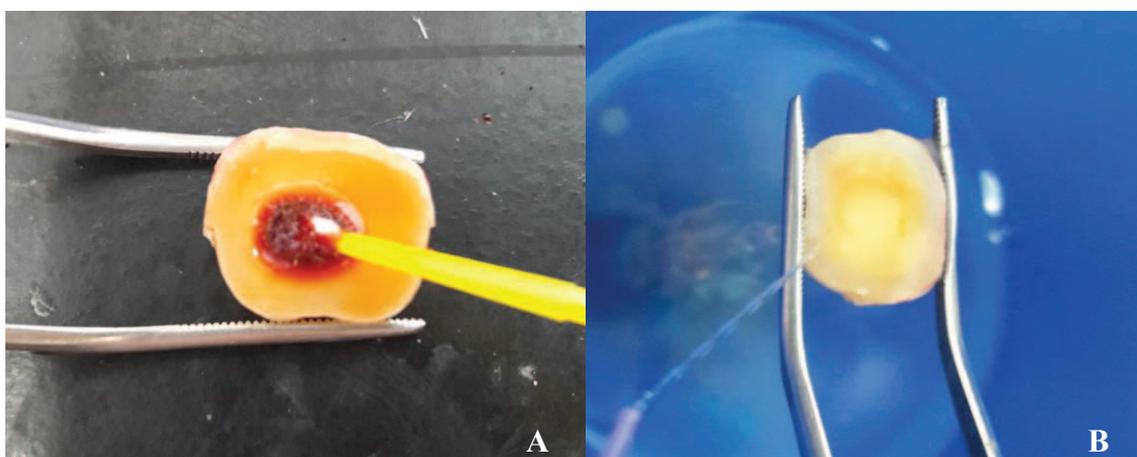


Figura 5. Aplicação do ESU na dentina. (A) Tratamento da dentina com ESU 30% por 1 minuto; (B) Lavagem do ESU por 1 minuto com água destilada.

Grupo 4: 50% ESU (n=20) – mesmo procedimento do grupo anterior, no entanto o ESU será utilizado em uma concentração de 50%.

Grupo 5: 70% ESU (n=20) - mesmo procedimento do grupo anterior, no entanto o ESU será utilizado em uma concentração de 70%.

Nos grupos 3, 4 e 5 posteriormente ao tratamento dentinário os dentes foram subdivididos em dois subgrupos de acordo com o sistema adesivo à ser utilizado: *Scotch Bond Multi-purpose* (Fig. 6A) *Single Bond Universal* (Fig. 6B).



Figura 6. Após o condicionamento ácido, tratamento da dentina com ESU, nas concentrações 30, 50 e 70% por 1 minuto (Fig. 6A); em seguida lavagem com água destilada (Fig 6B) e aplicação do respectivo sistema adesivo, sobre a dentina úmida.

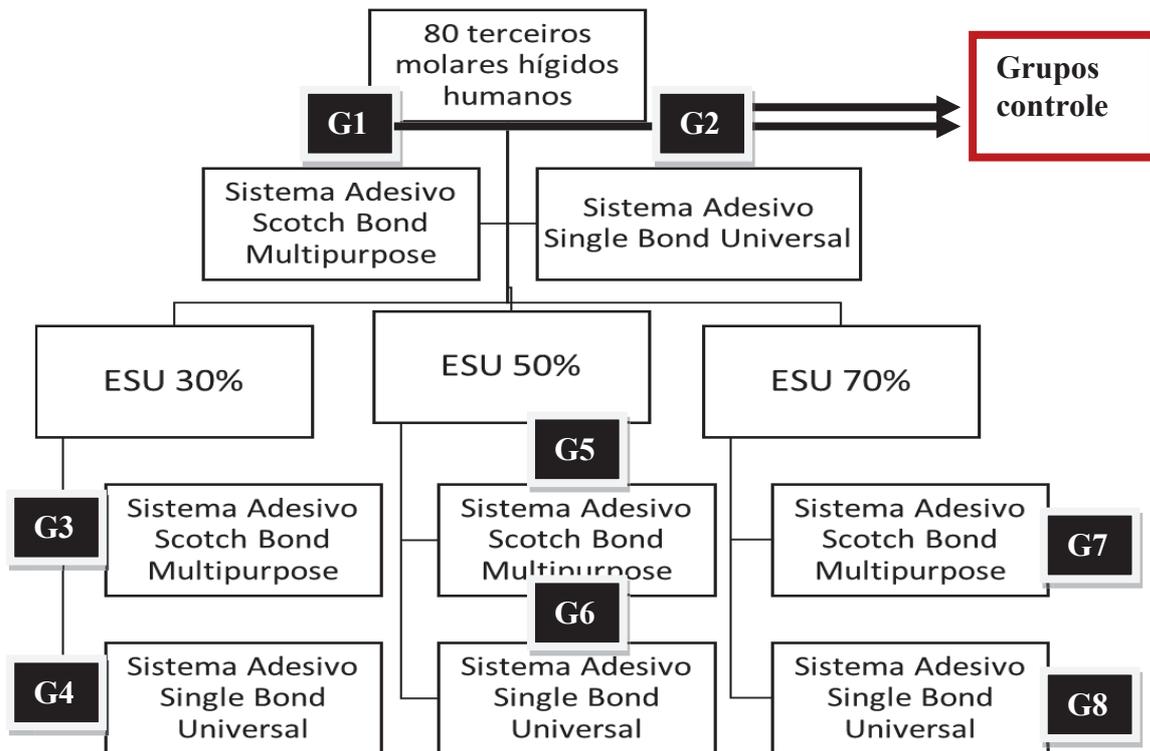


Figura 7. Diagrama de fluxo. Divisão dos grupos experimentais: G1 e G2: grupos controle; G3: grupo (ESU) extrato de uva 30% + *Scotch Bond*; G4: grupo (ESU) extrato de uva 30% + *Single Bond*; G5: grupo (ESU) extrato de uva 50% + *Scotch Bond*; G6: grupo (ESU) extrato de uva 50% + *Single Bond*; G7: grupo (ESU) extrato de uva 70% + *Scotch Bond*; G8: grupo (ESU) extrato de uva 70% + *Single Bond*.

8.2.3 Obtenção dos espécimes para o teste de microtração

Para realizar o procedimento restaurador foi utilizada a Resina Composta Opallis, a qual foi aplicada de forma incremental até construir uma camada de 1 mm de espessura, após fotopolimerizada por 20 segundos (Figs. 8 A, B, C, D). Assim, sucessivamente até atingir um bloco de 3 mm de espessura.

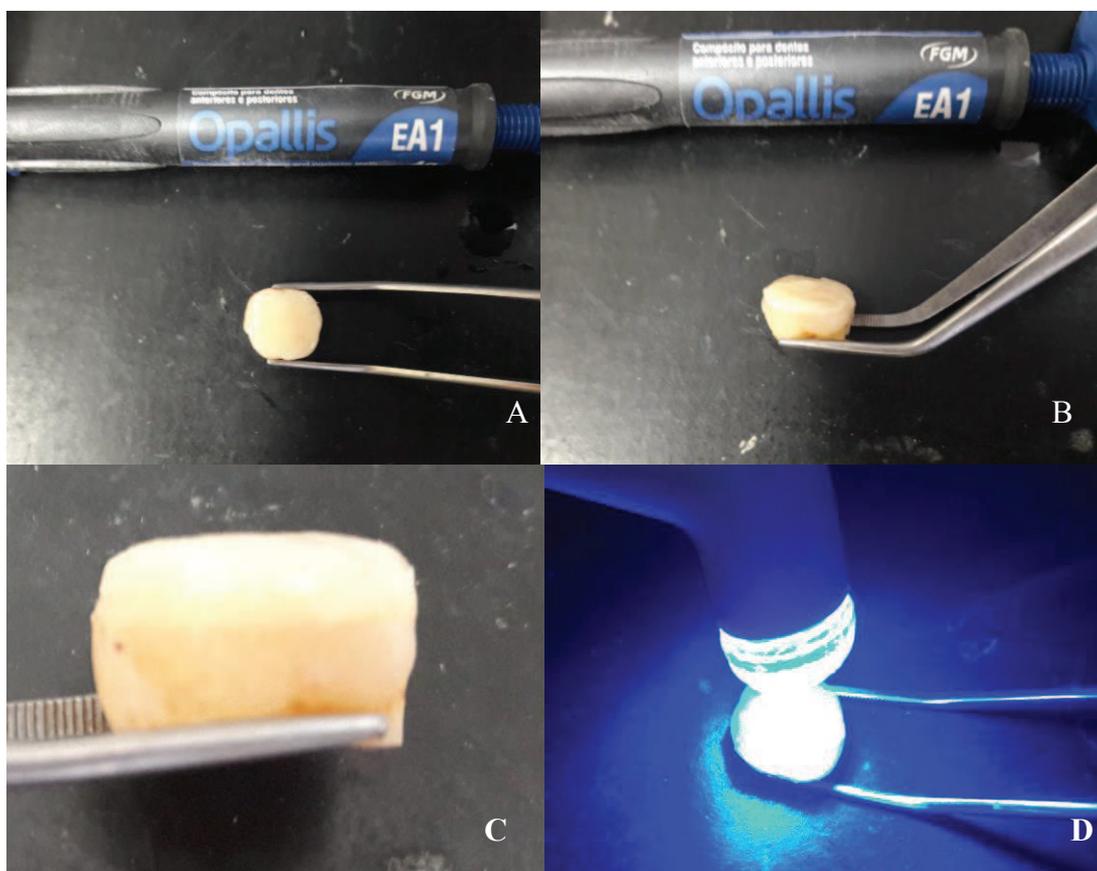


Figura 8. Restauração dos dentes. (A) foi utilizada a Resina Composta Opallis; (B) aplicada de forma incremental; (C) camada de 1 mm de espessura; (D) fotopolimerização por 20 segundos.

Após os procedimentos restauradores, os dentes foram armazenados em água destilada durante 24 horas a 37°C. Depois seccionados longitudinalmente por meio de um disco diamantado dupla face acoplada a máquina de corte *Isomet* (Buehler, Lake

Bluff, IL, EUA), sob constante refrigeração, para obter 2 fatias de cada dente (Figs. 9 A, B, C, D). Foram obtidos 20 palitos de dentina-resina de cada grupo, com uma área de seção transversal de aproximadamente $0,8 \text{ mm}^2$, medida com auxílio de um paquímetro digital.

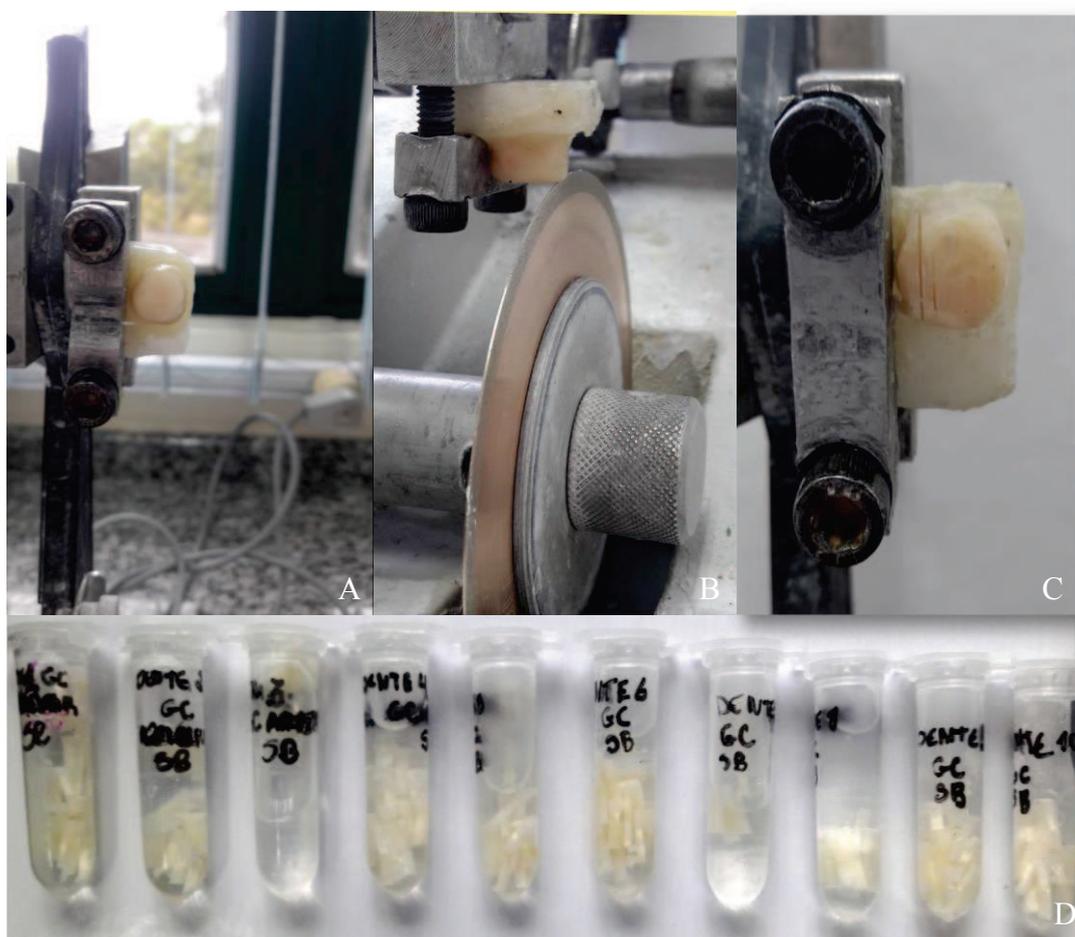


Figura 9. Corte dos dentes. (A) Bloco dente-resina fixado com cera pegajosa na placa de acrílico; (B) bloco em posição acoplada a máquina de corte *Isomet* para obtenção dos palitos, sob constante refrigeração; (C) Cortes realizados no primeiro sentido, após a placa de acrílico foi reposicionada, para obtenção dos espécimes; (D) espécimes armazenados em água destilada em Eppendorf, para a realização do teste de microtração.

8.2.4 Teste de microtração

Os corpos de prova foram colados com auxílio de cola de cianoacrilato (Loctite Henkel, Brasil) em garras e tracionados a uma velocidade de 1 mm/min em máquina de ensaios universal (EMIC DL 2000, São José dos Pinhais, PR, Brasil) (Fig.10). A resistência de união (MPa), foi calculada mediante a divisão da carga no momento da fratura pela área do corpo-de-prova. As dimensões de espessura e largura de cada

espécime foram medidas com auxílio de um paquímetro digital de precisão (*Starrett-727-6/150, Itu, SP, Brasil*).

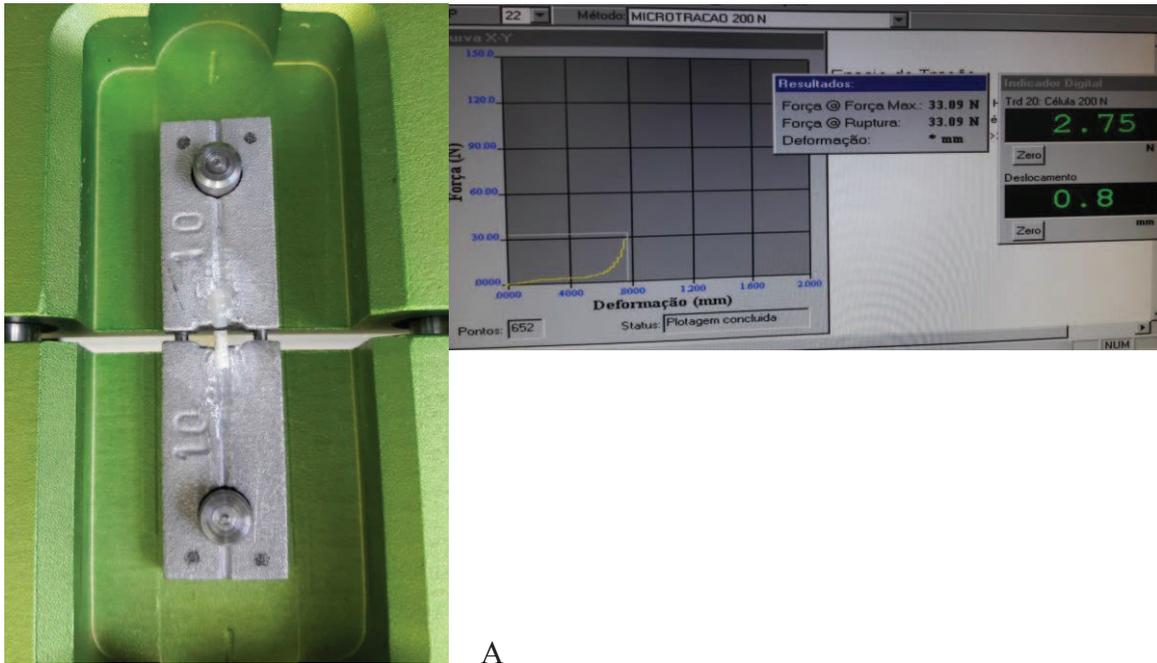


Figura 10. Teste de Microtração. (A) Teste de Microtração sendo realizado, com o auxílio do cianocrilato foi fixado os espécimes no dispositivo da EMIC - Máquina de Ensaio Universais (EMIC DL 2000, São José dos Pinhais, PR. Brasil), após tracionados a uma velocidade de 1 mm/min.

8.2.5 – Análise Estatística

Os dados foram tabulados e submetidos ao teste ANOVA seguido pelo de *Tukey* à 5% de significância.

8.2.5 – Análise de Padrão de Fratura

As interfaces descoladas foram visualmente classificadas como: fratura adesiva, fratura coesiva em compósito ou em dentina, e fratura mista. Após a descolagem, todos os espécimes fraturados foram armazenados e posteriormente foram avaliados em microscópio óptico.

9. RESULTADOS

As médias e desvio-padrão para o teste de resistência de união (RU) dos tratamentos com diferentes concentrações do ESU para os dois sistemas adesivos estão expostos na tabela 1.

Os resultados mostraram que para o sistema adesivo *Scotch Bond Multipurpose* não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e os grupos onde foi realizado o pré-tratamento da dentina com ESU, independente da concentração de ESU utilizada ($P>0,05$). A aplicação do ESU nas concentrações de 30, 50 e 70% foram similares estatisticamente entre si ($P>0,05$) e resultaram em maiores valores de resistência de união que o grupo controle ($P<0,05$) quando o sistema adesivo *Single Bond Universal* fora utilizado.

Tabela 1. Médias e seus respectivos desvios-padrão (\pm) dos valores de resistência de união resina/dentina.

Adesivo	Sem tratamento	ESU 30%	ESU 50%	ESU 70%
Scotch Bond Multipurpose	26,26 (8,21) ^{bA}	21,03 (4,37) ^{aA}	22,98 (6,74) ^{aA}	23,75 (7,98) ^{aA}
Single Bond Universal	18,91 (6,59) ^{aB}	29,25 (8,55) ^{bA}	25,31 (5,33) ^{aA}	31,06 (7,92) ^{bA}

ESU, extrato de semente de uva. Letras minúsculas similares na mesma coluna indicam semelhança estatística. Letras maiúsculas similares na mesma linha indicam semelhança estatística. Significância de 5% no teste estatístico.

A análise do padrão de fratura demonstrou que para o sistema adesivo *Scotch Bond Multipurpose* houve um predomínio de fraturas mistas quando foi feito o tratamento da dentina com ESU, e coesiva em resina para o grupo controle. Para o sistema adesivo *Single Bond Universal*, quando foi utilizado o ESU 30% houve predomínio de fraturas coesivas em resina; quando foi utilizado ESU 50% houve similaridade entre os tipos de fratura; e, para o grupo controle e onde foi aplicado ESU 70% houve predomínio de fraturas mistas.

Tabela 2. Análise do padrão de fratura

Adesivo	Sem tratamento	ESU 30%	ESU 50%	ESU 70%
Scotch Bond Multipurpose	35%FM – 65% FCR	90% FM – 10%FCR	60% FM – 40% FCR	65% FM - 35%FCR
Single Bond Universal	80% FM – 20% FCR	35% FM – 65% FCR	50% FM 50% FCR	70% FM - 30% FCR

10. DISCUSSÃO

A dentina é um tecido complexo mineralizado disposto através de um quadro tridimensional. Composta por 70% de mineral, 20% de matéria orgânica e 10% de água. Com a desmineralização, as fibras colágenas mantem a forma e tamanho da dentina original. Em procedimentos restauradores, ocorre a formação de uma camada híbrida, fundamental para criação de boas ligações dentina-resina (LIU *et al.*, 2011).

A busca incessante da odontologia em contornar as limitações impostas pelos materiais restauradores tem estimulado o desenvolvimento de inúmeros estudos. Na presente pesquisa, os resultados obtidos demonstraram que o tratamento da dentina utilizando o ESU em diferentes concentrações aumentou significativamente a resistência de união na interface adesiva quando utilizado o sistema adesivo *Single Bond Universal*. Entretanto para o sistema adesivo *Scotch Bond Multipurpose* não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e os grupos onde foi realizado o pré-tratamento da dentina com ESU, independente da concentração de utilizada. Portanto, a hipótese em que todas as concentrações testadas aumentariam os valores de resistência de união da resina a dentina foi parcialmente aceita. Tais resultados coincidem com os observados por Grenn *et al.* (2010) e Castellan (2010). De maneira semelhante ao estudo apresentado, tais autores realizaram experimentos com sistemas adesivos utilizando-se o ESU, obtendo-se aumento significativo nos valores de resistência de união e estabilidade.

A influência positiva do ESU nas interações adesivas, pode ser explicada principalmente pois este, quando utilizado em adesivos dentinários, possui inúmeras propriedades, entre elas fortalecer a matriz dentinária, devido as interações PA-colágeno, capacidade melhorar a resistência da matriz, inibindo a biodegradação de fibrilas de colágeno não protegidas dentro da camada híbrida, assim preservando a estrutura para a deposição mineral. (Grenn *et al.*, 2010; Tang *et al.*, 2013). Além disso, os agentes de ligação cruzada de colágeno, podem agir diretamente nas enzimas. A indução de ligações cruzadas na matriz dentinária, pode reduzir a taxa de intumescimento. Assim, contribuindo para o mascaramento dos locais de separação, ou ainda na redução da atividade das colagenases e também possui efeito direto sobre as principais proteases dentinárias endógenas, devido as modificações exercidas no substrato. Desta forma, essas substancias contribuem para a resistência da matriz

dentinária contra a ação das collagenases (Castellan *et al.*, 2013; Sousa *et al.*, 2016; Aydin *et al.*, 2019).

Segundo a literatura, o ESU, se liga com as proteínas, para induzir a formação dessas ligações cruzadas de diferentes maneiras, entre elas: interação covalente, interação iônica, interação de ligação de hidrogênio ou interações hidrofóbicas. Portanto oferece maior capacidade de ligação com o colágeno quando utilizado (Al-ammar *et al.* 2009). Além disso, o ESU mostrou que proteínas ricas em prolina, como o colágeno, apresenta uma maior afinidade por agentes ricos em proanocinidinas. Assim, a prolina, um aminoácido com um oxigênio carbonílico adjacente a um nitrogênio da amina secundária, tendo maior aceitação pelas ligações de hidrogênio. Desta forma, o colágeno apresenta grande quantidade de prolina, na sua composição, favorecendo a formação ligações de hidrogênio extremamente fortes com as substancias ricas em proantocinidinas, como o ESU (Han *et al.*, 2003).

Quando comparado o sistema adesivo, BRESCHI (2008), quanto mais simplificado o sistema adesivo menos durável ele se apresenta, enquanto os sistemas de condicionamento total, de 3 ou de 2 passos apresentam os melhores resultados nos estudos avaliados. Neste estudo os sistemas adesivos testados, são classificados conforme a remoção da *smear layer*, em condicionamento total de três passos (*Scotch Bond Multipurpose*) e de 2 passos (*Single Bond Universal*), ao avaliar os resultados apenas entre os grupos controle, pode se verificar que o sistema menos simplificado mostrou valores de RU maiores quando comparados ao sistema de dois passos. Porém, quando testado o sistema simplificado após o pré-tratamento com ESU em várias concentrações, houve um aumento significativo na RU, superando os valores alcançados pelos grupos controle.

Referente aos solventes utilizados e sistemas adesivos, pode se observar que em estudos anteriores Castellan (2010) e Castellan (2013) constatou se um comportamento mais previsível, quando o adesivo utilizado apresentava se a base de água e etanol, devido este ser um solvente miscível em água e com a capacidade de doar hidrogênios, assim mantendo fortemente ligados a água. Neste estudo, foram utilizados dois sistemas adesivos para avaliar o possível efeito dos componentes do sistema de ligação na força de resistência, após o tratamento da dentina com o ESU. *Scotch Bond Multipurpose* e *Single Bond Universal* são sistemas a base de etanol. Este estudo observou que embora os sistemas adesivos apresentarem em comum a base, o etanol, houve diferenças estatisticamente entre os agentes de ligação, pois quando o sistema *Scotch Bond*

Multipurpose fora utilizado não houve diferença estatisticamente significativa na resistência de união entre o grupo controle e os grupos onde foi realizado o pré-tratamento da dentina com ESU. Porém, quando o sistema adesivo foi o *Single Bond Universal*, após o tratamento da dentina utilizando o ESU em diferentes concentrações, aumentou significativamente a resistência de união na interface adesiva. Assim, os resultados encontrados vão de encontro ao estudo realizado por Seseogullari-dirihan (2015) o qual observou não haver diferenças estatisticamente entre os agentes de ligação e o tratamento dentinário.

O sistema adesivo *Single Bond Universal* (3M ESPE, St.Paul, EUA), foi lançado em 2012 pelo fabricante com o intuito de tornar mais simples e impedir erros durante a aplicação. Pode ser aplicado de duas formas: como autocondicionante e com condicionamento ácido total de esmalte e dentina prévio (Kose *et al.*, 2013). Dessa forma, possui em sua composição moléculas com alto poder de ligação química 10-MDP e copolímero de ácido polialenólico, nesse contexto, a literatura tem mostrado, que essa união química, promovida por essas moléculas, mostra-se mais eficaz e com maior estabilidade, quando comparado com outros monômeros (Perdigão *et al.*, 2013; Dib Arinelli *et al.*, 2016). Assim, segundo Lin *et al.* (1992) para os adesivos autocondicionantes, ligações químicas entre monômeros policarboxílicos (como VCP) e hidroxiapatita desempenham um papel fundamental para o processo de adesão, em que grupos carboxílicos substituem os íons fosfato, dando origem a ligações iônicas com o cálcio do substrato. Além disso, Perdigão *et al.* (2012) chegou à conclusão que independente da condição da dentina, seja ela úmida ou seca, os resultados da resistência de união não demonstraram diferenças estatísticas. O sistema adesivo *Single Bond Universal* difere do adesivo *Scotch Bond Multipurpose*, principalmente na substituição parcial dos monômeros de dimetacrilato com o monômero de 10-metacrililoiloxidecil di-hidrogenofosfato (MDP) para fornecer acidez por sua capacidade de auto-corrosão. Dessa forma, esses estudos vão ao encontro aos resultados positivos desse trabalho, pois quando utilizado o sistema adesivo *Single Bond Universal*, o grupo mostrou-se com propriedades de adesão superiores aos outros grupos, em que outro sistema adesivo foi utilizado.

Quando as interfaces fraturadas foram avaliadas sob análise no microscópio óptico, observou-se que houve diferenças entre os grupos controles, para o sistema adesivo *Scotch Bond Multipurpose*, houve predomínio de fraturas coesivas em resina, já para o *Single Bond Universal* a grande maioria foi mistas. Assim, confirmando o melhor

desempenho quando utilizado o sistema adesivo menos simplificado (Breschi *et al.*, 2007). Já quando analisados os grupos tratados com ESU, nas concentrações testadas, o grupo de sistema adesivo *Scotch Bond Multipurpose*, teve um aumento das fraturas mistas, porém não interferindo na resistência de união, pois foi possível observar que não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e os grupos onde foi realizado o pré-tratamento da dentina com ESU. Já quando foi utilizado o sistema adesivo universal, houve um aumento das fraturas coesivas, sendo possível observar um aumento significativo na resistência de união na interface adesiva. Esse resultado pode ser explicado, devido ao fato que o ESU, mostra um melhor desempenho quando utilizado juntamente com um sistema adesivo autocondicionante, devido o mesmo apresentar propriedades, como já citadas, as quais favorecem ao aumento da capacidade de ligação com o colágeno quando este é utilizado. (Al-ammar *et al.* 2009; Han *et al.*, 2003).

A redução no tempo de pré-tratamento com soluções ricas em proantocinidinas, foram pesquisados por vários autores Bredan-Russo (2007) buscou avaliar melhoras na resistência a tração final, onde as amostras permaneceram imersas durante 4 e 40 horas. Já Al-Ammar (2009) utilizou o tempo de 1 hora de imersão dos corpos de prova nas soluções, para avaliar a resistência de união da dentina. Outros autores já conseguiram atingir um tempo clinicamente viável, com o estudo de Castellan (2010) na qual utilizou como tempo de pre-tratamento de 1 minuto. Neste estudo, foi avaliado a RU da dentina tratada durante 1 minuto com ESU, em três concentrações, os resultados imediatos mostraram maiores valores quando 70% do ESU foi utilizado comparando com o grupo controle para o *Single Bond Universal*, reafirmando uma melhor interação do extrato com este sistema adesivo.

Portanto sugere que utilização de agentes de ligação cruzada como ESU, pode ser uma nova alternativa na prática clínica, contribuindo para melhorar as propriedades do substrato dentinário, possibilitando maior longevidade dos procedimentos restauradores e oportunizando a preservação da estrutura dental. Apesar de neste estudo não haver aumento nos valores de resistência de união imediatos quando foi realizado o tratamento da dentina com ESU, espera-se que trabalhos de longevidade comprovem à eficácia dessa técnica.

11. CONCLUSÃO

O ESU não alterou os valores de resistência de união para o sistema adesivo *Scotch Bond Multipurpose*, por outro lado houve um aumento da resistência de união imediata após o uso de agentes de ligação cruzada com o ESU, independente da concentração, quando o sistema adesivo utilizado foi *Single Bond Universal*. O tempo de tratamento utilizado neste estudo, de 1 minuto mostrou-se como um método viável para ser reproduzido clinicamente. Assim, a aplicação de indutores de ligações cruzada durante procedimentos restauradores pode ser uma nova opção para melhorar as propriedades do substrato dentinário, oferecendo melhor resistência, sem diminuir a infiltração resinosa, e conseqüentemente melhorar a resistência de união na interface adesiva.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-AMMAR, A.; DRUMMOND, J. L.; BREDAN-RUSSO, A. K. The use of collagen cross-linking agents to enhance dentin bond strength. *J Bio Mater Res B Appl Biomater*, v.91, n. 1, p. 419-429, 2009.

BARATIERI, *et al.* Adesão aos Tecidos Dentais. In: _____. *Odontologia Restauradora Fundamentos & Técnicas*. 1. ed. São Paulo: Santos, 2013. p. 96- 111.

BEDRAN-RUSSO, A. K.; PAULI, G. F.; CHEN, S. N.; ALPINE, J. M.; CASTELLAN, C. S.; PHANSALKAR, R. S.; AGUIAR, T. R.; VIDAL, C. M. P.; NAPOLITANO, J.; NAM, J.; LEME, A. A. Dentin Biomodification: Strategies, Renewable Resources na Clinical Applications. *Dent Mater*, v. 30, n. 1, p. 62-76, 2014.

BEDRAN-RUSSO, A. K.; PEREIRA, P. N. R.; DUARTE, W. R., DRUMMOND, J.L.; YAMAUCHI, M. Application of crosslinkers to Dentin collagen Enhances the Ultimate Tensile Strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, v.80, n. 1, p. 268-272, 2007.

BEDRAN-RUSSO, A. K.; SACHIN, K.; PASHLEY, D. H.; VIANA, G. Site specific properties of carious dentin matrices biomodified with collagen cross-linkers. *Am J Dent.*, v. 26, n. 5, p. 244-248, 2013.

BRESCHI, L.; MAZZONI, A.; RUGGERI, A.; CARDENARO, M.; DI LENARDA, R.; DORIGO, E. S. Dental adhesion review: Aging and stabilityVof the bonded interface. *Dent Mater*, v. 24, n. 1, p. 90-101, 2008.

CARRILHO, M. R.; CARVALHO, R. M.; TAY, F. R.; YIU, C.; PASHLEY, D. H. Durability of resin-dentin bonds related to water and oil storage. *Am J Dent*, v.18, n.6, p. 315-319, 2005.

CASTELLAN C. S. Estudo da matriz orgânica dentinária modificada por agentes naturais ricos em proantocianidina e seu uso para aumentar a efetividade de restaurações adesiva. Tese (Programa de pós-graduação em odontologia/ Materiais dentários) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, 2010.

CASTELLAN, C. S.; BREDAN-RUSSO, A. K.; ANTUNES, A.; PEREIRA, P. N. R. Effect of Dentin Biomodification Using Naturally Derived Collagen Cross-Linkers: One-Year Bond Strength Study. *Int J Dent.*, v. 13, p. 1-6, 2013.

CASTELLAN, C. S.; BREDRAN-RUSSO, A. K.; KAROL, S.; PEREIRA, P. N. R. Long-term stability of dentin matrix following treatment with various natural collagen cross-linkers. *J Mech Behav Biomed Mater*, v. 4, n. 7, p. 1343-1350, 2011.

CASTELLAN, C. S.; PEREIRA, P. N.; GRANDE, R. H.; BREDRAN-RUSSO, A. K. Mechanical characterization of proanthocyanidin-dentin matrix interaction. *J Dent Mater*, v.26, n. 10, p. 968-973, 2010.

CASTELLAN, C. S.; PEREIRA, P. N. R.; VIANA, G.; CHEN, S. N.; PAULI, G. F.; BREDAN-RUSSO, A. K. Solubility study of phytochemical cross-linking agents on dentin stiffness. *J Dent*, v. 38, n. 5, p. 431-436, 2010.

DE CARLI, G.; CECCHIN, D.; GHINZELLI, K. C.; SOUZA, M. A.; VIDAL, C. M. P.; TREVELIN, L. T.; BEDRAN-RUSSO, A. K.; FARINA, A. P. Effect of natural collagen cross-linker concentration and application time on collagen biomodification and bond strengths of fiber posts to root dentin. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, v. 87, p. 42-46, 2018.

DIB ARINELLI, A. M.; PEREIRA, K. F.; PRADO, N. A. S.; RABELLO, T. B. Current adhesive systems, *Rev. bras. Odontol.*, v. 73, n. 3, p. 242-46, 2016.

FILHO, H. N.; FARES, N. H.; FIUZA, C. T.; NAGEM, H. D.; COUTO, M. G. P. Adhesives systems – classification. *Full Dent. Sci*, v. 5, n. 20, p. 641-646, 2014.

GREEN, B.; YAO, X. GANGULY, A.; XU, C.; DUSEVICH, V.; WALKER, M. P.; WANG, Y. Grape seed proanthocyanidins increase collagen biodegradation resistance in the dentin/adhesive interface when included in a adhesive. *J Dent*, v. 38, n. 11, p. 908-915, 2010.

GRÉ, C. P.; LISE, D. P.; AYRES A. P.; MUNK, J. DE.; TEZVERGIL-MUTLUAY, A.; SESEOGULLARI-DIRIHAN, R.; LOES, G. C.; VANLANDUYT, K.; BAR VAN MEERBEEK. Do collagen cross-linkers improve dentin's bonding receptiveness? *Dental Materials*, v. 34, n. 11, p. 1679 – 1689, 2018.

HAN, B.; JAUREQUI, J.; TANG, B. W.; NIMNI, M. Proanthocyanidin: A natural crosslinking reagent for stabilizing collagen matrices. *J Biomed Mater*, v. 65 A, n. 1, p. 118-124, 2003.

KINNEY, J. H.; HABELITZ, S.; MARSHALL, S. J.; MARSHALL, G. W. The importance of intrafibrillar mineralization of collagen on the mechanical properties of dentin. *J Dent Res*, v. 82, n. 12, p. 957-961, 2003.

KOSE, C.; DE PAULA, E. A.; MENA SERRANO, A. P.; TAY, L. Y.; REIS, A.; LOGUERCIO, A.D. PERDIGAO, J. Application of a new universal adhesive system: case report. *Rev assoc paul cir dente*, v. 67, n. 3, p. 202-6, 2013.

LEME, A. A.; VIDAL, C. M. P.; HASSAN, L.S.; BREDAN-RUSSO, A. K. Potential role of surface wettability on the long-term stability of dentin bonds after surface biomodification. *J Biomech*, v. 48, n. 10, p. 2067-2071, 2015.

LIN, A.; MCINTYRE, N. S.; DAVIDSON, R. D. Studies on the Adhesion of Glass-ionomer Cements to Dentin *J Dent Res*, v. 71, n. 11, p. 1836-1841, 1992.

LIU, R.; FANG, M.; XIAO, Y.; LI, F.; YU, L.; ZHAO, S.; SHEN, L.; CHEN, J. The effect of transiend proanthocyanidins preconditioning o the cross-linking and

mechanical properties of desmineralized dentin. *J Mater Sci: Mater Med*, p. 2403-24011, 2011.

LIU, Y.; WANG, Y. Proanthocyanidins' efficacy in stabilizing dentin collagen against enzymatic degradation: MALDI-TOF and FTIR analyses. *J Dent.*, v. 41, n. 6, p. 535-542, 2013.

MENA-SERRANO, A.; KOSE, C.; DE PAULA, E. A.; TAY, L. Y.; REIS, A.; LOGUERCIO, A. D.; PERDIGÃO, J. A New Universal Simplified Adhesive: 6-Month Clinical Evaluation. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, v. 25 n. 1, p. 55–69, 2013.

MENG, F.; ZHONG, Z.; FEIJEN, J. Stimuli-Responsive Polymersomes for Programmed Drug Delivery. *American Chemical Society*, v. 10, n. 2, 2009.

PASHLEY, D. H.; TAY, F.R.; YIU, C.; HASHIMOTO, M.; BRESCHI, L. CARVALHO, R. M.; *et al.* Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res*, v.83, n. 3, p. 216-221, 2004.

PERDIGAO, J.; KOSE, C.; MENA-SERRANO, A. P.; DE PAULA, E. A.; TAY, L. Y.; REIS, A.; LOGUERCIO, A.D. A New Universal Simplified Adhesive: 18-Month Clinical Evaluation. *Operative Dentistry*, v.39, n. 2, p.113-127, 2014.

PERDIGAO, J.; SEZINANDO, A.; MONTEIRO, P. C. Laboratory bonding ability of a multi-purpose dentin adhesive. *Am J Dent.*, v.25, n. 4, p. 226, 2012.

SESEOGULLARI-DIRIHAN, R. APOLOLONIO, F. MAZZONI, A. TJADERHANE, L. PASHLEY, L. BRESCHI, A. TEZYERGIL-MUTLUAY. Use of crosslinkers to inactivate dentin MMPs. *J Dent Mater*, v.32 n.3 p. 423-432, 2015.

SOUSA, A. B. S.; VIDAL, C. M. P.; LEME-KRAUS, A. A.; PIRES-DE-SOUSA, F. C. P.; BREDAN-RUSSO, A. K. Experimental primers containing synthetic and natural compounds reduce enzymatic activity at the dentin–adhesive interface under cyclic loading. *Dent Mater*, v. 32, n. 10, p.1248–1255, 2016.

SPENCER, P.; YE, Q.; PARK, J.; TOPP, E. M.; MISRA, A.; MARANGOS, O.; WANG, Y.; BOHATY, B. S.; SINGH, V.; SENE, F.; ESLICK, J.; CAMARDA, K.; KATZ, J.L. Adhesive/Dentin Interface: The Weak Link in the Composite Restoration. *Ann Biomed Eng*, v. 38, n. 6, p. 1989-2003, 2010.

TANG, C.; FANG, M.; LIU, R.; DOU, Q.; CHAI, Z.; XIAO, Y.; CHEN, J. The role of grape seed extract in the remineralization of demineralized dentine: Micromorphological and physical analyses. *Archives of oral biology*, v. 58, p. 1769-1776, 2013.

YOURDKHANI, M.; LEME- KRAUS, A. A.; AVDIN, B.; BREDAN-RUSSO, K.; WRITE, S. R. Encapsulation of grape seed extract in polylactidemicrocapsules for sustained bioactivity and time-dependent release in dental material applications. *Dent Mater*, v. 33, n. 6, p. 630-636, 2017.

13. AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DO ALUNO

Prof. Dr. Douglas Cecchin

14.ANEXOS

UNIVERSIDADE DE PASSO
FUNDO/ PRÓ-REITORIA DE
PESQUISA E PÓS-



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da resistência de união de sistema adesivos à dentina tratada com extrato de semente de uva

Pesquisador: Douglas Cecchin

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 80347417.8.0000.5342

Instituição Proponente: FUNDACAO UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.435.496

Apresentação do Projeto:

A instabilidade da interface dentina-resina mostra-se como um grande desafio na área da odontologia restauradora. Causada pela degradação e desestabilização da rede de fibras colágenas, as quais são responsáveis por manter as propriedades necessárias para uma boa adesão. Para isso, um grupo dos agentes naturais, rico em proantocianidinas, vem sendo utilizados como agentes indutores de ligações cruzadas, capazes de fortalecer e estabilizar a rede de fibras colágenas e consequentemente proporcionar um substrato com boas propriedades para os procedimentos restauradores. Assim, busca-se avaliar a resistência de união utilizando dois sistemas adesivos, entre as interfaces resina/dentina, após o tratamento do substrato dentinário com extrato de semente de uva (ESU) nas concentrações 30%, 50% e 70%. Para realizar esse estudo será utilizado 80 terceiros molares humanos que serão aleatoriamente divididos em 8 grupos (n=10). A porção coronária será removida por meio de um corte aproximadamente 2 mm acima da junção cimento-esmalte de modo a expor a dentina. Os grupos controle serão restaurados de forma convencional utilizando os sistemas adesivos: Scotch Bond Multi-purpose e Single Bond Universal. Os demais grupos a

dentina será tratada com o extrato de semente de uva nas concentrações 30%, 50%, 70% por 1 minuto anteriormente aos procedimentos adesivos. Com os procedimentos restauradores concluídos, serão obtidos 30 palitos de cada grupo, os quais serão submetidos a teste de microtração. Os dados serão tabulados e submetidos à análise estatística.

Endereço: BR 285- Km 282 Campus I - Centro Administrativo
Bairro: Divisão de Pesquisa / São José CEP: 99.052-900
UF: RS Município: PASSO FUNDO
Telefone: (54)3316-8157

E-mail: cep@upf.br

Continuação do Parecer: 2.435.496

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a resistência de união de dois sistemas adesivos à dentina tratada com extrato de semente de uva.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: nenhum, serão utilizados dentes humanos extraídos provenientes de um banco de dentes.

Benefícios: os resultados poderão ser aplicados clinicamente durante a restauração de dentes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto foi apresentado na íntegra pelos pesquisadores.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os direitos fundamentais dos participantes foram garantidos no projeto e no TCLE. O protocolo foi instruído e apresentado de maneira completa e adequada. Os compromissos do pesquisador e das instituições estavam presentes. O projeto foi considerado claro em seus aspectos científicos, metodológicos e éticos.

Recomendações:

Após o término da pesquisa, o CEP UPF solicita:

- a) A devolução dos resultados do estudo aos sujeitos da pesquisa ou a instituição que forneceu os dados;
- b) Enviar o relatório final da pesquisa, pela plataforma, utilizando a opção, no final da página, "Enviar Notificação" + relatório final

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto, este Comitê, de acordo com as atribuições definidas na Resolução n. 466/12, do Conselho Nacional da Saúde, Ministério da Saúde, Brasil, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa na forma como foi proposto.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1030893.pdf	16/11/2017 14:01:45		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TermodeConsentimento.pdf	16/11/2017 14:01:22	Douglas Cecchin	Aceito

Endereço: BR 285- Km 292 Campus I - Centro Administrativo
Bairro: Divisão de Pesquisa / São José CEP: 99.052-900
UF: RS Município: PASSO FUNDO
Telefone: (54)3316-8157 E-mail: cep@upf.br

UNIVERSIDADE DE PASSO
FUNDO/ PRÓ-REITORIA DE
PESQUISA E PÓS-



Continuação do Parecer: 2.435.496

Ausência	TermodeConsentimento.pdf	16/11/2017 14:01:22	Doglas Cecchin	Aceito
Outros	Declaracaodequenaofoiiniciadaapesquis a.pdf	16/11/2017 13:53:21	Doglas Cecchin	Aceito
Outros	termodecompromissodeutilizacaodedad os.pdf	16/11/2017 13:52:47	Doglas Cecchin	Aceito
Outros	bancodentes.pdf	16/11/2017 13:52:06	Doglas Cecchin	Aceito
Outros	DeclaracaoBioseguranca.pdf	16/11/2017 13:51:40	Doglas Cecchin	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.pdf	16/11/2017 13:50:04	Doglas Cecchin	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRosto.PDF	16/11/2017 13:49:48	Doglas Cecchin	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PASSO FUNDO, 13 de Dezembro de 2017

Assinado por:
Felipe Cittolin Abal
(Coordenador)

Endereço: BR 285- Km 292 Campus I - Centro Administrativo
Bairro: Divisão de Pesquisa / São José CEP: 99.052-900
UF: RS Município: PASSO FUNDO
Telefone: (54)3316-8157 E-mail: cep@upf.br

**Avaliação da resistência de união de sistemas adesivos à dentina tratada com
extrato de semente de uva**

*Evaluation of bond strength of adhesive systems to dentin treated with grape seed
extract*

Eduarda Floriano de Oliveira, acadêmica do curso de odontologia, Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil.

Ana Paula Farina, doutora em Clínica odontológica, professora da Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil.

Doglas Cecchin, doutor em endodontia e professor da Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil.

Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo.

Correspondência: Eduarda Floriano de Oliveira, acadêmica de Odontologia.

Faculdade de Odontologia, Universidade de Passo Fundo, BR 285/ São José, prédio A7,
CEP 99052-900, Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil.

E-mail: eduardaflorianodeoliveira@gmail.com, Tel.: +55 51 996041751.

RESUMO

Objetivo: O objetivo deste estudo foi avaliar a resistência de união de dois sistemas adesivos à dentina tratada com extrato de semente de uva (ESU). **Métodos:** Foram utilizados 80 terceiros molares humanos que foram aleatoriamente divididos em 8 grupos (n=10). A porção coronária foi removida por meio de um corte aproximadamente 2 mm acima da junção cimento-esmalte de modo a expor a dentina. Os grupos controle foram restaurados de forma convencional utilizados os sistemas adesivos: *Scotch Bond Multi-purpose* e *Single Bond Universal*. Os demais grupos a dentina foi tratada com o extrato de semente de uva nas concentrações 30%, 50%, 70% por 1 minuto anteriormente aos procedimentos adesivos. Com os dentes restaurados, foram obtidos 20 palitos de cada grupo, os quais foram submetidos a teste de microtração. Os dados foram tabulados e submetidos à análise estatística ANOVA/Tukey ($\alpha=0,05$). **Resultados:** Os resultados mostraram que para o sistema adesivo *Scotch Bond Multipurpose* não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e os grupos onde foi realizado o pré-tratamento da dentina com ESU, independente da concentração de ESU utilizada ($P>0,05$). A aplicação do ESU nas concentrações de 30, 50 e 70% resultou em valores de resistência de união similares estatisticamente entre si ($P>0,05$) e que o grupo controle ($P<0,05$) quando o sistema adesivo *Single Bond Universal* fora utilizado. **Conclusão:** Pode-se concluir que, houve aumento da resistência de união imediata após o uso de agentes de ligação cruzada com o *ESU*, independente da concentração, quando o sistema adesivo utilizado foi *Single Bond Universal*.

Palavras-chave: Extrato de Semente de Uva, adesivos, dentina.

ABSTRACT

Objective: The objective of this study was to evaluate the bond strength of two adhesive systems to dentin treated with grape seed extract (GSE). **Methods:** For the study, 80 third human molars were used, which were randomly divided into 8 groups (n = 10). The coronary portion was removed by cutting approximately 2 mm above the cementoenamel junction in order to expose the dentin. The control groups were restored in a conventional way using the following adhesive systems: *Scotch Bond Multipurpose and Single Bond Universal*. The other groups, dentin was treated with the grape seed extract in the concentrations 30%, 50%, 70% for 1 minute prior to the adhesive procedures. After restoration procedures, 20 beams were obtained from each group, which were submitted to microtraction test. Data were tabulated and submitted to ANOVA / *Tukey* statistical analysis ($\alpha = 0.05$). **Results:** The results showed that for the Scotch Bond Multipurpose adhesive system there was no statistically significant difference between the control group and the groups where pre-treatment with GSE was performed, regardless of the GSE concentration used ($P > 0.05$). The application of the GSE at concentrations of 30, 50 and 70% resulted in statistically similar values of bond strength ($P > 0.05$) of the control group ($P < 0.05$) when the *Universal Single Bond* adhesive system was used. **Conclusion:** It can be concluded that there was an increase in the bond strength immediately after the use of crosslinking agents with GSE, regardless of the concentration, when the adhesive system used was *Single Bond Universal*.

Key words: Grape Seed Extract, Adhesives, Dentin.

INTRODUÇÃO

Durante o restabelecimento da forma e função dental, causada pela perda da estrutura dental por cárie, a principal escolha atualmente são as restaurações diretas em resina composta. Para esse procedimento ser realizado, o ideal é que substrato dentinário apresente propriedades específicas, conferidas através de uma rede de colágeno resistente, insolúvel e que com estabilidade à longo prazo¹.

A adesão ao substrato dentinário mostra-se como um desafio, pois depende da formação de uma camada híbrida compacta e homogênea. Essa camada é composta de fibrilas de colágeno da matriz da dentina desmineralizada incorporada com resina adesiva, as quais desempenham um papel fundamental nas ligações dentina-resina. Porém, a camada híbrida demonstra ser instável com o tempo, devido ser exposta frequentemente a fatores físicos e químicos, que resultam na degradação e desorganização das fibras colágenas, além da degradação dos componentes resinosos².

Para melhorar as propriedades do substrato dentinário, a indução de ligações cruzadas de colágeno foi proposta como mecanismo para melhorar a estabilidade mecânica e reduzir as taxas de degradação do colágeno. Entre os produtos naturais que vem sendo utilizados estão as substâncias ricas em proantocianidinas, as quais já comprovaram ser bons agentes de ligações para colágeno³.

O extrato de semente de uva (*ESU*), rico em proantocianidina, foi investigado em vários estudos como potencial agente para melhorar as propriedades mecânicas e químicas da dentina desmineralizada e aumentar a sua resistência à degradação enzimática⁴.

O *ESU*, demonstrou aumentar a resistência à degradação por colagenases da matriz orgânica dentinária, diminuíram a sorção de água na rede de fibras colágenas e aumentou a temperatura para que ocorra a desnaturação da matriz orgânica. Além disso, foi capaz de aumentar o módulo de elasticidade das matrizes orgânicas dentinárias⁵⁻⁶⁻¹.

Nesse contexto, o presente estudo pretendeu avaliar a resistência de união utilizando dois sistemas adesivos: *Scotch Bond Multi-purpose* e *Single Bond Universal* entre as interfaces resina/dentina, após o tratamento do substrato com extrato de semente de uva (*GSE*) nas concentrações 30%, 50% e 70%. Testando a hipótese todas as concentrações testadas aumentarão os valores de resistência de união da resina à dentina.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo teve a aprovação do Comitê de Ética, através do parecer número 2.435.496.

Materiais

Dentes

Foram utilizados 80 terceiros molares humanos hígidos, armazenados em freezer, para manter a matriz dentinária íntegra. Os dentes ficaram armazenados por no máximo 6 meses.

Concentrações que serão testadas do extrato de semente de uva (*ESU*).

- *ESU* - 30%

- *ESU* - 50%

- *ESU* - 70%

Materiais Restauradores

Sistema adesivo

- *Scotch Bond Multi-purpose* (3M ESPE, St. Paul, EUA).

- *Single Bond Universal* (3M ESPE, St. Paul, EUA).

Resina Composta

- Resina Composta Opallis (FGM, Santa Catarina, Brasil)

Preparo dos dentes

Foram utilizados 80 terceiros molares humanos hígidos. Os dentes foram limpos para remoção de tecidos e debris com curetas periodontais e discos de borracha. Após as superfícies oclusais foram removidas com o auxílio de um disco de diamante dupla face (*Buehler, Lake Bluff, IL, EUA*), expondo dentina coronária 2mm acima da junção amelodentinária. As superfícies dentinárias foram lixadas com lixa de granulação #600, sob refrigeração, para obtenção da *smear* padronizada.

– Divisão dos grupos experimentais

Logo após o condicionamento ácido com ácido fosfórico 37%, os dentes foram divididos aleatoriamente em 8 grupos (n=10).

Grupo 1 (Controle, n=10): sistema adesivo *Scotch Bond Multi-purpose*, foi feito a aplicação do *primer* 2 vezes, por 20 segundos sobre a superfície dentinária, sempre friccionado e removendo os excessos, seguidos de leves jatos de ar. Em seguida, foi aplicado uma película de água destilada até cobrir toda a superfície da dentina exposta, com o auxílio de uma seringa de 2,5 ml, após feita a aplicação do adesivo, 2 vezes, friccionado sobre a dentina úmida removendo os excessos e após feita a fotopolimerização por 20 segundos.

Grupo 2 (Controle, n=10): foi aplicado uma película de água destilada até cobrir toda a superfície de dentina exposta, com o auxílio de uma seringa de 2,5 ml, em seguida foi aplicado o adesivo *Single Bond Universal* durante 20 segundos, de forma ativa e logo um leve jato de ar por 5 segundos, fotopolimerização durante 20 segundos.

Grupo 3: 30% ESU (n=20): após o condicionamento ácido, tratamento da dentina com *ESU* 30% por 1 minuto; em seguida lavagem com água destilada e aplicação do respectivo sistema adesivo, sobre a dentina úmida.

Grupo 4: 50% ESU (n=20) – mesmo procedimento do grupo anterior, no entanto o *ESU* será utilizado em uma concentração de 50%.

Grupo 5: 70% ESU (n=20) - mesmo procedimento do grupo anterior, no entanto o *ESU* será utilizado em uma concentração de 70%.

Nos grupos 3, 4 e 5 posteriormente ao tratamento dentinário os dentes foram subdivididos em dois subgrupos de acordo com o sistema adesivo à ser utilizado: *Scotch Bond Multi-purposee*, *Single Bond Universal*.

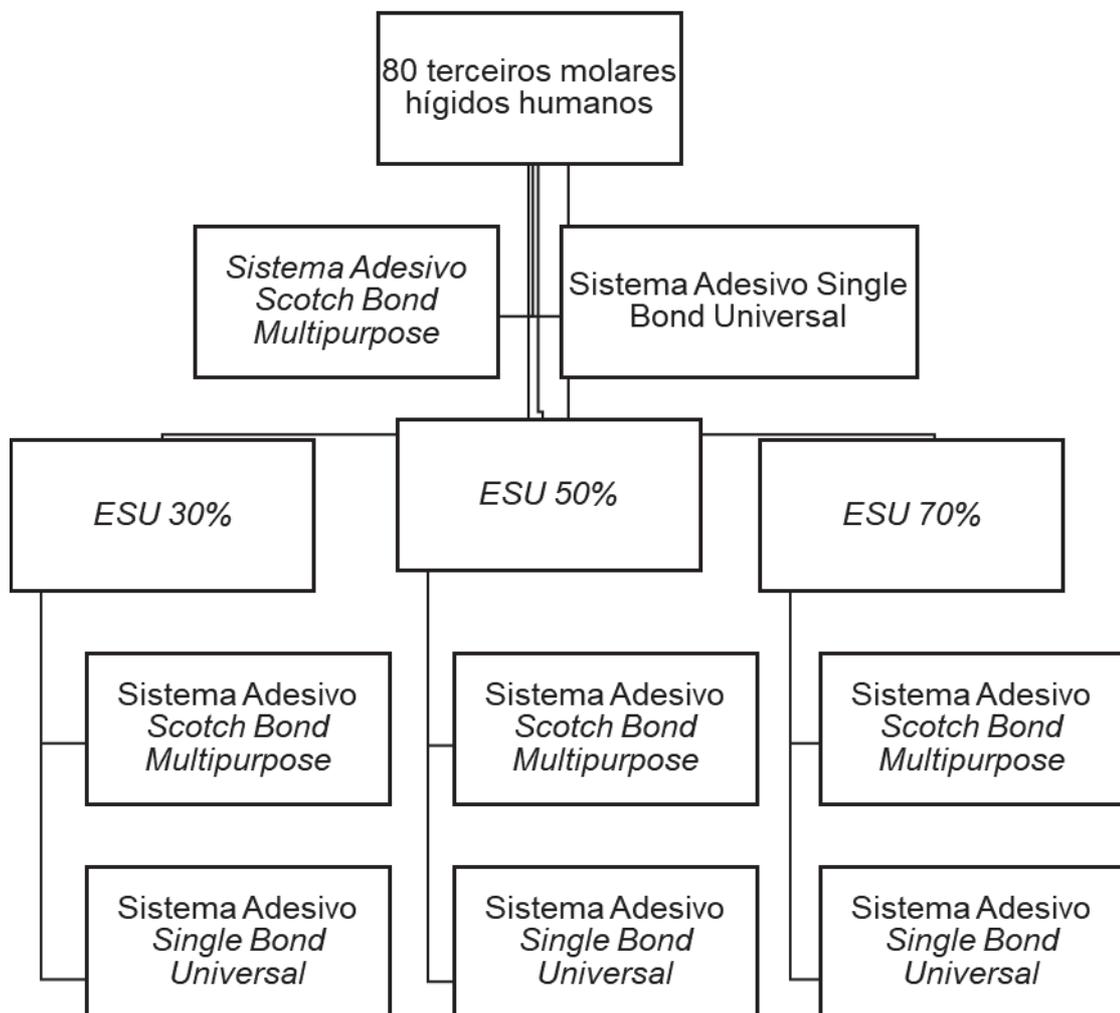


Figura 1. Diagrama de fluxo. Divisão dos grupos experimentais: G1 E G2: grupos controle; G3: grupo (ESU) extrato de uva 30% + *Scotch Bond*; G4: grupo (ESU) extrato de uva 30% + *Single Bond*; G5: grupo (ESU) extrato de uva 50% + *Scotch Bond*; G6: grupo (ESU) extrato de uva 50% + *Single Bond*; G7: grupo (ESU) extrato de uva 70% + *Scotch Bond*; G8: grupo (ESU) extrato de uva 70% + *Single Bond*.

Obtenção dos espécimes para o teste de microtração

Para realizar o procedimento restaurador foi utilizada a Resina Composta Opallis, a qual foi aplicada de forma incremental até construir uma camada de 1 mm de espessura, após fotopolimerizada por 20 segundos. Assim, sucessivamente até atingir um bloco de 3 mm de espessura.

Após os procedimentos restauradores, os dentes foram armazenados em água destilada durante 24 horas a 37°C. Depois seccionados longitudinalmente por meio de um disco diamantado dupla face acoplada a máquina de corte Isomet (*Buehler, Lake Bluff, IL, EUA*), sob constante refrigeração, para obter 2 fatias de cada dente. Foram obtidos 20 palitos de dentina-resina de cada grupo, com uma área de seção transversal de aproximadamente 0,8 mm², medida com auxílio de um paquímetro digital.

Teste de microtração

Os corpos de prova foram colados com auxílio de cola de cianoacrilato (*Loctite Henkel, Brasil*) em garras e tracionados a uma velocidade de 1 mm/min em máquina de ensaios universal (EMIC DL 2000, São José dos Pinhais, PR. Brasil). A resistência de união (MPa), foi calculada mediante a divisão da carga no momento da fratura pela área do corpo-de-prova. As dimensões de espessura e largura de cada espécime foram medidas com auxílio de um paquímetro digital de precisão (*Starrett-727-6/150, Itu, SP, Brasil*).

Análise estatística

Os dados foram tabulados e submetidos ao teste ANOVA seguido pelo de *Tukey* à 5% de significância.

RESULTADOS

As medias e desvio-padrão para o teste de resistência de união (*RU*) dos tratamentos com diferentes concentrações do *ESU* para os dois sistemas adesivos estão expostos na tabela 1.

Os resultados mostraram que para o sistema adesivo *Scotch Bond Multipurpose* não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e os grupos onde foi realizado o pré-tratamento da dentina com *ESU*, independente da concentração

de *ESU* utilizada ($P>0,05$). A aplicação do *ESU* nas concentrações de 30, 50 e 70% foram similares estatisticamente entre si ($P>0,05$) e resultaram em maiores valores de resistência de união que o grupo controle ($P<0,05$) quando o sistema adesivo *Single Bond Universal* fora utilizado.

Tabela 1 - Médias e seus respectivos desvios-padrão (\pm) dos valores de resistência de união resina/dentina.

Adesivo	Sem tratamento	<i>ESU</i> 30%	<i>ESU</i> 50%	<i>ESU</i> 70%
<i>Scotch Bond Multipurpose</i>	26,26 (8,21) ^{bA}	21,03 (4,37) ^{aA}	22,98 (6,74) ^{aA}	23,75 (7,98) ^{aA}
<i>Single Bond Universal</i>	18,91 (6,59) ^{aB}	29,25 (8,55) ^{bA}	25,31 (5,33) ^{aA}	31,06 (7,92) ^{bA}

ESU, extrato de semente de uva. Letras minúsculas similares na mesma coluna indicam semelhança estatística. Letras maiúsculas similares na mesma linha indicam semelhança estatística. Significância de 5% no teste estatístico.

A análise do padrão de fratura demonstrou que para o sistema adesivo *Scotch Bond Multipurpose* houve um predomínio de fraturas mistas quando foi feito o tratamento da dentina com *ESU*, e coesiva em resina para o grupo controle. Para o sistema adesivo *Single Bond Universal*, quando foi utilizado o *ESU* 30% houve predomínio de fraturas coesivas em resina; quando foi utilizado *ESU* 50% houve similaridade entre os tipos de fratura; e, para o grupo controle e onde foi aplicado *ESU* 70% houve predomínio de fraturas mistas.

Tabela 2 - Análise do padrão de fratura

Adesivo	Sem tratamento	<i>ESU</i> 30%	<i>ESU</i> 50%	<i>ESU</i> 70%
<i>Scotch Bond Multipurpose</i>	35%FM – 65% FCR	90% FM – 10%FCR	60% FM – 40% FCR	65% FM - 35%FCR
<i>Single Bond Universal</i>	80% FM – 20% FCR	35% FM – 65% FCR	50% FM 50% FCR	70% FM - 30% FCR

DISCUSSÃO

A dentina é um tecido complexo mineralizado disposto através de um quadro tridimensional. Composta por 70% de mineral, 20% de matéria orgânica e 10% de água. Com a desmineralização, as fibras colágenas mantem a forma e tamanho da dentina original. Em procedimentos restauradores, ocorre a formação de uma camada híbrida, fundamental para criação de boas ligações dentina-resina.²

A busca incessante da odontologia em contornar as limitações impostas pelos materiais restauradores tem estimulado o desenvolvimento de inúmeros estudos. Na presente pesquisa, os resultados obtidos demonstraram que o tratamento da dentina utilizando o ESU em diferentes concentrações aumentou significativamente a resistência de união na interface adesiva quando utilizado o sistema adesivo *Single Bond Universal*. Entretanto para o sistema adesivo *Scotch Bond Multipurpose* não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e os grupos onde foi realizado o pré-tratamento da dentina com *ESU*, independente da concentração de utilizada. Portanto, a hipótese em que todas as concentrações testadas aumentariam os valores de resistência de união da resina a dentina foi parcialmente aceita. Tais resultados coincidem com os observados por Grenn *et al.*⁶ (2010) e Castellan¹ (2010). De maneira semelhante ao estudo apresentado, tais autores realizaram experimentos com sistemas adesivos utilizando-se o *ESU*, obtendo-se aumento significativo nos valores de resistência de união e estabilidade.

A influência positiva do *ESU* nas interações adesivas, pode ser explicada principalmente pois este, quando utilizado em adesivos dentinários, possui inúmeras propriedades, entre elas fortalecer a matriz dentinária, devido as interações PA-colágeno, capacidade melhorar a resistência da matriz, inibindo a biodegradação de

fibrilas de colágeno não protegidas dentro da camada híbrida, assim preservando a estrutura para a deposição mineral ⁶⁻⁷. Além disso, os agentes de ligação cruzada de colágeno, podem agir diretamente nas enzimas. A indução de ligações cruzadas na matriz dentinária, pode reduzir a taxa de intumescimento. Assim, contribuindo para o mascaramento dos locais de separação, ou ainda na redução da atividade das colagenases e também possui efeito direto sobre as principais proteases dentinárias endógenas, devido as modificações exercidas no substrato. Desta forma, essas substâncias contribuem para a resistência da matriz dentinária contra a ação das colagenases ⁸⁻⁹⁻¹⁰.

Segundo a literatura, o *ESU*, se liga com as proteínas, para induzir a formação dessas ligações cruzadas de diferentes maneiras, entre elas: interação covalente, interação iônica, interação de ligação de hidrogênio ou interações hidrofóbicas. Portanto oferece maior capacidade de ligação com o colágeno quando utilizado ¹¹. Além disso, o *ESU* mostrou que proteínas ricas em prolina, como o colágeno, apresenta uma maior afinidade por agentes ricos em proanocinidinas. Assim, a prolina, um aminoácido com um oxigênio carbonílico adjacente a um nitrogênio da amina secundária, tendo maior aceitação pelas ligações de hidrogênio. Desta forma, o colágeno apresenta grande quantidade de prolina, na sua composição, favorecendo a formação de ligações de hidrogênio extremamente fortes com as substâncias ricas em proantocinidinas, como o *SEU* ¹².

Quando comparado o sistema adesivo BRESCHI¹³ (2008), quanto mais simplificado o sistema adesivo menos durável ele se apresenta, enquanto os sistemas de condicionamento total, de 3 ou de 2 passos apresentam os melhores resultados nos estudos avaliados. Neste estudo os sistemas adesivos testados, são classificados conforme a remoção da *smear layer*, em condicionamento total de três passos (*Scotch*

Bond Multipurpose) e de 2 passos (*Single Bond Universal*), ao avaliar os resultados apenas entre os grupos controle, pode se verificar que o sistema menos simplificado mostrou valores de *RU* maiores quando comparados ao sistema de dois passos. Porém, quando testado o sistema simplificado após o pre-tratamento com *ESU* em várias concentrações, houve um aumento significativo na *RU*, superando os valores alcançados pelos grupos controle.

Referente aos solventes utilizados e sistemas adesivos, pode se observar que em estudos anteriores Castellan ¹(2010) e Castellan ⁸(2013) constatou se um comportamento mais previsível, quando o adesivo utilizado apresentava se a base de água e etanol, devido este ser um solvente miscível em água e com a capacidade de doar hidrogênios, assim mantendo fortemente ligados a água. Neste estudo, foram utilizados dois sistemas adesivos para avaliar o possível efeito dos componentes do sistema de ligação na força de resistência, após o tratamento da dentina com o *ESU*. *Scotch Bond Multipurpose* e *Single Bond Universal* são sistemas a base de etanol. Este estudo observou que embora os sistemas adesivos apresentarem em comum a base, o etanol, houve diferenças estatisticamente entre os agentes de ligação, pois quando o sistema *Scotch Bond Multipurpose* fora utilizado não houve diferença estatisticamente significativa na resistência de união entre o grupo controle e os grupos onde foi realizado o pré-tratamento da dentina com *ESU*. Porém, quando o sistema adesivo foi o *Single Bond Universal*, após o tratamento da dentina utilizando o *ESU* em diferentes concentrações, aumentou significativamente a resistência de união na interface adesiva. Assim, os resultados encontrados vão de encontro ao estudo realizado por Seseogullaridirihan ¹⁴ (2015) o qual observou não haver diferenças estatisticamente entre os agentes de ligação e o tratamento dentinário.

O sistema adesivo *Single Bond Universal* (3M ESPE, St.Paul, EUA), foi lançado em 2012 pelo fabricante com o intuito de tornar mais simples e impedir erros durante a aplicação. Pode ser aplicado de duas formas: como autocondicionante e com condicionamento ácido total de esmalte e dentina prévio ¹⁵. Dessa forma, possui em sua composição moléculas com alto poder de ligação química 10-MDP e copolímero de ácido polialenoico, nesse contexto, a literatura tem mostrado, que essa união química, promovida por essas moléculas, mostra-se mais eficaz e com maior estabilidade, quando comparado com outros monômeros ¹⁶⁻¹⁷. Assim, segundo Lin *et al.* ¹⁸ (1992) para os adesivos autocondicionantes, ligações químicas entre monômeros policarboxílicos (como VCP) e hidroxiapatita desempenham um papel fundamental para o processo de adesão, em que grupos carboxílicos substituem os íons fosfato, dando origem a ligações iônicas com o cálcio do substrato. Além disso, Perdigão *et al.* ¹⁹ (2012) chegou à conclusão que independente da condição da dentina, seja ela úmida ou seca, os resultados da resistência de união não demonstraram diferenças estatísticas. O sistema adesivo *Single Bond Universal* difere do adesivo *Scotch Bond Multipurpose*, principalmente na substituição parcial dos monômeros de dimetacrilato com o monômero de 10-metacrilóiloxidecil di-hidrogenofosfato (MDP) para fornecer acidez por sua capacidade de auto-corrosão. Dessa forma, esses estudos vão ao encontro aos resultados positivos desse trabalho, pois quando utilizado o sistema adesivo *Single Bond Universal*, o grupo mostrou-se com propriedades de adesão superiores aos outros grupos, em que outro sistema adesivo foi utilizado.

Quando as interfaces fraturadas foram avaliadas sob análise no microscópio óptico, observou-se que houve diferenças entre os grupos controles, para o sistema adesivo *Scotch Bond Multipurpose*, houve predomínio de fraturas coesivas em resina, já para o *single Bond Universal* a grande maioria foi mistas. Assim, confirmando o melhor

desempenho quando utilizado o sistema adesivo menos simplificado ¹³. Já quando analisados os grupos tratados com *ESU*, nas concentrações testadas, o grupo de sistema adesivo *Scotch Bond Multipurpose*, teve um aumento das fraturas mistas, porém não interferindo na resistência de união, pois foi possível observar que não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e os grupos onde foi realizado o pré-tratamento da dentina com *ESU*. Já quando foi utilizado o sistema adesivo universal, houve um aumento das fraturas coesivas, sendo possível observar um aumento significativo na resistência de união na interface adesiva. Esse resultado pode ser explicado, devido ao fato que o *ESU*, mostra um melhor desempenho quando utilizado juntamente com um sistema adesivo autocondicionante, devido o mesmo apresentar propriedades, como já citadas, as quais favorecem ao aumento da capacidade de ligação com o colágeno quando este é utilizado ¹¹⁻¹².

A redução no tempo de pré-tratamento com soluções ricas em proantocinidinas, foram pesquisados por vários autores Bredan-Russo ²⁰ (2006) buscou avaliar melhoras na resistência a tração final, onde as amostras permaneceram imersas durante 4 e 40 horas. Já Al-Ammar ¹¹ (2009) utilizou o tempo de 1 hora de imersão dos corpos de prova nas soluções, para avaliar a resistência de união da dentina. Outros autores já conseguiram atingir um tempo clinicamente viável, com o estudo de Castellan¹ (2010) na qual utilizou como tempo de pre-tratamento de 1 minuto. Neste estudo, foi avaliado a *RU* da dentina tratada durante 1 minuto com *ESU*, em três concentrações, os resultados imediatos mostraram maiores valores quando 70% do *ESU* foi utilizado comparando com o grupo controle para o *Single Bond Universal*, reafirmando uma melhor interação do extrato com este sistema adesivo.

Portanto sugere que utilização de agentes de ligação cruzada como *ESU*, pode ser uma nova alternativa na prática clínica, contribuindo para melhorar as propriedades

do substrato dentinário, possibilitando maior longevidade dos procedimentos restauradores e oportunizando a preservação da estrutura dental. Apesar de neste estudo não haver aumento nos valores de resistência de união imediatos quando foi realizado o tratamento da dentina com *ESU*, espera-se que trabalhos de longevidade comprovem a eficácia dessa técnica.

CONCLUSÃO

O *ESU* não alterou os valores de resistência de união para o sistema adesivo *Scotch Bond Multipurpose*, por outro lado houve um aumento da resistência de união imediata após o uso de agentes de ligação cruzada com o *ESU*, independente da concentração, quando o sistema adesivo utilizado foi *Single Bond Universal*. O tempo de tratamento utilizado neste estudo, de 1 minuto mostrou-se como um método viável para ser reproduzido clinicamente. Assim, a aplicação de indutores de ligações cruzada durante procedimentos restauradores pode ser uma nova opção para melhorar as propriedades do substrato dentinário, oferecendo melhor resistência, sem diminuir a infiltração resinosa, e conseqüentemente melhorar a resistência de união na interface adesiva.

REFERÊNCIAS

1. Catellan C. S. Estudo da matriz orgânica dentinária modificada por agentes naturais ricos em proantocinidina e seu uso para aumentar a efetividade de restaurações adesiva. Tese (Programa de pós-graduação em odontologia/Materiais dentários) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, 2010.
2. Liu R, Fang M, Xiao Y, Li F, Yu L, Zhao S, Shen L, Chen J. The effect of transiend proanthocyanidins preconditioning o the cross-linking and mechanical properties of desmineralized dentin. *J Mater Sci: Mater Med* 2011; 2403-2411.
3. Kinney JH, Habelitz S, Marshall SJ, Marshall GW. The importance of intrafibrillar mineralization of collagen on the mechanical properties of dentin. *J Dent Res* 2003; 82 (12): 957-961.
4. Bedran-Russo A K., Sachin K, Pashley DH, Viana G. Site-specific properties of carious dentin matrices biomodified with collagen cross-linkers. *Am J Dent* 2013; 26 (5): 244-248.
5. Castellan CS, Pereira PN, Grande RH, Bredan-Russo AK. Mechanical characterization of proanthocyanidin-dentin matrix interaction. *J Dent Mater* 2010; 26 (10): 968-973.
6. Green B, Yao X, Ganguly A, Xu C, Dusevich V, Walke MP, Wang Y. Grape seed proanthocyanidins increase collagen biodegradation resistance in the dentin/adhesive interface when included in an adhesive. *J Dent* 2010; 38 (11): 908-915.
7. Tang C, Fang M, Liu R, Dou Q, Chai Z, Xiao Y, Chen J. The role of grape seed extract in the remineralization of demineralized dentine: Micromorphological and physical analyses. *Archives of oral biology* 2013; 58, 1769-1776.
8. Castellan CS, Bredan-Russo AK, Antunes A, Pereira PNR. Effect of Dentin Biomodification Using Naturally Derived Collagen Cross-Linkers: One-Year Bond Strength Study. *Int J Dent* 2013; 13, 1-6.
9. Souza ABS, Vidal CMP, Leme-Kraus AA, Pires-De-Souza FCP, Bredan-Russo AK. Experimental primers containing synthetic and natural compounds reduce enzymatic activity at the dentin–adhesive interface under cyclic loading. *Dent Mater* 2016; 32 (10): 1248–1255.

10. Aydin B, Leme-Kraus AA, Vidal CMP, Aguiar TR, Phansalkar RS, Nam JW, et al. Evidence to the role of interflavan linkages and galloylation of proanthocyanidins at sustaining long-term dentin biomodification. *Dent Mater* 2019; 35(2): 328-34.
11. Al-Ammar A, Drummond JL, Bredan-Russo AK. The use of collagen cross-linking agentes to enhance dentin bond strength. *J Bio Mater Res B Appl Biomater* 2009; 91(1): 419-429.
12. Han B, Jaurequi J, Tang BW, Nimni M. Proanthocyanidin: A natural crosslinking reagent for stabilizing collagen matrices. *J Biomed Mater* 2003; 65(1): 118-124.
13. Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cardenaro M., Di Lenarda R, Dorigo ES. Dental adhesion review: Aging and stabilityVof the bonded interface. *Dent Mater* 2008; 24 (1): 90-101.
14. Seseogullari - Dirihan R, Apololonio F, Mazzoni A, Tjaderhane L, Pashley, L, Breschi A, Tezyergil - Mutluay. Use of crosslinkers to inactivate dentin MMPs. *J Dent Mater* 2015; 32 (3): 423-432.
15. Kose C, De Paula EA, Mena Serrano A P, Tay LY, Reis A, Loguercio AD, Perdigão J. Aplication of a new universal adhesive system: case report. *Rev assoc paul cir dente* 2013; 67 (3): 202-6.
16. Perdigao J, Kose C, Mena-Serrano A P, De Paula EA, Tay LY, Reis A, Loguercio A.D. A New Universal Simplified Adhesive: 18-Month Clinical Evaluation. *Operative Dentistry* 2014; 39 (2): 113-127.
17. Dib Arinelli A M, Pereira K F, Prado N A S, Rabello TB. Current adhesive systems, *Rev. Bras. Odontol.* 2016; 73 (3): 242-46.
18. Lin A, Mcintyre NS, Davidson RD. Studies on the Adhesion of Glass-ionomer Cements to Dentin *J Dent Res* 1992; 71 (11): 1836-1841.
19. Perdigao J, Sezinando A, Montrito PC. Laboratory bonding ability of a multi-purpose dentin adhesive. *Am J Dent.* 2012; 25 (4): 226.
20. Bedran-Russo AK, Pereira PNR, Duarte WR, Drummond JL, Yamauchi M. Aplication of crosslinkers to Dentin collagen Enhances the Ultimate Tensile Strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2007; 80 (1): 268-272.