



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA RESTAURADORA
CURSO DE ODONTOLOGIA

RAQUEL FARIAS CARNEIRO

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE BIOMODIFICAÇÃO DENTINÁRIA DO
LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU

FORTALEZA

2020

RAQUEL FARIAS CARNEIRO

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE BIOMODIFICAÇÃO DENTINÁRIA DO
LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado à Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial para obtenção da
graduação no curso de Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Vicente de Paulo Aragão
Saboia.

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C29a Carneiro, Raquel Farias.
Avaliação do potencial de biomodificação dentinária do líquido da casca da castanha de caju / Raquel Farias Carneiro. – 2020.
31 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, , Fortaleza, 2020.
Orientação: Prof. Dr. Vicente de Paulo Aragão Saboia .

1. Dentina. 2. Colágeno. 3. Polifenóis. 4. Reagentes para Ligações Cruzadas. I. Título.

CDD

RAQUEL FARIAS CARNEIRO

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE BIOMODIFICAÇÃO DENTINÁRIA DO
LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Odontologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção da graduação no curso de Odontologia.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Vicente de Paulo Aragão Saboia (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Emmanuel Arraes de Alencar Júnior
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Lidiane Costa de Souza
Universidade Federal do Ceará (UFC)

À Deus;

Aos meus pais, Noélia e Onetí;

Aos meus irmãos, Rebeca e Emanuel.

Amo-os incondicionalmente.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por seu infinito amor, perdão e fidelidade. Obrigada por ser tudo em minha vida e fazer toda essa caminhada ser possível.

Aos meus pais, **Noélia e Onetí**, por serem base do que sou e acredito, pela presença e cuidado em todos os momentos, pelo amor incondicional e incentivo em busca dos meus sonhos. Amo muito vocês.

À minha irmã, **Rebeca**, por ser sempre um exemplo de dedicação e esforço. Você é a pessoa mais determinada que eu conheço, obrigada por me ensinar a enfrentar as dificuldades.

Ao meu irmão, **Emanuel**, por toda torcida, companheirismo e pela autenticidade da nossa amizade. Com certeza minha vida é mais descontraída com você.

Ao meu primo, **Helder**, por ser outro irmão que Deus me deu e em quem eu posso sempre confiar. Obrigada pelos ensinamentos de TI.

A toda a minha **família**, por todo incentivo, fé e carinho compartilhado, por todas as orações e vivências.

Às minhas amigas, **Macielle e Beatriz**, pela singularidade, pela naturalidade dos sorrisos, sintonias e sincronias, e muitas recíprocas verdadeiras. Obrigada por todos esses anos de amizade verdadeira.

À minha dupla, **Bárbara Lima**, pela cumplicidade, pelo trabalho compartilhado e por me fazer rir todos os dias durante a graduação. Você me ensinou a descomplicar situações difíceis, a ter perseverança nos meus objetivos e a viver intensamente. Espero que seja uma profissional de muito sucesso.

A **Turma de Odontologia UFC 2020.1**, por tornarem as aulas mais descontraídas e pelas habilidades compartilhadas durante os semestres. Vocês são únicos e merecem o melhor, sempre.

As minha coorientadoras de TCC e iniciação científica, **Nayara Souza, Diana Cunha e Nara Rodrigues**, por toda atenção, acessibilidade e incentivo a pesquisa científica. Obrigada por todos os ensinamentos e auxílio durante a realização de projetos, dos trabalhos no laboratório e nas jornadas odontológicas. Admiro e tenho um carinho imenso por cada uma de vocês.

Ao **Professor Dr. Vicente Saboia**, pelo comprometimento em ser meu orientador. Obrigada pelas oportunidades ao longo da graduação, por todo o conhecimento científico transmitido e pelo apoio e confiança em mim depositados.

À **Professora Dra. Ana Cristina Melo Fiallos**, pela orientação no PIBID. Admiro imensamente o amor e o zelo que a senhora transmite na docência e aos seus pacientes. Obrigada por todo o ensino.

Ao **Projeto de Restauração em Prótese Removível**, por sempre nos receber com carinho e atenção. Aprendi com cada um de vocês o significado de empatia, obrigada.

Agradeço também ao **Projeto Promovendo Sorrisos**, por todo o aprendizado e trabalho em equipe com pacientes autistas.

A **Universidade Federal do Ceará**, **funcionários** e **docentes** desta instituição que contribuíram para minha formação.

RESUMO

Restaurações em resina composta ainda apresentam um desafio na durabilidade de união à estrutura dentária devido à rápida degradação do colágeno exposto na interface resina-dentina. A estratégia de biomodificação dentinária melhora as propriedades mecânicas e bioquímicas da matriz de dentina, aumentando a rigidez e estabilidade do colágeno e, portanto, melhorando a longevidade das restaurações. Atualmente, o glutaraldeído (GA) é o agente biomodificador padrão-ouro, mas apresenta como desvantagem elevada citotoxicidade. O Líquido da casca da castanha de caju (LCC) é um produto natural rico em polifenóis, extraído em processo químico ou mecânico, LCC natural (LCCn), ou em processo térmico em alta temperatura, LCC técnico (LCCT). O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do LCCn e LCCT sobre as propriedades mecânicas da dentina desmineralizada. Trinta terceiros molares humanos foram seccionados em forma de barras e desmineralizados em ácido fosfórico 10%. Imediatamente, a matriz de dentina foi submetida ao ensaio de flexão de três pontos para obter o módulo de elasticidade (ME) inicial. Após randomização, os espécimes foram tratados por 60 segundos de acordo com os seguintes grupos (n=15): controle negativo (água destilada- AD), controle positivo (GA 5%), LCCn a 2% e LCCT a 2%. Em seguida, o ME dos espécimes foi avaliado novamente de forma imediata e a cada 7 dias durante 4 semanas de armazenamento em saliva artificial. Além da avaliação da rigidez do colágeno dentinário foi mensurada a taxa de degradação através da variação de massa das amostras de dentina. Os dados foram comparados por meio do teste ANOVA seguido dos pós teste de Bonferroni ($p < 0,05$). ANOVA a 1 fator foi utilizada na comparação entre os grupos em um mesmo período. ANOVA para medidas repetidas foi utilizado na comparação intragrupos em períodos diferentes. O ME após 4 semanas de armazenamento foi maior para o grupo tratado com LCCT, seguido pelo GA, aumentando a rigidez do colágeno em 422% e 250%, respectivamente. No entanto, o LCCn não mostrou diferença estatística no ME quando comparado ao controle negativo no mesmo período de armazenamento. Os valores da variação de massa mostraram uma menor degradação do colágeno nos grupos LCCT e GA comparados ao LCCn e AD. Portanto, o LCCT apresenta potencial para ser utilizado como agente de biomodificação dentinária em um tempo clínico viável.

Palavras-chave: Dentina. Colágeno. Polifenóis. Reagentes para Ligações Cruzadas.

ABSTRACT

Composite resin restorations still present a challenge in bonding durability to the dental structure due to fast degradation of exposed collagen at the resin-dentin interface. The dentin biomodification strategy improves the mechanical and biochemical properties of the dentin matrix, increasing the stiffness and stability of the collagen and, therefore, improving the longevity of restorations. Currently, glutaraldehyde (GA) is the gold standard biomodifying agent, but has a high cytotoxicity disadvantage. Cashew Nutshell Liquid (LCC) is a natural product rich in polyphenols, extracted in a chemical or mechanical process, natural LCC (LCCn), or in a high temperature thermal process, technical LCC (LCCt). The aim of this study was to evaluate the effect of LCCn and LCCt on the mechanical properties of demineralized dentin. Thirty human third molars were sectioned into bars and demineralized in 10% phosphoric acid. Immediately, the dentin matrix was subjected to the three-point bending test to obtain the initial elastic modulus (E). After randomization, specimens were treated for 60 seconds according to the following groups (n=15): negative control (distilled water - AD), positive control (5% GA), LCCn (2%) and LCCt (2%). Then, E was evaluated again immediately and every 7 days for 4 weeks of storage in artificial saliva. In addition to the evaluation of dentinal collagen stiffness, the degradation rate was measured by varying the mass of dentin bars. The data were compared using ANOVA test followed by Bonferroni post-test ($p < 0.05$). ANOVA 1-way was used to compare groups in the same period. ANOVA for repeated measures was used in intra-groups comparison at different periods. The E after 4 weeks of storage was higher for the group treated with LCCt, followed by GA, increasing the collagen stiffness by 422% and 250%, respectively. However, the LCCn showed no statistical difference in the E when compared to the negative control in the same storage period. The mass variation values showed less collagen degradation in the LCCt and GA groups compared to LCCn and AD. Therefore, LCCt has the potential to be used as a dentin biomodification agent in a viable clinical time.

Keywords: Dentin. Collagen. Polyphenols. Cross-linking Reagents.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Descrição dos grupos experimentais.....	17
Tabela 2 - Variação do módulo de elasticidade do colágeno dentinário (MPa)	19
Tabela 3 - Variação de massa do colágeno dentinário (mg)	19

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química dos principais componentes do LCC.	16
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CTs Cisteína-catepsinas

GA Glutaraldéido

LCC Líquido da casca da castanha de caju

LCCn Líquido da casca da castanha de caju natural

LCCt Líquido da casca da castanha de caju técnico

MMPs Metaloproteínases de matriz

PAC Proantocianidina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos específicos	15
3 MATERIAIS E MÉTODOS	16
4 RESULTADOS	19
5 DISCUSSÃO.....	21
6 CONCLUSÃO	24
REFERÊNCIAS	25
APÊNDICE A- TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES HUMANOS	31

1 INTRODUÇÃO

A dentina constitui o maior volume da estrutura dentária e, portanto, corresponde ao principal substrato de adesão dos materiais restauradores resinosos (BERTASSONI, 2017). Esse tecido mineralizado complexo é organizado em uma estrutura tridimensional composto por túbulos preenchidos de fluidos que se estendem da polpa à junção amelodentinária (BEDRAN-RUSSO *et al.*, 2014). Sua constituição úmida e heterogênea, formada de minerais, componentes orgânicos e água, dificultam o sucesso do procedimento restaurador com materiais resinosos (TOLEDANO *et al.*, 2001; VAN MEERBEECK *et al.*, 2003).

A camada híbrida tem sido descrita como o mecanismo necessário para união dos materiais restauradores resinosos à dentina (NAKABAYASHI; KOJIMA; MASUHARA, 1982; VAN MEERBEECK *et al.*, 1993; MIYAZAKI; ONOSE; MOORE, 2002). Para essa adesão, a superfície dentinária desmineralizada é envolta por monômeros do adesivo, formando um embricamento micromecânico entre o colágeno e o polímero (NAKABAYASHI; KOJIMA; MASUHARA, 1982; BRESCHI *et al.*, 2008; CARDOSO *et al.*, 2011; PASHELY *et al.*, 2011; TJÄDERHANE *et al.*, 2013). Entretanto, as áreas incompletamente infiltradas por monômeros, sobretudo na base da camada híbrida, são consideradas zonas mais susceptíveis à degradação inicial da interface adesiva (CHERSONI *et al.*, 2003; WANG *et al.*, 2003; CARRILHO *et al.*, 2007). Assim, o colágeno desprotegido na camada híbrida sofre degradação hidrolítica pela presença de água residual, além da atividade enzimática de metaloproteinases de matriz (MMPs) e cisteínas-catepsinas (CTs), reduzindo a longevidade da restauração (MAZZONI *et al.*, 2012a, 2012b; FRASSETTO *et al.*, 2016; BETANCOURT; BALDION; CASTELLANOS, 2019).

A biomodificação dentinária tem sido proposta como uma estratégia para melhorar as propriedades mecânicas e bioquímicas da dentina através da formação de ligações cruzadas de colágeno inter e intramoleculares (BEDRAN-RUSSO *et al.*, 2006; AL-AMMAR; DRUMMOND; BEDRAN-RUSSO, 2009; TJÄDERHANE, 2015). Durante o procedimento adesivo, a aplicação prévia de agentes bioativos em dentina desmineralizada aumentou a resistência de união do adesivo à dentina (AL-AMMAR; DRUMMOND; BEDRAN-RUSSO, 2009; CASTELLAN *et al.*, 2010; CHIANG *et al.*, 2013; HASS *et al.*, 2016; ALBUQUERQUE *et al.*, 2019). Isso é possível devido à redução da hidrofiliabilidade da camada híbrida, aumento do número de ligações cruzadas de colágeno e inibição inespecífica da atividade proteolítica de MMPs e CTs (BEDRAN-RUSSO *et al.*, 2014; LEME *et al.*, 2014;

PASHELY *et al.*, 2014; SESEOGULLARI-DIIRIHAN *et al.*, 2016). Dessa forma, a rede de colágeno se torna mais estável e resistente a biodegradação, consequentemente aumentando a longevidade da restauração (AL-AMMAR; DRUMMOND; BEDRAN-RUSSO, 2009).

Os agentes bioativos utilizados na estratégia de biomodificação dentinária podem ser classificados em físicos, que utilizam em sua maioria a exposição à luz, especialmente à radiação ultravioleta, ou em químicos, sendo estes sintéticos ou naturais (COVA *et al.*, 2011; BEDRAN-RUSSO *et al.*, 2014; BRESHI *et al.*, 2018; CECCHIN; FARINA; BEDRAN-RUSSO, 2018). Dentre os agentes sintéticos mais amplamente reconhecidos na literatura, destaca-se a carbodiimida e o glutaraldeído (GA), sendo este considerado padrão-ouro na formação de ligação cruzada com colágeno em dentina (BEDRAN-RUSSO *et al.*, 2014; SINGH, *et al.*, 2016). O GA, em concentrações baixas, é capaz de aumentar a rigidez e estabilidade estrutural do colágeno por meio de ligações covalentes entre os grupos aldeído e os grupos amina das fibras de colágeno (MACIEL *et al.*, 1996; WINE *et al.*, 2007; BEDRAN-RUSSO *et al.*, 2008; CHEN *et al.*, 2016). No entanto, apesar de sua eficácia como agente biomodificador, apresenta como desvantagem alta citotoxicidade, o que limita sua aplicabilidade clínica (HUANG-LEE *et al.*, 1990; XU *et al.*, 2013; HASS *et al.*, 2016).

Devido a essa desvantagem do uso do GA, agentes naturais derivados de plantas, classificados como polifenólicos, têm se tornado uma escolha mais promissora por apresentarem menor toxicidade quando comparado aos sintéticos e por serem provenientes de fontes renováveis (SHI *et al.*, 2003; WALTER *et al.*, 2008; BEDRAN-RUSSO *et al.*, 2014; FONSECA *et al.*, 2019). A proantocianidina (PA) derivada do extrato da semente da uva é o agente biomodificador natural mais intensivamente estudado na literatura devido sua capacidade de reduzir a degradação enzimática do colágeno (CASTELLAN *et al.*, 2010; BEDRAN-RUSSO *et al.*, 2014). Entretanto, o tempo de aplicação relativamente longo e a pigmentação do tecido dental prejudica seu uso clínico (AL-AMMAR; DRUMMOND; BEDRAN-RUSSO, 2009; MOREIRA *et al.*, 2017). Dessa forma, outros agentes naturais contendo polifenóis vêm sendo investigados (BEDRAN-RUSSO *et al.*, 2014).

Anacardium Occidentale Linn, nome científico do cajueiro, uma planta nativa do nordeste do Brasil e disseminada em diversos países, produz através de suas nozes, um óleo viscoso conhecido como líquido da casca da castanha de caju (LCC) (MAZZETTO; LOMONACO; MELE, 2009). Essa substância de coloração marrom avermelhada é rica em constituintes fenólicos, que são caracterizados por longas cadeias de carbono insaturado com a presença de hidroxila no anel aromático (SALEHI *et al.*, 2019).

O LCC pode ser classificado em natural (LCCn) ou técnico (LCCt) de acordo com

o método utilizado para sua extração, o que conseqüentemente modifica sua composição (MUBOFU; MGAYA, 2018). O LCC natural é obtido por extração química (utilizando solventes) ou mecânica (prensagem hidráulica) (KUMAR *et al.*, 2009; CARAVACA; VERARDO; CABONI, 2010). Já o LCC técnico é extraído através de um processo térmico em elevada temperatura (cerca de 200 °C) (OSMARI *et al.*, 2015; MGAYA *et al.*, 2019). Durante a torrefação para obtenção do LCCt, o ácido anacárdico contido na casca da castanha sofre uma reação de descarboxilação convertendo-se em cardanol (KUMAR *et al.*, 2002). Dessa forma o LCCt contém 67- 94% de cardanol, 3-18% de cardol e 1-2% de ácido anacárdico. Enquanto o LCCn possui aproximadamente 71-82% de ácido anacárdico, 13-20% de cardol e 1-9% de cardanol (OSMARI *et al.*, 2015; LOMONACO *et al.*, 2017 CARVALHO *et al.*, 2019).

Os compostos fenólicos do LCC mostraram ampla aplicabilidade no campo da medicina devido suas propriedades biológicas, tais como anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana e larvicida, além da inibição de 2-MMPs e 9-MMPs (LOMONACO *et al.*, 2009; PARASA *et al.*, 2011; OMANAKUTTAN *et al.*, 2012; SOUZA *et al.*, 2018; GOMES JÚNIOR *et al.*, 2020). Já na Odontologia, Moreira *et al.* (2017) mostraram que compostos isolados do LCC, cardol e cardanol, foram capazes de preservar o colágeno dentinário através da biomodificação dentinária. No entanto, esses compostos em sua forma pura são difíceis de serem separados do LCC e, ainda, apresentam-se em pequenas quantidades, elevando os custos para a sua obtenção (MAZZETTO; LOMONACO; MELE, 2009). Por outro lado, o LCCn e o LCCt são abundantes como subprodutos da indústria do caju que gera toneladas desse óleo considerado um produto de baixo valor agregado (LOMONACO *et al.*, 2017). Portanto, um estudo que utilizasse esses produtos a fim de comprovar o efeito biomodificador sobre a dentina desmineralizada em um tempo de aplicação clinicamente viável, seria de grande relevância científica.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

- Avaliar o potencial de biomodificação dentinária do líquido da casca da castanha de caju.

2.2 Objetivos específicos:

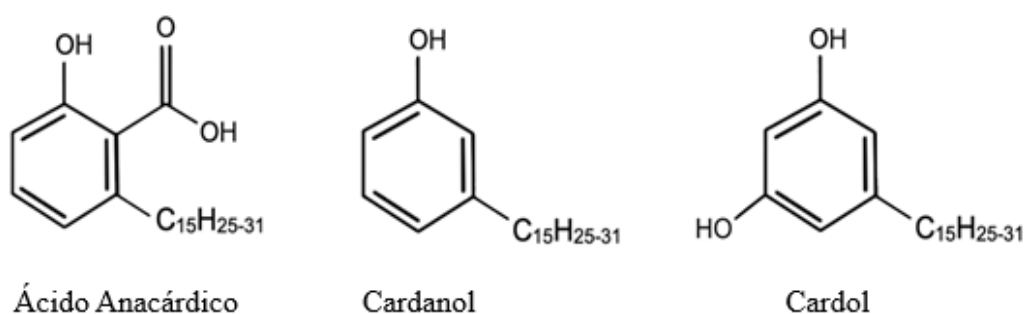
- Analisar a capacidade do LCC natural e técnico em preservar o colágeno dentinário sob degradação em saliva artificial.
- Comparar o efeito do LCC natural e técnico com o glutaraldeído, agente de ligação cruzada de colágeno padrão-ouro na literatura.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Obtenção do LCC

O LCC foi cedido gentilmente pela Amêndoas do Brasil LTDA (Fortaleza, Brasil). O LCC natural foi extraído através de prensagem mecânica da casca da castanha de caju à temperatura ambiente. Já para LCC técnico, as castanhas foram aquecidas a 180° C, a qual a superfície exterior da noz era rompida, liberando o líquido do mesocarpo. Os principais componentes do LCC obtido em sua forma técnica e natural estão representados na figura 1.

Figura 1 - Estrutura química dos principais componentes do LCC.



3.2 Preparo das soluções

O LCC natural e técnico foram diluídos em uma solução hidroetanólica (1:1) na concentração de 2% em peso, assim como descrito por Moreira *et al.*, (2017). Para atingir tal concentração, foi pesado 0,2g da substância através de uma balança de precisão (Shimadzu, modelo Auw220D, Japão) e diluído em 10ml de água/etanol. Em seguida, foi colocado sob agitação magnética (Marconi, modelo, MA 085/CT, São Paulo, Brasil) por 2 minutos em temperatura ambiente. O glutaraldeído (Sigma-Aldrich Corp) foi diluído em água destilada a 5% (0.0499 mol/l).

3.3 Preparo dos espécimes de dentina

Trinta molares humanos extraídos hígidos foram obtidos após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará (protocolo 3.647.364). Os dentes obtidos através de doação (apêndice A) foram armazenados em suspensão de timol a 0,1% em peso a uma temperatura de 4° C.

A biomodificação dentinária foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Aguiar *et al.*, (2014). Para isso, os dentes foram cortados em uma máquina (Isomet 4000; Buehler, Lake Bluff, EUA) com disco diamantado sob refrigeração constante. Dois cortes perpendiculares ao longo eixo do dente foram realizados de modo a obter espécimes de

dentina média com formato de discos. Em seguida, os discos foram seccionados em forma de barras (1,7 mm de largura x 0,5 mm de espessura x 6 mm de comprimento). Após o corte, os espécimes de dentina foram desmineralizados em solução de ácido fosfórico (H_3PO_4) (Sigma-Aldrich Corp) 10% durante 5 horas a 22 °C.

3.4 Biomodificação dentinária

As barras de dentina desmineralizadas foram submetidas ao ensaio de flexão de três pontos para obter o módulo de elasticidade (ME) inicial. Após a randomização, os espécimes foram tratados de acordo com os seguintes grupos experimentais (n=15) controle negativo (água destilada), controle positivo (glutaraldeído 5%), LCC natural 2% e LCC técnico 2% (tabela 1).

Tabela 1- Descrição dos grupos experimentais

Grupo	Tratamento dentinário
Controle Negativo	Água destilada
Controle Positivo	Solução aquosa de glutaraldeído 5%
LCCn	Solução hidroetanólica de LCC natural 2%
LCCt	Solução hidroetanólica de LCC técnico 2%

A biomodificação foi realizada através da imersão das amostras de dentina desmineralizadas em 1 ml de solução do agente biomodificador durante 60 segundos. Já o grupo controle negativo foi imerso em água destilada pelo mesmo período.

3.6 Módulo de elasticidade

Os espécimes foram avaliados imediatamente e após 1, 2, 3 e 4 semanas (S1-S4) depois de serem imersos em suas respectivas soluções. Para mensuração do ME, as barras de dentina foram posicionadas sob um aparato com distância de 2.5 mm entre as extremidades do suporte e submetidos ao teste de flexão de três pontos através de uma máquina universal de ensaio (Instron 4484; Instron Inc., Canton, EUA), utilizando uma célula de carga de 5N na velocidade de 0,5 mm/min. As curvas de deslocamento de carga foram convertidas em curvas de tensão-deformação e os valores expressos em MPa. A largura e a espessura das barras foram mensuradas através de um paquímetro digital com precisão de 0,01 mm (Mitutoyo Corporation, Kawasaki, Japão). A variação do módulo de elasticidade foi calculado como a razão entre o valor final (após o tratamento) e o valor inicial.

Ao final de cada avaliação do ME, os espécimes eram armazenados em microtubos contendo 1 mL de saliva artificial (5 mM de HEPES, 2,5 mM de $CaCl_2$, 0,05 mM de $ZnCl_2$ e 120 mM de NaCl) com pH ajustado para 7,4 a 37°C por um período de quatro semanas para degradação do colágeno (MOREIRA et al., 2017).

3.7 Variação de Massa

A variação de massa foi determinada através da mensuração do peso das barras de dentina desmineralizadas antes e após a biomodificação, além de a cada 7 dias durante 4 semanas armazenados em saliva artificial. Para isso, os espécimes foram inicialmente secos em uma dessecadora a vácuo (0810, Nalgon, São Paulo, Brasil) contendo sílica gel por 24 horas a temperatura ambiente e em seguida, pesados em uma balança analítica com precisão de 0,01 mg (AUX-220, Shimadzu, Tóquio, Japão).

3.8 Análise estatística

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e comparados por meio do teste ANOVA seguido dos pós teste de Bonferroni ($p < 0,05$). ANOVA a 1 fator foi utilizada na comparação entre os grupos em um mesmo período. ANOVA para medidas repetidas foi utilizado na comparação intragrupos em períodos diferentes (SPSS 20.0 para Windows, $p < 0,05$).

4 RESULTADOS

A média e o desvio padrão do módulo de elasticidade do colágeno dentinário foram calculados e estão descritos na tabela 2. O tratamento da dentina desmineralizada com LCCt 2%, LCCn 2% e GA 5% mostrou uma redução do ME após a biomodificação. Entretanto, houve um aumento gradual do ME para os grupos LCCt e GA, a qual depois de 4 semanas de armazenamento aumentaram o ME em 422% e 250%, respectivamente. Já o grupo tratado LCCn reduziu o ME na segunda semana de armazenamento, apesar de não apresentar diferença estatística entre os períodos S1 a S4. Após 4 semanas em saliva artificial, o LCCt apresentou maior ME, seguido pelo GA quando comparados ao LCCn e AD, não havendo diferença estatística entre esses dois últimos grupos.

Tabela 2 - Variação do módulo de elasticidade do colágeno dentinário (MPa)

	Inicial	Após Biom.	S1	S2	S3	S4	p-Valor*
Módulo							
Controle negativo	1,98±0,67 ^{Aa}	1,55±0,61 ^{Aa}	1,93±1,06 ^{Ab}	2,22±1,35 ^{Ab}	2,33±1,09 ^{Ab}	2,30±1,16 ^{Ac}	0,199
Controle positivo	1,73±0,61 ^{Ba}	0,75±0,59 ^{Cb}	3,46±1,89 ^{Aa}	4,07±2,33 ^{Aa}	4,67±2,12 ^{Aa}	6,07±2,60 ^{Ab}	<0,001
LCCn	1,90±0,46 ^{Ba}	0,97±0,39 ^{Cb}	6,98±4,49 ^{Aa}	6,73±3,73 ^{Aa}	5,34±3,66 ^{Aa}	3,71±2,58 ^{Ac}	0,001
LCCt	1,89±0,67 ^{Ba}	0,63±0,43 ^{Cb}	2,64±1,56 ^{Aa}	4,15±1,89 ^{Aa}	6,45±2,23 ^{Aa}	9,87±2,31 ^{Aa}	<0,001
p-Valor[†]	0,724	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

*Teste ANOVA para medidas repetidas seguido do pós-teste de Bonferroni ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes: diferença significativa entre os períodos de avaliação. Letras minúsculas diferentes: diferença significativa entre os grupos de avaliação.

Os resultados da variação de massa são apresentados na tabela 3. O LCCn e LCCt conservaram a massa dos espécimes de dentina, evitando a degradação até a primeira e segunda semana de armazenamento, respectivamente. O GA conservou a massa dos espécimes em todos os períodos de armazenamento. Após 4 semanas em saliva artificial, os espécimes de dentina tratados com GA e LCCt apresentaram maiores valores de massa comparado ao LCCn e AD, não havendo diferença estatística entre esses dois últimos grupos.

Tabela 3 - Variação de massa do colágeno dentinário (mg)

	Inicial	Após Biom.	S1	S2	S3	S4	p-Valor*
Massa							
Controle negativo	3,74±0,64 ^{Ba}	3,82±0,81 ^{Aa}	3,47±0,66 ^{Ca}	3,19±0,63 ^{Ca}	2,98±0,69 ^{Ca}	2,83±0,69 ^{Db}	0,001
Controle positivo	3,70±0,68 ^{Aa}	3,70±0,92 ^{Aa}	3,81±0,68 ^{Aa}	3,62±0,71 ^{Aa}	3,41±0,80 ^{Aa}	3,58±0,76 ^{Aa}	0,111

(continua)

Tabela 3 - Variação de massa do colágeno dentinário (mg)

	Inicial	Após Biom.	S1	S2	S3	S4	(conclusão) p-Valor*
Massa							
LCCn	3,69±0,48 ^{Aa}	3,84±0,50 ^{Aa}	3,49±0,51 ^{Aa}	3,33±0,44 ^{Ba}	3,19±0,49 ^{Ba}	2,92±0,53 ^{Cb}	0,004
LCCt	3,89±0,62 ^{Aa}	3,64±0,68 ^{Aa}	3,49±0,61 ^{Aa}	3,33±0,65 ^{Aa}	3,22±0,62 ^{Ba}	3,03±0,42 ^{Ba}	0,031
p-Valor[†]	0,791	0,853	0,378	0,283	0,378	0,007	

*Teste ANOVA para medidas repetidas seguido do pós-teste de Bonferroni ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes: diferença significativa entre os períodos de avaliação. Letras minúsculas diferentes: diferença significativa entre os grupos de avaliação.

5 DISCUSSÃO

O colágeno tipo I compreende 90% da matriz orgânica da dentina e suas moléculas exibem ligações cruzadas que são a base para a estabilidade, resistência à tração e viscoelasticidade das fibrilas de colágeno além de desempenharem função importante na adesão dos materiais resinosos ao substrato dentinário (BEDRAN-RUSSO *et al.*, 2011; AGUIAR *et al.*, 2014). A biomodificação dentinária proporciona um aumento da densidade de ligações cruzadas de colágeno, facilitando a infiltração de monômeros do adesivo na rede de colágeno, tornando-a resistente à degradação enzimática e estável ao longo do tempo (BEDRAN-RUSSO *et al.*, 2014; RYOU *et al.*, 2016).

O líquido da casca da castanha de caju pode ser isolado e gerar compostos, tal como cardol e cardanol. Estes foram investigados como potenciais agentes de biomodificação dentinária (MOREIRA *et al.*, 2017 e DE-PAULA *et al.*, 2020). No entanto, a obtenção desses materiais gera um elevado custo no processo de separação e purificação, além de produzir somente uma baixa fração de substâncias isoladas (MAZZETTO; LOMONACO; MELE, 2009). O presente estudo mostrou que o LCC técnico, obtido através da torrefação da casca da castanha de caju, sem passar pelo processo de separação e purificação, conseguiu resultados similares aos encontrados pelo cardol e cardanol que o torna um diferencial em custo-benefício.

O módulo de elasticidade e a resistência à degradação do colágeno, após 4 semanas em saliva artificial, foram maiores para os grupos tratados com LCCt 2% e GA 5%, podendo ser justificado pela composição dessas substâncias. O glutaraldeído possui grupos funcionais carbonila (C=O) em ambas extremidades de sua cadeia molecular, os quais reagem com aminoácidos lisina e hidroxilisina do colágeno, formando ligações cruzadas do tipo covalente intra e intermoleculares (MESQUIDA *et al.*, 2018; BEDRAN-RUSSO *et al.*, 2014). Já o LCCt possui como componente majoritário o cardanol, substância conhecida na literatura pelo seu efeito de biomodificação dentinária (MOREIRA *et al.*, 2017; DE-PAULA *et al.*, 2020; FERREIRA *et al.*, 2020). A presença de hidroxila no anel aromático do cardanol é responsável por realizar pontes de hidrogênio com o colágeno dentinário (Figura 1) (MOREIRA *et al.*, 2017). De-Paula *et al.* (2020) mostraram que a incorporação do cardanol em ácido fosfórico 37% aumentou a resistência de união do adesivo à dentina e reduziu a nanoinfiltração, fato atribuído a sua capacidade de reticulação e sua propriedade hidrofóbica.

O módulo de elasticidade da dentina tratada com os agentes testados não aumentou imediatamente após a biomodificação, mas sim de forma gradual ao longo de 4

semanas. O glutaraldeído é um agente de fixação conhecido por sua penetração lenta no tecido (RUIJGROK, M.; WIJN, J. R.; BOON, M. E., 1994). Tal fato pode justificar os resultados obtidos ao utilizar um tempo de aplicação reduzido. Mendes (2018) mostrou que o aumento da rigidez do colágeno tratado com glutaraldeído foi dependente do tempo de aplicação, visto que em 1 min este não foi capaz de aumentar o ME de forma imediata em contraste com os resultados de imersão no agente por 1 hora.

Assim como para o grupo GA 5%, o LCCT 2% e LCCn a 2% não aumentaram o ME quando verificado logo após a biomodificação. O resultado pode ser justificado pelo peso molecular das substâncias, pois moléculas grandes tornam a penetração na rede de colágeno mais lenta (EPASINGHE et al., 2014). Ainda, a natureza hidrofóbica do LCCT e LCCn pode prejudicar a difusão inicial na dentina desmineralizada, considerada mais hidrofílica (KUMAR et al. 2002; BEDRAN-RUSSO et al., 2014; MOREIRA *et al.*, 2017; MARTINS et al., 2018). Portanto, as ligações cruzadas de colágeno podem ter ocorrido mais tardiamente, após a hidrólise parcial dos polifenóis durante o armazenamento em água (MOREIRA *et al.*, 2017).

O tratamento dentinário com LCC natural apresentou o maior módulo de elasticidade após a primeira semana de biomodificação, no entanto, este diminuiu ao longo de 4 semanas. Provavelmente esse aumento inicial tenha ocorrido devido a sua abundância em ácido anacárdico, um composto fenólico com grupamentos carboxílicos de alta afinidade à amina das fibras de colágeno (QUEIROZ, 2015). Este ácido também apresenta capacidade de inibir MMP-2 e MMP-9, evitando a atividade colagenolítica e, portanto, a degradação do colágeno (OMANAKUTTAN *et al.*, 2012; LIMA et al., 2020). Por outro lado, a decomposição do ácido anacárdico ao longo do tempo libera íons H⁺, responsável pela acidez do LCCn (MATIAS *et al.*, 2017), o que pode justificar a redução do ME e da massa do colágeno com o decorrer do tempo de armazenamento.

A variação de massa mensura indiretamente a degradação do colágeno dentinário (SESEOGULLARI-DIRIHAN et al., 2015). O GA e o LCCT foram capazes de estabilizar a perda de massa após 4 semanas de armazenamento. A maior concentração de cardanol (67-94%) e menor de ácido anacárdico (1-2%) na composição do LCCT podem ter evitado a degradação da dentina desmineralizada, conservando a massa dos espécimes (OSMARI et al. 2015). Esses resultados estão de acordo com o ensaio de resistência flexural, a qual mostrou um aumento da rigidez do colágeno dentinário tratado com os referidos agentes de biomodificação.

Embora os espécimes de dentina tratados com GA tenham apresentado bons resultados em relação ao ME e a variação de massa, estes apresentaram uma desvantagem que não se observou nos demais grupos: uma pigmentação amarelada. Embora o LCCn e o LCCt sejam considerados óleos de cor escura, a diluição em etanol/água tornou a solução transparente e não alterou a cor da dentina desmineralizada.

A LCCt mostrou-se como potencial agente de biomodificação dentinária. No entanto, mais estudos são necessários para compreender o mecanismo da formação suas de ligação cruzada com colágeno dentinário.

6 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, é possível concluir que a utilização do líquido da casca da castanha do caju obtido em sua forma técnica demonstrou potencial para melhorar a rigidez do colágeno dentinário e aumentar a resistência à degradação após quatro semanas em saliva artificial. O efeito crosslinking ocorreu em um tempo de aplicação clínico viável (1min).

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, T. R. *et al.* Dentin Biomodification Potential Depends on Polyphenol Source. **J Dent Res.**, v. 93, n. 4, p. 417-422, fev. 2014.
- AL-AMMAR, A.; DRUMMOND, J. L.; BEDRAN-RUSSO, A. K. The use of collagen cross-linking agents to enhance dentin bond strength. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater.**, Hoboken, v. 91, n. 1, p. 419-424, out. 2009.
- ALBUQUERQUE, N. L. G. *et al.* Effect of Polymeric Microparticles Loaded With Catechin on the Physicochemical Properties of an Adhesive System. **Operative Dentistry**, v. 44, n. 4, p. 202-211, jul. 2019.
- BEDRAN-RUSSO, A. K. *et al.* Application of crosslinkers to dentin collagen enhances the ultimate tensile strength **J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater.**, v. 80, n. 1, p. 268-272, 2006.
- BEDRAN-RUSSO, A. K. *et al.* Changes in stiffness of demineralized dentin following application of collagen crosslinkers. **J Biomed Mater Res Part B: Applied Biomaterials**, v. 86, n. 2, p. 330-334, ago. 2008.
- BEDRAN-RUSSO, A. K. *et al.* Characterization of biomodified dentin matrices for potential preventive and reparative therapies. **Acta Biomater.**, v. 7, n. 4, p. 1735-1741, abr. 2011.
- BEDRAN-RUSSO, A. K. *et al.* Dentin biomodification: strategies, renewable resources and clinical applications. **Dent Mater.**, v. 30, n. 1, p.62-76, jan. 2014.
- BERTASSONI, L. E. Dentin on the nanoscale: hierarchical organization, mechanical behavior and bioinspired engineering. **Dent Mater.**, v. 33, n. 6, p. 637-649, jun. 2017.
- BETANCOURT, D. E.; BALDION, P. A.; CASTELLANOS, J. E. Resin-Dentin Bonding Interface: Mechanisms of Degradation and Strategies for Stabilization of the Hybrid Layer. **Int J Biomater.**, v. 2019, p.1-11, 3 fev. 2019.
- BRESCHI, L. *et al.* Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. **Dent Mater.**, v. 24, n. 1, p. 90-101, jan. 2008.
- CARDOSO, M. V. *et al.* Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry. **Aust Dent J.**, v. 56, p. 31-44, 13 maio 2011.
- CARRILHO, M. R. O. *et al.* In vivo Preservation of the Hybrid Layer by Chlorhexidine. **J Dent Res.**, v. 86, n. 6, p. 529-533, jun. 2007.
- CARAVACA, A. M.; VERARDO, V.; CABONI, M.F.; Chromatographic techniques for the determination of alkyl-phenols, tocopherols and other minor polar compounds in raw and roasted cold pressed cashew nut oils. **J Chromatogr A.**, v. 1217, n. 47, p. 7411-7417, nov. 2010.
- CASTELLAN, C. S. *et al.* Mechanical characterization of proanthocyanidin–dentin matrix interaction. **Dent Mater.**, v. 26, n. 10, p. 968-973, out. 2010.

- CECCHIN, D.; FARINA, A. P.; BEDRAN-RUSSO, A. K. Efficacy of Natural Collagen Crosslinkers on the Compromised Adhesive Bond Strength to NaOCl-treated Pulp Chamber Dentin. **J Adhes Dent.**, v. 20, n. 4, p. 365-369, ago. 2018.
- CHEN, C. *et al.* Glutaraldehyde-induced remineralization improves the mechanical properties and biostability of dentin collagen. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.**, v. 67, p.657-665, out. 2016.
- CHERSONI, S. *et al.* Water movement in the hybrid layer after different dentin treatments. **Dent Mater.**, v. 20, n. 9, p. 796-803, nov. 2004.
- CHIANG, Y. S. *et al.* Riboflavin-ultraviolet-A-induced collagen cross-linking treatments in improving dentin bonding. **Dent Mater.**, v. 29, n. 6, p. 682-692, jun. 2013.
- COVA, A. *et al.* Effect of UVA-activated Riboflavin on Dentin Bonding. **J Dent Res.**, v. 90, n. 12, p. 1439-1445, 22 set. 2011.
- DE-PAULA, D. M. *et al.* Influence of collagen cross-linkers addition in phosphoric acid on dentin biomodification and bonding of an etch-and-rinse adhesive. **Dent Mater.**, v. 36, ed. 1, p. 1-8, 1 jan. 2020.
- EPASINGHE, D. J. *et al.* Effect of flavonoids on the mechanical properties of demineralised dentine. **J Dent**, v. 42, n. 9, p. 1178-1184, set. 2014.
- FEITOSA, V. P. *et al.* Degradation of Adhesive-Dentin Interfaces Created Using Different Bonding Strategies after Five-year Simulated Pulpal Pressure. **J Adhes Dent.**, v. 21, n. 3, p. 199-207, 14 maio 2019.
- FERREIRA, A. C. *et al.* Biomodifying Effect of Different Cross-Linking Agents on the Mechanical Properties of Dentin Collagen. **Rev. Bras. Odontol.**, v. 77, p. 1836-1841, 2020.
- FONSECA, B. M. *et al.* Mechanical-physicochemical properties and biocompatibility of catechin-incorporated adhesive resins. **J Appl Oral Sci.**, v. 27, ed. 7, p. 01-11, 7 jan. 2019.
- FRASSETTO, A. *et al.* Mechanisms of degradation of the hybrid layer in adhesive dentistry and therapeutic agents to improve bond durability—A literature review. **Dent Mater.**, v. 32, n. 2, p. 41-53, fev. 2016.
- GOMES JÚNIOR, A.L. *et al.* Anti-Inflammatory, Antinociceptive, and Antioxidant Properties of Anacardic Acid in Experimental Models. **ACS Omega**, v. 29, n. 5, p. 19506-19515, jul. 2020.
- HASHIMOTO, M. *et al.* SEM and TEM analysis of water degradation of human dentinal collagen. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater.**, v. 66B, n. 1, p. 287-298, 15 jul. 2003.
- HASS, V. *et al.* Collagen cross-linkers on dentin bonding: Stability of the adhesive interfaces, degree of conversion of the adhesive, cytotoxicity and in situ MMP inhibition. **Dent Mater.**, v. 32, n. 6, p.732-741, jun. 2016.

- HUANG, B. *et al.* Biodegradation of resin–dentin interfaces is dependent on the restorative material, mode of adhesion, esterase or MMP inhibition. **Dent Mater.**, v. 34, n. 9, p. 1253-1262, set. 2018.
- HUANG-LEE, L. L. H. *et al.* Biochemical changes and cytotoxicity associated with the degradation of polymeric glutaraldehyde derived crosslinks. **J Biomed Mater Res.**, v. 24, n. 9, p. 1185-1201, set. 1990.
- KUMAR, P. P. *et al.* Process for Isolation of Cardanol from Technical Cashew (Anacardium occidentale L.) Nut Shell Liquid. **J Agric Food Chem.**, v. 50, n. 16, p. 4705-4708, 31 jul. 2002.
- KUMAR, S. P. *et al.* Experimentation on solvent extraction of polyphenols from natural waste. **J Mater Sci.**, v. 44, n. 3, p. 5894–5899, jan. 2009.
- LEME, A. A. *et al.* 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, jul. 2015.
- LEE, J.; SABATINI, C. Glutaraldehyde collagen cross-linking stabilizes resin-dentin interfaces and reduces bond degradation. **Eur J Oral Sci.**, v. 125, n. 1, p. 63-71, 16 nov. 2016.
- LIMA, R. A. *et al.* Antimicrobial effect of anacardic acid-loaded zein nanoparticles loaded on Streptococcus mutans biofilms. **Braz J Microbiol.**, v. 41, ed. 5, p. 1244-1259, 19 jun. 2020.
- LOMONACO, D. *et al.* Study of technical CNSL and its main components as new green larvicides. **Green Chem.**, v. 11, n. 1, p. 31–33, jan. 2009.
- LOMONACO, D., MELE, G., MAZZETTO, S. Cashew Nutshell Liquid (CNSL): From an Agro-industrial Waste to a Sustainable Alternative to Petrochemical Resources. **Materials Science**, p. 19-38, 2017.
- MACIEL, K.T. *et al.* The Effects of Acetone, Ethanol, HEMA, and Air on the Stiffness of Human Decalcified Dentin Matrix. **J Dent Res.**, v. 75, n. 11, p. 1851-1858, nov. 1996.
- MARTINS, L. F. B. *et al.* Enhancing bond strength on demineralized dentin by pre-treatment with selective remineralising agents. **J Mech Behav Biomed Mater**, v. 81, ed. 8, p. 214-221, maio 2018.
- MATIAS, R. *et al.* Cashew nut shell liquid and formulation: toxicity during the germination of lettuce, tomato seeds and coffee senna and seedling formation. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 39, n. 4, p. 487-496, 11 ago. 2017.
- MAZZETTO, S. E.; LOMONACO, D.; MELE, G. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Quim. Nova**, v. 32, n. 3, p. 732-741, abr. 2009.
- MAZZONI, A. *et al.* MMP Activity in the Hybrid Layer Detected with in situ Zymography. **J Dent Res.**, v. 91, n. 5, p. 467-472, 21 fev. 2012a.

MAZZONI, A. *et al.* Effects of Etch-and-Rinse and Self-etch Adhesives on Dentin MMP-2 and MMP-9. **J Dent Res.**, v. 92, n. 1, p. 82-86, 5 nov. 2012b.

MENDES, T. A. D. Associação entre a técnica úmida etanólica e diferentes agentes de biomodificação de colágeno no procedimento adesivo em dentina. 2018. Dissertação (Mestrado) - Curso de Odontologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

MESQUIDA, P. *et al.* Evaluation of surface charge shift of collagen fibrils exposed to Glutaraldehyde. **Sci Reports**, v. 10126, n. 8, p. 1-7, 2018.

MGAYA, J. *et al.* Cashew nut shell: a potential bio-resource for the production of bio-sourced chemicals, materials and fuels. **Green Chem.**, v. 21, n. 6, p. 1186-1201, jan. 2019.

MIYAZAKI, M.; ONOSE, H.; MOORE, B. K. Analysis of the dentin-resin interface by use of laser Raman spectroscopy. **Dent Mater.**, v. 18, n. 8, p. 576-580, dez. 2002.

MUBOFU, E. B.; MGAYA J. E. Chemical Valorization of Cashew Nut Shell Waste. **Top Curr Chem.**, v. 376, n. 8, p. 1-15, set. 2018.

MOREIRA, M. A. *et al.* Efficacy of new natural biomodification agents from Anacardiaceae extracts on dentin collagen cross-linking. **Dent Mater.**, v. 33, n. 10, p. 1103-1109, out. 2017.

NAKABAYASHI, N.; KOJIMA, K.; MASUHARA, E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. **J Biomed Mater Res.**, v. 16, n. 3, p. 265-273, maio 1982.

OMANAKUTTAN, A. *et al.* Anacardic Acid Inhibits the Catalytic Activity of Matrix Metalloproteinase-2 and Matrix Metalloproteinase-9. **Mol Pharmacol.**, v. 82, ed. 4, p. 614-622, out. 2012.

OSMARI, M. P. *et al.* Líquido da casca da castanha de caju: características e aplicabilidades na produção animal. **PubVet.**, Maringá, v. 9, n.3, p. 143-149, mar. 2015.

PARASA, L. S. *et al.* In vitro antimicrobial activity of cashew (*Anacardium occidentale*, L.) nuts shell liquid against methicillin resistant staphylococcus aureus (MRSA) clinical isolates. **Int J Pharm Pharmace Sci.**, v. 3, n. 4, p. 436-440, jan. 2009.

PASHLEY, D. H. *et al.* State of the art etch-and-rinse adhesives. **Dent Mater.**, v. 27, n. 1, p. 1-16, jan. 2011.

QUEIROZ, C. M. F. Ácido anacárdico como agente de limpeza cavitária em odontologia adesiva. 2015. 52 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Odontologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

RUIJGROK, M.; WIJN, J. R.; BOON, M. E. Glutaraldehyde crosslinking of collagen: Effects of time, temperature, concentration and presoaking as measured by shrinkage temperature, **Clin. Mater.** v. 17, n. 1, p. 23-27, out. 1994.

RYOU, H. *et al.* On the stiffness of demineralized dentin matrices. **Dent Mater.**, v. 32, n. 2, p. 161-170, fev. 2016.

- SABATINI, C. *et al.* Inhibition of endogenous human dentin MMPs by Gluma. **Dent Mater.**, v. 30, n. 7, p. 752–758, jul, 2014.
- SALEHI, B. *et al.* *Anacardium* Plants: Chemical, Nutritional Composition and Biotechnological Applications. **Biomolecules**, v. 9, n. 9, p. 465-499, Set. 2019.
- SCHEFFEL, D. L. S. *et al.* Inactivation of Matrix-bound Matrix Metalloproteinases by Cross-linking Agents in Acid-etched Dentin. **Oper Dent.**, v. 39, n. 2, p. 152-158, 1 mar. 2014.
- SERKIES, K. B. *et al.* Matrix metalloproteinase inhibitor modulates esterase-catalyzed degradation of resin–dentin interfaces. **Dent Mater.**, v. 32, n. 12, p. 1513-1523, dez. 2016.
- SESEOGULLARI-DIRIHAN, R. *et al.* Use of crosslinkers to inactivate dentin MMPs. **Dent Mater.**, v. 32, n. 3, p. 423-432, mar. 2016.
- SINGH, P. *et al.* Effect of carbodiimide on the structural stability of resin/dentin interface. **J Conserv Dent.**, v. 19, n. 6, p. 501-509, dez. 2016.
- SHI, John *et al.* Polyphenolics in Grape Seeds—Biochemistry and Functionality. **J Med Food.**, v. 6, n. 4, p. 291-299, dez. 2003.
- SOUZA, M. Q. Molecular evaluation of anti-inflammatory activity of phenolic lipid extracted from cashew nut shell liquid (CNSL). **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 18, n. 18, p. 1-11, 2018.
- TJÄDERHANE, L. *et al.* Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. **Dent Mater.**, v. 29, n. 1, p. 116-135, jan. 2013.
- TJÄDERHANE, L. *et al.* Strategies to prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer—A review. **Dent Mater.**, v. 29, n. 10, p. 999-1011, out. 2013.
- TJÄDERHANE, L. Dentin Bonding: Can We Make it Last?. **Oper Dent.**, v. 40, n. 1, p. 4-18, jan. 2015.
- TOLEDANO, M. *et al.* Influence of self-etching primer on the resin adhesion to enamel and dentin. **Am J Dent.**, v. 14, n. 4, p. 205-210, ago. 2001.
- VAN MEERBEEK, B. *et al.* Comparative SEM and TEM Examination of the Ultrastructure of the Resin-Dentin Interdiffusion Zone. **J Dent Res.**, v. 72, n. 2, p. 495-501, fev. 1993.
- VAN MEERBEEK, B. *et al.* Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. **Oper Dent.**, v. 28, n. 4, p. 215–235, jun. 2003.
- WANG, Y. *et al.* Hybridization Efficiency of the Adhesive/Dentin Interface with Wet Bonding. **J Dent Res.**, v. 82, n. 2, p. 141-145, fev. 2003.

WINE, Y. *et al.* Elucidation of the mechanism and end products of glutaraldehyde crosslinking reaction by X-ray structure analysis. **Biotechnol Bioeng.**, v. 98, n. 3, p. 711-718, 2007.

XU, Y. *et al.* In vitro cytocompatibility evaluation of alginate dialdehyde for biological tissue fixation. **Carbohydr Polym.**, v. 92, n. 1, p.448-454, jan. 2013.

APÊNDICE A- TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES**TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES HUMANOS**

Eu, _____, portador do RG _____, inscrito no CRO _____, residente à (Rua, Avenida) _____, nº _____, bairro _____ na cidade de _____, Estado _____, CEP _____ telefone _____, concordo em doar de forma voluntária _____ dentes para realização da pesquisa intitulada AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE BIOMODIFICAÇÃO DENTINÁRIA DO LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU. Declaro que estes dentes foram extraídos por indicação terapêutica. Estou ciente que serão utilizados por alunos e pesquisadores da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará para realização de pesquisas.

_____, _____ de _____ de 20____.

Assinatura do doador