



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA

CECÍLIA ATEM GONÇALVES DE ARAÚJO COSTA

INFLUÊNCIA DE INIBIDORES DE METALOPROTEINASES DA MATRIZ (MMPs)
NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO DE UM SISTEMA ADESIVO
AUTOCONDICIONANTE EM DENTINA HÍGIDA E EROSIVAMENTE
DESMINERALIZADA

FORTALEZA

2013

CECÍLIA ATEM GONÇALVES DE ARAÚJO COSTA

**INFLUÊNCIA DE INIBIDORES DE METALOPROTEINASES DA MATRIZ (MMPs)
NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO DE UM SISTEMA ADESIVO
AUTOCONDICIONANTE EM DENTINA HÍGIDA E EROSIVAMENTE
DESMINERALIZADA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Área de concentração: Clínica Odontológica

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Lima Santiago.

FORTALEZA

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

C871i Costa, Cecília Atem Gonçalves de Araújo.

Influência de inibidores de metaloproteinases da matriz (MMPs) na resistência de união de um sistema adesivo autocondicionante em dentina hígida e erosivamente desmineralizada / Cecília Atem Gonçalves de Araújo Costa. – 2013.

50f. : il. color., enc. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Mestrado em Odontologia, Fortaleza, 2013.

Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientação: Prof. Dr. Sérgio Lima Santiago.

1. Dentina. 2. Erosão Dentária. 3. Metaloproteinases da Matriz. I. Título.

CDD 617.69

CECÍLIA ATEM GONÇALVES DE ARAÚJO COSTA

**A INFLUÊNCIA DE INIBIDORES DE METALOPROTEINASES DA MATRIZ
(MMPs) NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO DE UM SISTEMA ADESIVO
AUTOCONDICIONANTE EM DENTINA SADIA E ERODIDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Área de concentração: Clínica Odontológica

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Sérgio Lima Santiago (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Profa. Dra Monica Yamauti
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Gislaine Cristina Padovani

Ao meu marido Mário, pelo seu incentivo e apoio incondicional e aos meus tesouros, Luisa e Miguel, dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Ceará, na pessoa do seu Magnífico Reitor Prof. Dr. Jesualdo Pereira Farias.

À Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, em nome da Diretora Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, em nome da Coordenadora Profa. Dra. Lidiany Karla Azevedo Rodrigues.

À minha mãe Ediane, aos meus irmãos Juliana, Érica e Leonardo e às minhas sobrinhas Carolina, Maria Eduarda e Manuela, pela compreensão nos meus momentos ausentes e pela ajuda com os meus pequenos, em casa ou na escola, sempre que precisei. Vocês são meu porto seguro! Amo vocês! Obrigada.

À minha sogra D. Cileda, por seu exemplo de vida e superação e pelo enorme amor com o qual cuidou dos meus filhos, sempre que estive ausente. Muito obrigada.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Sérgio Lima Santiago, por sua excelente orientação e confiança na minha capacidade de realizar este trabalho.

À Profa Dra. Vanara Florêncio Passos, pelo seu apoio em todas as fases desta pesquisa, por sua constante disponibilidade em esclarecer minhas dúvidas e pela simplicidade com a qual repassa seus valiosos conhecimentos.

Ao Prof. Dr. Juliano Sartori Mendonça, pelos ensinamentos e pela análise estatística deste estudo.

A todas as minhas colegas de turma, em especial: Carolina Alexandrino de Arraes Alencar, Deborah Cavalcante Bezerra Magalhães, Élvia de Araújo Rodrigues, Mirella de Sousa Pereira, Catarina Martins Tahim e Richelle Soares Rodrigues pela amizade e companheirismo nessa jornada.

Às colegas de orientação Maria Denise Rodrigues Moraes (com suas palavras de fé, que sempre confortam nos momentos de angústia) e Nadine Luisa Soares de Lima

Guimarães (com sua imensa disponibilidade e interesse em ajudar) e cujas amizades foram espontâneas e instantâneas. Muito obrigada!

À Jorgiana Silva de Assis e Jiovanne Rabelo Neri, pelos ensinamentos da etapa laboratorial.

Ao técnico David Queiroz de Freitas, pela enorme ajuda no laboratório. Obrigada por dividir seus conhecimentos e pela sua enorme solicitude.

Aos bolsistas Francisco Adeilson Alves de Macedo, Mirele Nobre Ferreira Bringel e Marcelo Victor Sidou Lemos e à monitora Jéssica Rodrigues Mendes Carneiro pela ajuda imprescindível nas diversas fases desse trabalho.

Aos voluntários da coleta salivar, obrigada pelo compromisso com o qual se envolveram no meu projeto.

À Profa. Dra. Renata de Sousa Alves, pela disponibilização do Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas (LACT) e ao técnico de laboratório Glautemberg de Almeida Viana, pelo auxílio com os equipamentos.

RESUMO

Objetivo: analisar a influência do uso de inibidores de metaloproteinases da matriz [epigallocatequina-3-galato (EGCG) e digluconato de clorexidina (CHX)] utilizados como pré-tratamento dentinário sobre a resistência de união de um sistema adesivo autocondicionante em dentina hígida (H) e erosivamente desmineralizada (ED). **Materiais e Métodos:** terceiros molares humanos hígidos extraídos tiveram o terço oclusal seccionado, expondo a superfície dentinária subjacente ao esmalte. A microdureza de superfície (Knoop) da dentina exposta foi usada como parâmetro para a seleção de 36 dentes, que foram aleatoriamente distribuídos em 6 grupos experimentais, de acordo com o tipo de dentina e com o pré-tratamento empregado (n=6): HAD (Hígida + Água destilada); HCHX (Hígida + CHX a 2%); HEGCG (Hígida + EGCG a 0,1%); EDAD (Erosivamente desmineralizada + Água destilada); EDCHX (Erosivamente desmineralizada + CHX a 2%); EDEGCG (Erosivamente desmineralizada + EGCG a 0,1%). Todos os grupos foram submetidos à formação de uma película adquirida com saliva humana e, em seguida, os dentes dos grupos EDAD, EDCHX e EDEGCG foram submetidos a um ciclo erosivo (ácido cítrico 1%, pH 3,75; 3x/dia por 5 dias), enquanto que nos grupos HAD, HCHX e HEGCG, a solução ácida foi substituída por água destilada. No período entre os ciclos, os espécimes foram armazenados em saliva artificial durante 2 h. Após os ciclos, as superfícies dentinárias (hígidas e erosivamente desmineralizadas) foram pré-tratadas com 15 µL da solução, ativamente, por 60 s e, posteriormente, o sistema adesivo Clearfil SE Bond® (CSEB) foi aplicado e um platô de 4 mm de resina composta Filtek Z250® foi construído. Após estocagem em água destilada a 37 °C por 24 h, os dentes foram cortados em forma de palitos, os quais foram submetidos a um ensaio mecânico de microtração à velocidade de 0,5 mm/min. **Resultados:** os valores de resistência de união (MPa) foram estatisticamente avaliados por ANOVA a dois critérios (condição da dentina e pré-tratamento) e teste de Bonferroni (entre grupos), com nível de significância de 5%. Os grupos tratados com CHX apresentaram valores de resistência de união estatisticamente inferiores ($p < 0,05$) em relação aos demais grupos, independentemente da condição de dentina. Os grupos com pré-tratamento com água destilada e EGCG não apresentaram diferenças significantes entre si ($p > 0,05$). **Conclusão:** o uso de CHX influenciou negativamente, enquanto o uso de EGCG não influenciou a resistência de união do sistema adesivo CSEB à dentina hígida (H) e erosivamente desmineralizada (ED).

Palavras-chave: dentina, erosão dentária, metaloproteinases da matriz e clorexidina.

ABSTRACT

Objective: to analyze the influence of the use of two matrix metalloproteinases inhibitors [epigallocatechin-3-gallate (EGCG) and chlorhexidine digluconate (CHX)] as pretreatment solutions on dentin bond strength of a self-etch adhesive system on sound (H) and erosively demineralized dentin (ED). **Materials and Methods:** intact human third molars were sectioned on the occlusal third, exposing the underlying dentin surface. The surface hardness (Knoop) from exposed dentin was used as a parameter for the selection of 36 teeth that were randomly divided into 6 experimental groups according to the type and dentin pretreatment employed (n=6): HAD (sound + distilled water); HCHX (sound + 2% CHX); HEGCG (sound + 0,1% EGCG); EDAD (erosively demineralized + distilled water); EDCHX (erosively demineralized + 2% CHX); EDEGCG (erosively demineralized + 0,1% EGCG). All groups were subjected to an acquired pellicle formation with human saliva and then, teeth from EDDW, EDCHX and EDEGCG groups were subjected to an erosion cycle (1% citric acid, pH 3.75, 3 3x/day, during 5 days), whereas in the groups HAD, HCHX and HEGCG the acid solution was replaced by distilled water. Between the cycles, specimens were stored in artificial saliva for 2 h. After the cycles, dentin surfaces (sound and erosively demineralized) were pretreated with 15 µL of the solution, actively, for 60 s and than Clearfil SE Bond[®] (CSEB) was applied and a 4mm resin build up was made with composite resin Filtek Z250[®]. After storage in distilled water at 37 °C for 24 h, specimens were sectioned in sticks, which were subjected to a which were subjected to a microtensile mechanical test with speed of 0.5 mm/min. **Results:** bond strength values (MPa) were statistically evaluated by two-way ANOVA (dentin condition and pretreatment) and Bonferroni test (between groups), with a significance level of 5%. The groups treated with CHX showed bond strength values statistically lower ($p < 0.05$) compared to the other groups, regardless of the condition of dentin. Groups with pretreatment with distilled water and EGCG showed no significant differences between them ($p > 0.05$). **Conclusion:** the use of CHX influenced negatively, while the use of EGCG did not affect the bond strength of CSEB to sound and erosively demineralized dentin.

Keywords: dentin, tooth erosion, matrix metalloproteinases and chlorhexidine.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	11
2	PROPOSIÇÃO	16
3	CAPÍTULO	17
3.1.	Capítulo 1	18
4	CONCLUSÃO GERAL	40
	REFERÊNCIAS	41
	APÊNDICE.....	47
	ANEXO.....	48

1. INTRODUÇÃO GERAL

A erosão é definida como a perda progressiva e irreversível dos tecidos dentários duros, resultante do contato frequente e prolongado de ácidos de origem não bacteriana com a superfície dentária. A desmineralização se inicia nas camadas superficiais do esmalte e pode evoluir para perdas mais profundas de estrutura dentária (LUSSI *et al.*, 2011). O diagnóstico precoce, as estratégias preventivas e o estudo dos fatores etiológicos desempenham um papel fundamental no controle do desgaste erosivo. Entretanto, o tratamento restaurador muitas vezes é necessário, sendo indicado quando: (1) a integridade estrutural do dente está ameaçada; (2) a dentina exposta causa hipersensibilidade; (3) o defeito erosivo é esteticamente inaceitável ou (4) há riscos de exposição pulpar (SANTIAGO *et al.*, 2008; WANG e LUSSI, 2010). Esse tratamento pode variar desde restaurações adesivas diretas a grandes reabilitações. A opção por restaurações adesivas diretas, que propiciem maior conservação dos tecidos dentários desgastados, tem sido a preferencial, em concordância com a odontologia atual baseada na intervenção minimamente invasiva (de-MELO *et al.*, 2011a; RESTON *et al.*, 2012; PASSOS *et al.*, 2013).

Além disso, a realização de restaurações adesivas diretas se justifica pela evolução significativa dos sistemas adesivos, no que se refere à durabilidade e versatilidade desses materiais. Atualmente, as restaurações com resinas compostas podem ser realizadas utilizando-se duas diferentes estratégias adesivas: 1) a de condicionamento total (ou convencional), que emprega o passo operatório do condicionamento ácido da superfície de esmalte e dentina separadamente e 2) a autocondicionante, que não necessita da aplicação de ácido em procedimento isolado. Essas duas estratégias podem ser ainda classificadas de acordo com o número de passos operatórios (de 1 a 3) necessários para realizar a adesão ao substrato dentário (VAN MEERBEEK *et al.*, 2003; PASHLEY *et al.*, 2011).

A estratégia de condicionamento total de 3 passos se inicia com a aplicação de um ácido inorgânico (geralmente o ácido fosfórico de 30% a 40%) durante alguns segundos em esmalte e dentina e sua lavagem em seguida. Esse passo é seguido pela aplicação de um *primer* contendo monômeros resinosos anfifílicos [por exemplo, Metacrilato de 2-hidroxietil (HEMA)], que são aplicados nos substratos dentários para

torná-los propensos a receber uma mistura de monômeros de resina relativamente mais hidrofóbicos (adesivo), complementando, então, o processo de adesão. Por outro lado, os adesivos convencionais simplificados de 2 passos combinam o *primer* e o adesivo em um único frasco (VAN MEERBEEK *et al.*, 2003; PASHLEY *et al.*, 2011).

Por sua vez, a estratégia autocondicionante utiliza monômeros resinosos ácidos, que simultaneamente condicionam e preparam a dentina e o esmalte para receberem o adesivo. Dependendo se esse monômero ácido é separado ou combinado com o adesivo, a adesão desses sistemas pode ser conseguida através de dois passos, ou de um único passo operatório, respectivamente. Em relação à “agressividade” do ácido dos monômeros resinosos, os adesivos autocondicionantes podem ser classificados em “fortes” ($\text{pH} \leq 1,0$), “moderados” (pH próximo de 1,5) ou “suaves” (pH próximo de 2,0) (VAN MEERBEEK *et al.*, 2003; VAN MEERBEEK *et al.*, 2011).

Independentemente da estratégia a ser utilizada, o processo adesivo objetiva a retenção micromecânica da restauração com formação de uma interface adesiva através da impregnação do substrato e posterior polimerização por mistura de diversos monômeros resinosos, descrita como camada híbrida (NAKABAYASHI e PASHLEY, 2000) ou zona de interdifusão (VAN MEERBEEK *et al.*, 2003). Ao longo dos anos, a camada híbrida resultante da estratégia convencional de três passos apresentou-se como a mais estável confiável a longo prazo (CARVALHO *et al.*, 2004). No entanto, a abordagem autocondicionante parece apresentar melhores perspectivas em relação, entre outras, à praticidade de aplicação e à sensibilidade técnica (VAN MEERBEEK *et al.*, 2003; VAN MEERBEEK *et al.*, 2011). Além disso, nos materiais que se utilizam dessa estratégia, o condicionamento ácido simultâneo à infiltração dos monômeros resinosos tende a proteger a matriz de colágeno de uma futura degradação e, naqueles que são utilizados em 2 passos operatórios, a aplicação final do adesivo hidrofóbico torna a camada híbrida menos suscetível à absorção de água (PASHLEY *et al.*, 2011). Além disso, especialmente nos adesivos autocondicionantes “suaves” (com pH em torno de 2,0), a adesão por meio da interação mecânica é combinada com uma interação química conseguida através de monômeros funcionais específicos, tais como 10-MDP (metacriloxidecil fosfato), 4-MET (ácido trimetílico 4 metacriloxietil) e fenil-P (YOSHIDA, *et al.*, 2004; VAN MEERBEEK *et al.*, 2011).

Apesar da evolução dessas estratégias adesivas, a adesão em dentina ainda é um desafio na prática clínica. Características intrínsecas da dentina, como umidade e heterogeneidade química e morfológica, qualidade do substrato dentinário (tecido sadio ou afetado por cárie, dentina esclerótica, profunda, erodida, após preparos cavitários e/ou tratamentos químicos) estão associadas a essa dificuldade (CEBALLOS *et al.*, 2003; CARVALHO *et al.*, 2004; PERDIGÃO, 2010; VAN MEERBEEK *et al.*, 2010; NAKAJIMA *et al.*, 2011; VAN MEERBEEK *et al.*, 2011; CARVALHO *et al.*, 2012; REIS *et al.*, 2013).

No que diz respeito à longevidade da união adesiva, a interface dentina-resina degrada-se severamente com o passar do tempo (SANO *et al.*, 1999; BRESCHI *et al.*, 2008; HASHIMOTO *et al.*, 2010; PASHLEY *et al.*, 2011; LIU *et al.*, 2011; REIS *et al.*, 2013). A hidrólise dos componentes resinosos e da matriz orgânica presentes na camada híbrida é decorrente da suscetibilidade dos adesivos à sorção de água/fluidos orais, bem como da presença de fibras colágenas expostas pela discrepância entre a zona de dentina desmineralizada pelo ácido e a zona infiltrada pelo adesivo, que ocorre, em geral, com o uso de sistemas adesivos convencionais, mas também com os autocondicionantes (SANO *et al.*, 1995; WANG e SPENCER, 2003; TAY *et al.*, 2002; CARVALHO *et al.*, 2004; PASHLEY *et al.*, 2011).

Além desses fatores, a degradação intrínseca (proteólise) das fibras colágenas expostas na dentina descalcificada por enzimas hospedeiras da saliva humana, conhecidas como metaloproteinases da matriz (MMPs), está envolvida no comprometimento da interface de união e consequente perda de resistência de união adesiva a longo prazo (PASHLEY *et al.*, 2004; HEBLING *et al.*, 2005; NISHITANI *et al.*, 2006; TAY *et al.*, 2006; CHAUSSAIN-MILLE *et al.*, 2006; ZHANG *et al.*, 2009; OSORIO *et al.*, 2011).

As MMPs compreendem uma família de enzimas proteolíticas zinco e cálcio dependentes, que são responsáveis pelo remodelamento fisiológico e patológico de praticamente toda a matriz extracelular protéica, incluindo colágeno desnaturado (HANNAS *et al.*, 2007; CARRILHO *et al.*, 2007a; CARRILHO *et al.*, 2007b). De um total de vinte e quatro diferentes MMPs conhecidas, vinte e três são encontradas em seres humanos, sendo as MMP-2, MMP-8 e MMP-9 as de maior interesse para a odontologia. A MMP-2, também conhecida como Gelatinase A, degrada colágeno tipo I

(principal colágeno encontrado na dentina), e a MMP-9, ou Gelatinase B, degrada o colágeno tipo IV, que é o principal componente do colágeno desnaturado (CHAUSSAIN-MILLE *et al.*, 2006). Já a MMP-8, também denominada de Colagenase 2, foi identificada por SULKALA *et al.*, em 2007, como a principal enzima colagenolítica da dentina humana.

Além da influência na interface de união adesiva, existem evidências indicando que essas enzimas também podem estar envolvidas na etiologia da fluorose e da amelogenese imperfeita (HANNAS *et al.*, 2007). As MMPs têm sido identificadas ainda na inflamação pulpar e periapical e estão fortemente correlacionadas com doenças periodontais, participando da degradação do colágeno durante a destruição do tecido periodontal (TJADERHANE *et al.*, 1998; HANNAS *et al.*, 2007). Essas enzimas também parecem desempenhar um papel importante na progressão da cárie dentinária, uma vez que estão envolvidas na degradação do colágeno da dentina em lesões de cárie (TJADERHANE *et al.*, 1998; CHAUSSAIN-MILLER *et al.*, 2006; HANNAS *et al.*, 2007), assim como na progressão da erosão dentária, degradando a camada orgânica desmineralizada resultante da erosão em dentina. Essa camada orgânica desmineralizada dificulta a difusão de novos ácidos na dentina, sendo a ação das MMPs um fator que contribui para a progressão da erosão, expondo a estrutura dentária hígida subjacente a novos desafios erosivos (GANSS *et al.*, 2004; HARA *et al.*, 2005).

O uso de inibidores de MMPs, portanto, tem sido aceito como estratégia eficaz para melhorar a longevidade das restaurações adesivas (CARRILHO *et al.*, 2007a; CARRILHO *et al.*, 2007b; LOGUÉRCIO *et al.*, 2009; STANISLAWCZUC *et al.*, 2009; KOMORI *et al.*, 2009; BRESCHI *et al.*, 2010; OSORIO *et al.*, 2011; YIU *et al.*, 2012; SANTIAGO *et al.*, 2013) e como possível mecanismo que conduz a uma redução de perda de dentina durante desafios erosivos (MAGALHÃES *et al.*, 2009; KATO *et al.*, 2009; KATO *et al.*, 2010a; KATO *et al.*, 2010b; BUZALAF *et al.*, 2012).

A clorexidina, potencial inibidora de MMPs, incluindo MMP-2 e MMP-9 (GENDRON *et al.*, 1999; SABATINI, 2013) utilizada de diversas formas (como pré-tratamento da dentina, incorporada ao ácido fosfórico ou ao adesivo), age como inibidor dessas enzimas, desacelerando assim o processo de degradação da interface de união adesiva (HEBLING *et al.*, 2005; CARRILHO *et al.*, 2007a e 2007b; LOGUÉRCIO *et al.*, 2009; STANISLAWCZUC *et al.*, 2009; KOMORI *et al.*, 2009; BRESCHI *et al.*,

2010; RICCI *et al.*, 2010; OSORIO *et al.*, 2011; YIU *et al.*, 2012). Outros inibidores, como os polifenóis do chá verde, em especial a epigallocatequina-3-galato (EGCG), com comprovada capacidade de inibir a expressão e a ação das MMP-2 e MMP-9 (DEMEULE *et al.*, 2000) também têm sido estudados. A avaliação do efeito do pré-tratamento dentinário com solução de EGCG na preservação da interface adesiva e a análise das propriedades físico-químicas de adesivos odontológicos com EGCG incorporada em diferentes concentrações mostraram que o uso da EGCG foi eficaz na preservação da resistência de união da interface adesiva por períodos superiores a seis meses (DU *et al.*, 2012; SANTIAGO *et al.*, 2013).

Nesse contexto, do ponto de vista restaurador, as lesões erosivas podem representar um desafio clínico pela dificuldade de obtenção de uma eficaz união dos sistemas adesivos ao substrato dentinário pela própria especificidade da técnica adesiva em dentina e por apresentarem-se ainda como um substrato modificado para a adesão (SANTIAGO *et al.*, 2003; SANTIAGO *et al.*, 2008; PERDIGÃO, 2010; ZIMMERLI *et al.*, 2012; FLURY *et al.*, 2013; RAMOS *et al.*, 2013).

Poucos estudos, porém, abordam o tema da adesão em dentina erosivamente desmineralizada, e poucas estratégias são propostas para melhorar a adesão a esse substrato, como por exemplo, o preparo prévio da superfície com pontas diamantadas (ZIMMERLI *et al.*, 2012); a utilização do laser Er, Cr: YSGG, associado a um sistema adesivo autocondicionante (RAMOS *et al.*, 2013) ou o tratamento da dentina desmineralizada pela erosão com soluções a base de fluoreto de sódio (NaF) ou fluoreto estânico (Sn/F) (FLURY *et al.*, 2013). O possível efeito do uso dos inibidores de MMPs como estratégia de melhora na adesão à dentina erosivamente desmineralizada não está documentado na literatura.

Diante do exposto, este estudo avaliou a influência do uso de inibidores de metaloproteinases da matriz (epigallocatequina-3-galato e digluconato de clorexidina) utilizados como pré-tratamento dentinário sobre a resistência de união de um sistema adesivo autocondicionante em dentina hígida e erosivamente desmineralizada.

2. PROPOSIÇÃO

Analisar a influência do uso de inibidores de metaloproteinases da matriz [epigallocatequina-3-galato (EGCG) e digluconato de clorexidina (CHX)] utilizados como pré-tratamento dentinário sobre a resistência de união de um sistema adesivo autocondicionante em dentina hígida e erosivamente desmineralizada.

3. CAPÍTULO

Esta dissertação está baseada no Artigo 46 do Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará que regulamenta o formato alternativo para dissertações de Mestrado e teses de Doutorado e permite a inserção de artigos científicos de autoria ou coautoria do candidato. Por se tratar de um estudo envolvendo dentes humanos, o projeto de pesquisa deste trabalho foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Federal do Ceará, tendo sido aprovado, conforme o parecer consubstanciado nº 369.345 de 22 de agosto de 2013 (ANEXO).

Assim sendo, esta dissertação é composta de um capítulo contendo um artigo científico que será submetido à Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde, conforme descrito na sequência:

Influência de inibidores de metaloproteinases da matriz (MMPs) na resistência de união de um sistema adesivo autocondicionante em dentina hígida e erosivamente desmineralizada

Costa CAGA, Passos VF, Neri JR, Mendonça JS, Santiago SL.

CAPÍTULO 1

Influência de inibidores de metaloproteinases da matriz (MMPs) na resistência de união de um sistema adesivo autocondicionante em dentina hígida e erosivamente desmineralizada.

Influence of matrix metalloproteinases (MMPs) inhibitors on bond strength of a self-etching adhesive system on sound and erosively demineralized dentin.

Cecília Atem Gonçalves de Araújo Costa^a

Vanara Florêncio Passos^b

Jiovanne Rabelo Neri^{a,b}

Juliano Sartori Mendonça^a

Sérgio Lima Santiago^a

^a Universidade Federal do Ceará - Fortaleza, Ceará, Brasil

^b Universidade de Fortaleza- Fortaleza, Ceará, Brasil

Correspondente:

Dr. Sérgio Lima Santiago

Rua Monsenhor Furtado s/ n^o

CEP: 60430-350

Fortaleza, CE- Brasil

e-mail: sergiosantiago@yahoo.com

RESUMO

Objetivo: analisar a influência do pré-tratamento com epigalocatequina-3-galato (EGCG a 0,1%), digluconato de clorexidina (CHX a 2%) e o controle água destilada (AD) sobre a resistência de união de um sistema adesivo autocondicionante em dentina hígida (H) e erosivamente desmineralizada (ED).

Materiais e Métodos: trinta e seis terceiros molares hígidos tiveram o esmalte oclusal removido e foram aleatoriamente distribuídos em 6 grupos (n=6): HAD, HCHX, HEGCG, EDAD, EDCHX e EDEGCG, que foram inicialmente submetidos à formação diária de uma película adquirida. Em seguida, os grupos EDAD, EDCHX e EDEGCG foram submetidos a um ciclo erosivo (ácido cítrico 1%, pH 3,75; 3x dia / 5 dias), enquanto os grupos HAD, HCHX, HEGCG realizaram o ciclo em AD. Após os ciclos, o pré-tratamento foi realizado (15 µL durante 60s), o adesivo Clearfil SE Bond[®] (CSEB) foi aplicado e um platô de resina foi construído. Após estocagem em água destilada (37 °C / 24 h), os espécimes foram seccionados em forma de palitos e submetidos à microtração.

Resultados: os valores de resistência de união (MPa) foram estatisticamente avaliados por ANOVA e teste de Bonferroni, com nível de significância de 5%.

Os grupos pré-tratados com CHX demonstraram valores de resistência de união estatisticamente inferiores ($p < 0,05$). Os grupos pré-tratados com AD e EGCG não apresentaram diferenças significantes entre si ($p > 0,05$). **Conclusão:** CHX influenciou negativamente, enquanto EGCG não influenciou a resistência de união do CSEB à dentina hígida e erosivamente desmineralizada.

Palavras-chave: dentina, erosão, metaloproteinases da matriz e clorexidina.

ABSTRACT

Objective: to analyze the influence of pretreatment with epigallocatechin - 3 - gallate (EGCG) and chlorhexidine digluconate (CHX) and distilled water (AD), as control group, on bond strength of a self-etch adhesive system on sound (H) and erosively demineralized dentin (ED). Materials and Methods: thirty-six intact third molars had occlusal enamel removed and were divided into 6 groups (n=6): HAD, HCHX, HEGCG, EDAD, EDCHX, EDEGCG that were daily subjected to an acquired pellicle formation. Then, the groups EDAD, EDCHX, EDEGCG were subjected to an erosion cycle (1% citric acid, pH 3.75, 3 times daily/ 5 days), whereas in the groups HAD, HCHX, HEGCG the acid solution was replaced by AD. After the cycles, dentin surfaces were pretreated (with 15µL for 60s), Clearfil SE Bond[®] (CSEB) was applied and a resin build up was built. After storage in distilled water at 37°C for 24h, specimens were cut in sticks and subjected to a microtensile test. Results: bond strength values (MPa) were statistically evaluated by two-way ANOVA and Bonferroni test, with a significance level of 5%. The groups treated with CHX showed bond strength values statistically lower ($p < 0.05$). Groups with pretreatment with distilled water and EGCG showed no significant differences between them ($p > 0.05$). Conclusion: CHX influenced negatively, while the use of EGCG did not affect the bond strength of CSEB to sound and erosively demineralized dentin. Keywords: dentin, tooth erosion, matrix metalloproteinases and chlorhexidine.

INTRODUÇÃO

A erosão é definida como a perda progressiva e irreversível dos tecidos dentários duros, resultante do contato frequente e prolongado de ácidos de origem não bacteriana com a superfície dentária. A desmineralização se inicia nas camadas superficiais do esmalte e pode evoluir para perdas mais profundas em dentina ¹, sendo o tratamento restaurador indicado quando: (1) a integridade estrutural do dente está ameaçada; (2) a dentina exposta causa hipersensibilidade; (3) o defeito erosivo é esteticamente inaceitável ou (4) há riscos de exposição pulpar ².

A principal alternativa de tratamento para lesões erosivas recai sobre as restaurações adesivas diretas, as quais propiciam maior conservação dos tecidos dentários desgastados, em concordância com a Odontologia atual baseada na intervenção minimamente invasiva ³. Atualmente, as restaurações diretas em resinas compostas podem ser realizadas utilizando-se duas diferentes estratégias adesivas: 1) a de condicionamento total (ou convencional), que emprega o passo operatório do condicionamento ácido da superfície de esmalte e dentina separadamente e 2) a autocondicionante, que não necessita da aplicação de ácido em procedimento isolado ⁴.

Independentemente da estratégia utilizada, o principal objetivo é a retenção micromecânica da restauração com formação de uma interface adesiva através da impregnação do substrato e posterior polimerização por misturas de monômeros resinosos, descrita como camada híbrida ou zona de interdifusão ⁴.

Apesar da evolução dessas estratégias adesivas, a efetividade da adesão em dentina, a longo prazo, ainda é um desafio devido a características como umidade e heterogeneidade química e morfológica inerentes a esse tecido dentário ⁵. Um dos principais fatores envolvidos na falta de longevidade da união adesiva é a degradação severa da interface dentina-resina com o passar do tempo ⁶. A hidrólise dos componentes resinosos e da matriz orgânica presente da camada híbrida é decorrente da suscetibilidade dos adesivos à sorção de água/fluidos orais e da presença de fibras colágenas expostas não recobertas por material resinoso ⁷.

Além desses fatores, a degradação intrínseca (proteólise) das fibras colágenas expostas na dentina descalcificada por enzimas hospedeiras da saliva humana, conhecidas como metaloproteinases da matriz (MMPs), sobretudo a MMP-2, a MMP-8 e a MMP-9, estão envolvidas na perda de resistência de união adesiva em longo prazo ⁸. Essas enzimas também parecem desempenhar um papel importante na progressão da erosão dentária⁹, degradando a camada orgânica desmineralizada resultante da erosão em dentina. Essa camada orgânica desmineralizada dificulta a difusão de novos ácidos na dentina, sendo a ação das MMPs um fator que contribui para a progressão da erosão, expondo a estrutura dentária hígida subjacente a novos desafios erosivos ¹⁰.

O uso de inibidores de MMPs, como a clorexidina e a epigallocatequina-3-galato (EGCG), tem sido aceito como estratégia eficaz para melhorar a longevidade das restaurações adesivas ^{11,12} e como possível

mecanismo de redução de perda minerais da dentina durante desafios erosivos

13.

Poucos estudos abordam o tema da adesão em dentina erosivamente desmineralizada¹⁴⁻¹⁶ e poucas estratégias são propostas para melhorar a adesão a esse substrato. O possível efeito do uso dos inibidores de MMPs como estratégia de melhora na adesão à dentina erosivamente desmineralizada não está documentado na literatura.

Este estudo avaliou a influência do uso de inibidores de metaloproteinases da matriz (epigallocatequina-3-galato) e digluconato de clorexidina) utilizados como pré-tratamento dentinário sobre a resistência de união de um sistema adesivo autocondicionante em dentina hígida e erosivamente desmineralizada.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta e preparo dos dentes

Oitenta e seis (86) terceiros molares humanos hígidos (sem trincas, desgastes ou lesões cariosas), extraídos por razões que não envolvem esta pesquisa, foram coletados após assinatura de um termo de doação de dentes (Apêndice), sob a regulamentação do protocolo de pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará (Anexo). Após a limpeza, os dentes foram armazenados em solução de timol a 0,01% por um período máximo de 30 (trinta) dias. Para o experimento, os dentes foram

lavados em água corrente e limpos com pedra pomes e escova de Robson em baixa rotação (contra-ângulo/micromotor Dabi-atlante[®] - N 270).

Em seguida, através do emprego de disco diamantado (EXTEC[®] - XL- 12205 - USA), sob irrigação com água destilada e a uma velocidade de 300rpm, o terço oclusal (aproximadamente 2,5mm a partir da ponta de cúspide mais baixa) foi removido com um corte perpendicular ao longo eixo dos dentes para a exposição da dentina coronária subjacente ao esmalte (cortadeira metalográfica Isomet[®], Buehler Ltd., Lake Bluff, IL).

Seleção da amostra

Com o objetivo de padronização da amostra, do total de 86 dentes, 36 foram selecionados pela média de dureza de superfície (Knoop) da dentina.¹⁷ Para isso, um segundo corte, desta vez paralelo ao longo eixo do dente, foi realizado para a obtenção de um fragmento de dentina coronária (1/3) de cada dente, que foi embutido (Embutidora Pre 30 MI – Arotec, Brasil), planificado e polido (Ecomet / AUTOMET-250 Grinder Polisher, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA). A sequência das lixas das empregadas e o tempo utilizado foram: granulação 280 / 20s; 800/ 2 minutos; 1200/ 1 minuto; 2500/ 2 minutos, seguidas de polimento com disco de feltro e suspensão de diamante à base de água 1 µM (EXTEC - USA) por 2 minutos. Entre cada polimento, os blocos acrílicos foram submetidos a uma limpeza em cuba ultrassônica (Unique – Ultracleaner 1400 – São Paulo, Brasil) com água destilada durante 2 minutos.

Em seguida, foi realizada a análise da microdureza de superfície dos fragmentos com penetrador tipo Knoop, com carga de 10 gF e tempo de 5 s

(Microdurômetro Futuro-Tech – Corp- FM-ARS 9000 e FM-100, Tóquio, Japão). Foram realizadas 5 edentações na superfície, separadas entre si por uma distância de 100 μm para a obtenção da média de microdureza dos fragmentos e posterior seleção dos espécimes (2/3 correspondentes). A média de dureza encontrada foi de 61,47 kg/mm^2 , sendo utilizados os espécimes com dureza de superfície entre 55,33 e 67,62 kg/mm^2 .

Os espécimes selecionados foram expostos à ação de uma Lixa de carbetto de silício por 1 minuto, em baixa rotação e sob constante irrigação com água para gerar um padrão uniforme de *smear layer* em todos os espécimes (Lixa BUEHLER - CarbiMet® – GRIT 600 em Politriz elétrica giratória Aropol 2V – Arotec, Brasil).

Distribuição da amostra nos Grupos experimentais

Os 36 espécimes foram aleatoriamente divididos em 6 (seis) grupos ($n=6$) de acordo com o tipo de dentina e de pré-tratamento a ser empregado antes dos procedimentos adesivos: HAD (hígida + água destilada); HCHX (hígida + CHX a 2%); HEGCG (hígida + EGCG a 0,1%); EDAD (erosivamente desmineralizada + água destilada); EDCHX (erosivamente desmineralizada + CHX a 2%); EDEGCG (erosivamente desmineralizada + EGCG a 0,1%).

Formação da película adquirida

Em cada dia do experimento, os espécimes foram submetidos à formação da película adquirida¹⁷. Amostras de saliva foram coletadas de um grupo de voluntários. A saliva foi coletada, pelo menos 1 hora após a última

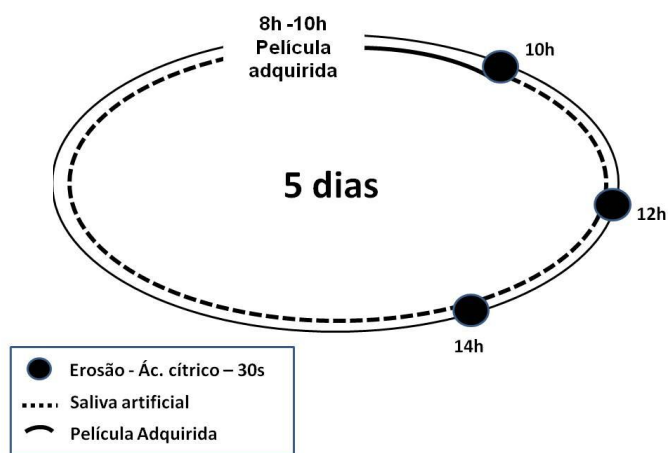
refeição, através da mastigação de um pedaço de um filme plástico (Parafilm M, Laboratory Film, Pechiney plastic-packaging, Chicago), sendo a saliva recolhida no primeiro minuto foi descartada e o restante (250 ml por dia) foi centrifugado durante 10 minutos, a 2000 rpm, numa centrífuga pré-arrefecida (4°C) (HERMLE, Modelo Z 36 HK, Alemanha). O líquido sobrenadante acima dos sedimentos foi reunido e utilizado para a formação da película. Todos os espécimes foram imersos nessa saliva clarificada e mantidos por 2 horas, sob agitação (Mesa Oscilante, Tecnal- TE-143, Brasil), a 37 °C (Estufa Olidef CZ, Brasil), simulando a temperatura da cavidade bucal.

Ciclos experimentais

Posteriormente à formação da película adquirida, os espécimes foram submetidos aos ciclos experimentais. No ciclo erosivo, os espécimes foram imersos em uma solução de ácido cítrico (ácido cítrico 47,58 mM, pH 3,75) durante 30 segundos, lavados com água destilada e, em seguida, mergulhados em saliva artificial (1,5 mM Ca, 0,9 mM MPO_4 , 150 mM KCl, 0,1 M Tampão Tris, pH 7), permanecendo por 2 horas. Este procedimento foi repetido três vezes a cada dia, durante cinco dias consecutivos. Todos esses procedimentos foram realizados a 37 °C e sob agitação (Mesa Oscilante, Tecnal-TE-143, Brasil, velocidade 01, em Estufa Olidef CZ, Brasil). Ao final de cada dia, os espécimes foram mantidos nestas condições (temperatura e agitação), armazenados em saliva artificial até o dia seguinte. Para fins de padronização, os procedimentos para os grupos de dentina hígida foram realizados na mesma

forma descrita acima, porém com a substituição da solução de ácido cítrico por água destilada (Figura 1).

Figura 1 – Diagrama ilustrando o ciclo erosivo utilizado



Pré-tratamento dentinário e procedimentos adesivo-restauradores

As soluções de digluconato de clorexidina a 2% e solução aquosa de epigallocatequina-3-galato a 0,1% foram empregadas nas superfícies dentinárias (húmidas e erosivamente desmineralizadas) nos respectivos grupos, tendo a água destilada como controle. Foram utilizados 15 μ L de cada solução, aplicados de forma ativa por um período de 60 segundos, sendo o excesso removido com papéis absorventes (Melitta[®], Brasil).

Em seguida, foi aplicado o sistema adesivo autocondicionante de 2 passos - Clearfil SE Bond[®], de acordo com as especificações do fabricante. Um platô foi construído com 4 incrementos (1 mm de espessura cada) de resina composta Filtek[™] Z250[®], aplicados e fotoativados individualmente por 20 segundos, com densidade de potência de até 1100 mW/ cm² (Poly Wireless,

Kavo, Brasil). Os espécimes foram armazenados em água destilada a 37°C por 24h (Estufa, Olidef CZ, Brasil). Os materiais utilizados estão especificados na Tabela 1.

Tabela 1- Lista dos materiais utilizados

Material	Fabricante	Composição
Digluconato de clorexidina	Dentscare Ltda-FGM, Brasil	Digluconato de clorexidina a 2%, água deionizada e surfactante volátil
Epigalocatequina-3-galato	EGCG (Sigma-Aldrich – St Louis USA)	Solução aquosa a 0,1%
Clearfil SE Bond®	Kuraray® Noritake, Dental Inc, Japão – lote 062154	<u>Primer:</u> - 10-(MDP) - 2-(HEMA) - dl- Carforoquinona - N, N- dietanol-p-toluidina - Dimetacrilato hidrofóbico - Água <u>Adesivo:</u> - 10-(MDP) - BIS-GMA - 2-(HEMA) - dl- Carforoquinona - N, N- dietanol-p-toluidina - Dimetacrilato hidrofóbico - Sílica coloidal
Resina composta Filtek™ Z250®	3M/ESPE, St Paul, MN, EUA – lote 1117600319	-Bis-GMA -TEGDMA - UDMA - bis-EMA(6) - Sílica

Obtenção dos palitos e teste de microtração

Após as 24 h, os espécimes foram seccionados em forma de palitos (em média 16 palitos por dente, com área de secção transversal de aproximadamente 1 mm²), por meio de cortes seriados e perpendiculares entre si (disco diamantado XL- 12205- EXTEC® em cortadeira metalográfica

Isomet®, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA, sob irrigação abundante) para o teste de microtração⁵³⁻⁵⁵. Foram testados em média 8 (oito) palitos de cada dente, sendo cada palito individualmente fixado ao dispositivo com uma cola à base de cianoacrilato (Superglue Gel®, Permatex, px#45440, Canadá) e acelerador de presa (Zip Kicker; Pacer Technology, Rancho Cucamonga, CA, EUA) e submetido a um ensaio mecânico de microtração (EMIC, DL 2000, N 11170, célula de carga de 50 kgf) à velocidade de 0,5 mm/ minuto até que ocorresse a fratura.

Avaliação dos modos de fratura

As superfícies de fratura foram examinadas com o auxílio de uma lupa estereoscópica (Leica S8AP0-Modelo: MEB 115, Cingapura) com aumento de 80X e tiveram seus modos de fratura classificados em 4 classes: 1) Falha coesiva em resina composta (FCR), se a falha ocorreu exclusivamente com a resina composta; 2) Falha coesiva em dentina (FCD), se a falha ocorreu exclusivamente em dentina; 3) Falha adesiva (FAD), se esta ocorreu inteiramente entre o adesivo e a dentina e 4) Falha mista (FM), se a falha começou entre o adesivo e a dentina e prosseguiu através da resina ou da dentina.

Análise estatística

Os resultados foram expressos como média dos valores de resistência de união (em MPa) e desvio padrão. Após o teste de normalidade (SHAPIRO-WILK), foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA) a dois critérios

(tipo de substrato e pré-tratamento) e teste de BONFERRONI (entre grupos), com nível de significância de 5%.

RESULTADOS

A média e o desvio padrão dos valores de resistência de união estão representados na Tabela 2. A análise de variância a dois critérios (fatorial AxB) mostrou diferença estatisticamente significativa entre as soluções de pré-tratamento ($p=0,0009$), bem como para a condição da dentina ($p=0,0049$); não se verificando a interação entre os fatores ($p=0,9732$). As comparações múltiplas entre os grupos experimentais foram realizadas pelo teste BONFERRONI, demonstrando diferença significativa entre a condição da dentina para todos os tratamentos ($p<0,05$). Em relação ao pré-tratamento empregado, a CHX apresentou valores de resistência de união estatisticamente inferiores ($p<0,05$) em relação à água destilada e à EGCG, independente da condição de dentina. Os grupos com pré-tratamento de água destilada e EGCG não apresentaram diferenças significantes entre si ($p>0,05$).

Tabela 2- Valores de resistência de união à microtração (MPa) e desvio padrão (n=6).

Dentina	Tratamentos		
	H2O	CHX	EGCG
Hígida	52.44± 8.47 ^{A,a}	40.87 ± 10.23 ^{A,b}	53.67 ± 6.10 ^{A,a}
Erosivamente desmineralizada	59.25 ± 5.91 ^{B,a}	49.30 ± 9.42 ^{B,b}	61.61 ± 3.17 ^{B,a}

Letras maiúsculas diferentes entre si em uma mesma coluna representam diferenças estatisticamente significantes ($p<0,05$). Letras minúsculas diferentes entre si em uma mesma linha representam diferenças estatisticamente significantes ($p<0,05$).

A Tabela 3 apresenta a distribuição percentual dos modos de fratura. A falha mista foi a mais prevalente em todos os grupos, seguida da falha coesiva em dentina e resina.

Tabela 3 – Valores percentuais (%) de quantidade espécimes em cada condição experimental, de acordo com o padrão de fratura.

Grupos	FAD	FM	FCR	FCD
HAD	0	59,18	8,16	32,65
HCHX	15,38	63,46	15,38	5,77
HEGCG	2,70	64,86	13,51	18,92
EDAD	0	69,05	19,05	11,90
EDCHX	4,55	70,45	15,91	9,09
EDEGCG	0	54,35	15,22	30,43

FAD: Falha Adesiva; FM: Falha Mista; FCR: Falha Coesiva em Resina; FCD: Falha Coesiva em dentina.

DISCUSSÃO

O emprego de EGCG e CHX como pré-tratamento dentinário tem sido associado a procedimentos adesivos em dentina normal e afetada por cárie, resultando em efetiva redução na degradação da interface adesiva ao longo do tempo, sobretudo com o uso de sistemas adesivos de condicionamento total^{11,12,18,19}. Estudos constataram também o efeito protetor da EGCG e CHX contra a erosão da dentina, quando usadas como enxaguatórios bucais em ensaio *in situ*¹³. O uso da EGCG e CHX previamente à aplicação de sistemas adesivos autocondicionantes (AC), entretanto, ainda não havia sido testado com o objetivo de melhorar a adesão ao substrato dentinário erosivamente desmineralizado.

Os resultados do presente estudo demonstraram que o uso do pré-tratamento com EGCG a 0,1% não afetou a resistência de união adesiva com o adesivo Clearfil SE Bond[®]. Estudos avaliando o uso dessa catequina em

conjunto com adesivos AC não estão descritos na literatura. Em contra partida, resultados semelhantes foram encontrados utilizando-se um adesivo convencional (Single Bond- 3M®)¹⁹.

Em relação à CHX a 2%, o pré-tratamento dentinário influenciou negativamente a resistência de união do sistema adesivo CSEB nas duas condições de dentina: hígida (H) e erosivamente desmineralizada (ED). Entretanto, não há um consenso na literatura sobre a interação da CHX com adesivos AC. Diferentemente dos resultados encontrados, alguns autores não observaram diferenças significantes na resistência de união imediata de adesivos AC com o pré-tratamento de CHX²⁰⁻²². Por outro lado, outros estudos concluíram haver influência negativa com o uso de CHX incorporada aos adesivos AC²³ ou como pré-tratamento²⁴⁻²⁶ o que está em concordância com os resultados obtidos no presente estudo. Segundo relato dos autores²⁴ a interação entre CHX e adesivos AC possivelmente reduziu a molhabilidade e a profundidade de condicionamento da dentina, afetando a união.

O sistema adesivo CSEB utilizado neste estudo tem apresentado bons resultados em estudos *in vitro* com dentina erosivamente desmineralizada quando comparados à estratégia de condicionamento total¹⁴⁻¹⁶. O condicionamento ácido utilizado na estratégia convencional contribui para a exposição mais profunda das fibras colágenas, dificultando os procedimentos adesivos no que se refere à infiltração adequada dos monômeros resinosos¹⁵. O CSEB possui em sua composição um monômero bifuncional 10-MDP (metacriloxidecil fosfato) com potencial para união química entre os componentes adesivos e o cálcio da hidroxiapatita residual²⁷. Como o seu

iniciador é um ácido fraco (pH próximo de 2,0), alguns restos de cristais de hidroxiapatita que permanecem ligados ao colágeno interagem com o monômero que se infiltra na região desmineralizada. Além disso, a opção pelo uso da estratégia autocondicionante baseia-se na simplificação dos procedimentos operatórios, uma vez que, clinicamente, o tempo de aplicação e, provavelmente, mais importante ainda, a sensibilidade técnica com o uso desse material são substancialmente reduzidas ⁴.

Na avaliação da resistência de união adesiva à dentina erosivamente desmineralizada tratada com CHX e EGCG, este estudo mostrou valores significativamente maiores para os espécimes submetidos à ciclagem erosiva com ácido cítrico. Esses resultados divergem da literatura, uma vez que, em estudos anteriores, valores significativamente inferiores foram encontrados referentes à adesão imediata à dentina erosivamente desmineralizada *in vitro* quando comparados à dentina normal ¹⁴⁻¹⁶. Essa divergência pode estar relacionada ao protocolo de ciclagem erosiva utilizado. Apesar de não haver um consenso na literatura sobre o melhor protocolo a ser seguido, o modelo cíclico parece reproduzir melhor os ataques ácidos na cavidade bucal com a presença importante da remineralização da saliva durante todo o processo ²⁸. Para simular as condições clínicas, o presente estudo realizou o desafio erosivo baseado na ciclagem de pH, com formação de uma película adquirida com saliva humana antes dos ciclos e manutenção dos espécimes em saliva artificial nos intervalos dos mesmos. Considerando-se que *in vivo*, a exposição dos dentes a ácidos de origem extrínseca ou mesmo intrínseca é, de maneira geral, recorrente, mas com duração não superior a

alguns minutos ²⁸ nosso estudo utilizou exposição à solução ácida por um tempo de 30 segundos, 3 vezes ao dia, por 5 dias. Estudos que demonstraram resistência de união inferior utilizaram protocolos com maior número de ciclos (6xdia), maior tempo (5 a 10 minutos) e com maior duração (5 a 10 dias)¹⁴⁻¹⁶. Segundo os relatos dos autores, esses protocolos erosivos com duração mais prolongada resultaram em uma espessa zona de matriz orgânica desmineralizada, observada através de microscopia eletrônica e em uma superfície dentinária úmida e amolecida, um padrão não observado *in vivo*¹. Segundo os autores, a maior profundidade da camada de dentina desmineralizada provavelmente dificultou a infiltração e adequada polimerização do sistema adesivo, prejudicando a adesão¹⁴⁻¹⁶.

Os maiores valores de resistência de união encontrados para os grupos erosivamente desmineralizados estão de acordo com os resultados encontrados por de-Melo *et al.*²¹. Os autores, avaliando *in vitro* o efeito do pré-tratamento com CHX em dentina desmineralizada, simulando dentina afetada por cárie, obtiveram valores significativamente maiores de resistência de união para os grupos submetidos aos ciclos de desmineralização, em concordância com o presente estudo. Segundo relato dos autores, uma desmineralização adicional na dentina aumentou a resistência de união possivelmente devido à pequena acidez do adesivo utilizado, pH em torno de 2,0 (similar ao do CSEB)²¹.

As concentrações das soluções de clorexidina e EGCG empregadas neste estudo são maiores que as concentrações inibitórias mínimas para MMP-2 e MMP-9. Concentrações a partir de 0,03% de clorexidina são capazes de

inibir completamente a atividade das MMP-2 e MMP-9²⁹, enquanto 0,8 µM e 6 µM de EGCG inibem MMP-2 e MMP-9, respectivamente³⁰. O digluconato de clorexidina a 2% é uma apresentação comercial já utilizada na prática clínica diária com relevantes resultados em estudos de longevidade de restaurações adesivas^{11,12}. A solução de EGCG a 0,1% mostrou resultados benéficos, como pré-tratamento dentinário, na preservação da interface adesiva com sistemas adesivos convencionais¹⁹. O estudo dessa catequina com adesivos autocondicionantes torna-se também promissor, principalmente pelo fato de ser um produto natural, sem efeitos colaterais²⁹.

O mecanismo de ação envolvido na inibição das MMPs não está totalmente esclarecido e não foi objetivo principal deste estudo. Possivelmente, a clorexidina, que se liga a várias proteínas por meio de um mecanismo quelante, mesmo em baixas concentrações, pode inibir a ação de MMP-2 e MMP-9 e interagir com os sítios ativos essenciais no caso da MMP-8²⁹. Diferentes mecanismos também são discutidos para a eficácia do EGCG na inibição da expressão e da atividade de MMPs. Ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas com a colagenase podem levar a mudanças conformacionais ou mascarar o sítio catalítico das enzimas¹³.

Estudos de longevidade avaliando CHX e EGCG serão de grande importância para avaliar a influência dessas soluções como pré-tratamento cavitário na preservação da interface adesiva em dentina erosivamente desmineralizada.

CONCLUSÃO

Dentro das limitações deste estudo, pode-se concluir que o emprego da CHX como pré-tratamento dentinário influenciou negativamente, enquanto o uso da solução de EGCG não influenciou a resistência de união imediata de um sistema adesivo autocondicionante de dois passos à dentina hígida e erosivamente desmineralizada.

REFERÊNCIAS

1. Lussi A, Shlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental Erosion- an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Research*. 2011; 45 (suppl 1):2-12.
2. Wang X, Lussi A. Assessment and management of dental erosion. *Dental Clinics of North America*. 2012;54:565–78.
3. Reston EG, Corba VD, Broliato G, Saldini BP, Busato ALS. Minimally invasive intervention in a case of a noncarious lesion and severe loss of tooth structure. *Operative Dentistry*. 2012;37(3):324-28.
4. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Operative Dentistry*. 2003;28:215-35.
5. Perdigão J. Dentin bonding-variables related to the clinical situation and the substrate treatment. *Dental Materials*. 2010;26(2):24-37.
6. Reis A, Carrilho M, Breschi L, Loguércio AD. Overview of clinical alternatives to minimize the degradation of the resin-dentin bonds. *Operative Dentistry*. 2013;38(4).
7. Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. *Operative Dentistry*. 1995;20(1):8-25.
8. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, Ito S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *Journal of Dental Research*. 2004;83(3):216-21.
9. Kato MT, Leite AL, Hannas AR, Buzalaf MAR. Gels containing MMP inhibitors prevent dental erosion in situ. *Journal of Dental Research*. 2010;89(5):468-72.
10. Hara AT, Ando M, Cury JA, Serra MC, Gonzalez-cabezas C, Zero DT. Influence of the organic matrix on root erosion by citric acid. *Caries Research*. 2005;39(2):134-138.
11. Carrilho MRO, Carvalho RM, De Goes MF, Di Hipólito V, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH, Tjäderhane L. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *Journal of Dental Research*. 2007a;86(1):90-4.

12. Carrilho MRO, Geraldeli S, Tay F; De Goes MF, Carvalho RM, Tjäderhane L, Reis AF, Hebling J, Mazzoni A, Breschi L, Pashley D. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *Journal of Dental Research*. 2007b; 86(6):529-33.
13. Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Hannas A, Attin T, Buzalaf MAR. Chlorhexidine and green tea extract reduce dentin erosion and abrasion in situ. *Journal of Dentistry*. 2009;37:994-98.
14. Zimmerli B, De Munck J, Lussi A, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Long-term bonding to eroded dentin requires superficial bur preparation. *Clinical Oral Investigation*. 2012;16:1451–61.
15. Ramos TM, Ramos-Oliveira TM, De Freitas PM, Azambuja Jr N, Esteves-Oliveira M, Gutknecht N, De Paula EC. Effects of Er:YAG and Er,Cr:YSGG laser irradiation on the adhesion to eroded dentin. *Lasers in Medical Science*. 2013. DOI10.1007/s10103-013-1321-6.
16. Flury S, Koch T, Peutzfeldt A, Lussi A, Ganss C. The effect of a tin-containing fluoride mouth rinse on the bond between resin composite and erosively demineralised dentin. *Clinical Oral Investigation*. 2013;17: 217–25.
17. de-Melo MAS, Passos VF, Silva JJA, Barros EB, Santiago SL, Rodrigues, LKA. The effect of diode laser irradiation on dentin as a preventive measure against dental erosion: an in vitro study. *Lasers in Medical Science*. 2011;26:615-21.
18. Loguércio AD, Stanislawczuk R, Polli LG, Costa JA, Michel MD, Reis A. Influence of chlorhexidine digluconate concentration and application time on resin-dentin bond strength durability. *European Journal of Oral Sciences*. 2009; 117(5):587-96.
19. Santiago SL, Osorio R, Neri JR, Carvalho RM, Toledano M. Effect of the flavonoid epigallocatechin-3-gallate on resin-dentin bond strength. *The Journal of Adhesive Dentistry*. 2013;15.
20. Dalkilic EE, Arisu DH, Kivane BH, Uctasli MB, Omurlu H. Effect of different disinfectant methods on the initial microtensile bond strength of a self-etch adhesive to dentin. *Lasers in Medical Science*. 2012;27:819-25.
21. de-Melo MAS, Goes DC, Moraes MD, Santiago SL, Rodrigues LKA. Effect of chlorhexidine on the bond strength of a self-etch adhesive system to sound and demineralized dentin. *Brazilian Oral Research*. 2013; 27:218-24.

22. Mobarak EH. Effect of chlorhexidine pretreatment on bond strength durability of caries-affected dentin over 2-year aging in artificial saliva and under simulated intrapulpal pressure. *Operative Dentistry*. 2011;36(6): 649-60.
23. Nishitani Y, Hosaka K, Hoshika T, Yoshiyama M, Pashley DH. Effects of chlorhexidine in self-etching adhesive: 24 hours results. *Dental Materials Journal*. 2013;32(3):420-24.
24. Campos EA, Correr GM, Leonardi DP, Pizzatto E, Morais EC. Influence of chlorhexidine concentration on microtensile bond strength of contemporary adhesive systems. *Brazilian Oral Research*. 2009; 23(3):340-45.
25. Celik C, Ozel Y, Bagis B, Erkut S. Effect of laser irradiation and cavity disinfectant application on the microtensile bond strength of different adhesive systems. *Photomed Laser Surgery*. 2012; 28(2):267-72.
26. Wang L, Pinto TA, Silva LM, Araújo DFG, Martins LM, Hannas AR, Pedreira APRV, Francisconi PAS, Honório HM. Effect of 2% chlorhexidine digluconate on bond strength of a glass-fiber post to root dentine. *International Endodontic Journal*. 2013;46:847-54.
27. Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H, Inoue S, Tagawa Y, Suzuki K, De Munck J, Van Meerbeek B. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *Journal of Dental Research*. 2004;83(6):454-58.
28. Shellis RP, Ganss C, Ren Y, Zero DT, Lussi A. Methodology and models in erosion research: Discussion and conclusions. *Caries Research*. 2001;45 (suppl 1):69-77.
29. Gendron R; Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 1999;6(3):437-39.
30. Demeule M, Brossard M, Page M, Gingras D, Beliveau R. Matrix metalloproteinase inhibition by green tea catechins. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2000;1478(1):51-60.

4. CONCLUSÃO GERAL

Dentro das limitações deste estudo, pode-se concluir que o emprego da CHX como pré-tratamento dentinário influenciou negativamente, enquanto o uso da solução de EGCG não influenciou a resistência de união imediata de um sistema adesivo autocondicionante de dois passos à dentina hígida e erosivamente desmineralizada.

REFERÊNCIAS

- BRESCHI, L.; MAZZONI, A.; RUGGER, A.; CADENARO, M.; DI LENARDA, R.; DE STEFANO DORIGO, E. Dental adhesion review: Aging and stability of bonded interface. **Dental Materials**, v. 24, n.1, p. 90-101, 2008.
- BRESCHI, L.; MAZZONI, A.; NATO, F.; CARRILHO, M.; VISINTINI, E.; TJÄDERHANE, L.; RUGGERI JR, A.; TAY, F.R.; DE STEFANO DORIGO, E.; PASHLEY, D.H. Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: A 2-year in vitro study. **Dental Materials**, v.26, p. 320–325, 2010.
- BUZALAF, M.A.R.; KATO, M.T.; HANNAS, A.R. The Role of Matrix Metalloproteinases in dental erosion. **Advances in Dental Research**, v.24, n. 2, p: 72-76, 2012.
- CARRILHO, M.R.O.; CARVALHO, R.M.; DE GOES, M.F.; DI HIPÓLITO, V.; GERALDELI, S.; TAY, F.R.; PASHLEY, D.H.; TJÄDERHANE, L. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. **Journal of Dental Research**: v.86, n. 1, p.90-94, 2007a.
- CARRILHO, M.R.O.; GERALDELI, S.; TAY, F.; DE GOES, M.F.; CARVALHO, R.M.; TJÄDERHANE, L.; REIS, A.F.; HEBLING, J.; MAZZONI, A.; BRESCHI, L.; PASHLEY, D. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. **Journal of Dental Research**, v.86, n.6, p.529-533, 2007b.
- CARVALHO, R.M.; CARRILHO, M.R.O.; PEREIRA, L.C.G.; MARQUEZINI, L. JR.; SILVA, S.M.A.; KUSSMAUL, A.P.M. Sistemas adesivos: fundamentos para aplicação clínica. **Revista Biodonto**, v. 2, n.1, p. 6-86, 2004.
- CARVALHO, R.M.; MANSO, A.P.; GERALDELI, S.; TAY, F.R.; PASHLEY, D.H. Durability of bonds and clinical success of adhesive restorations. Review. **Dental Materials**, v.28, p. 72–86, 2012.
- CEBALLOS, L.; CAMEJO, D.G; FUENTES, M.V.; OSORIO, R.; TOLEDANO, M.; CARVALHO, R.M.; PASHLEY, D.H. Microtensile bond strength of total-etch and self-etching adhesives to caries-affected dentine. **Journal of Dentistry**, v.31, p.469-477, 2003.
- CHAUSSAIN-MILLER C.; FIORETTI F.; GOLDBERG M.; MENASHI S. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. **Journal of Dental Research**, v. 85, p:22-32, 2006.
- de-MELO, M. A. S.; PASSOS, V. F. ; Silva, J. J. A.; BARROS, E. B.; SANTIAGO, S. L.; RODRIGUES, L. K. A. The effect of diode laser irradiation on dentin as a

preventive measure against dental erosion: an in vitro study. **Lasers in Medical Science**, v. 26, p. 615-621, 2011.

DEMEULE, M.; BROSSARD, M.; PAGE, M.; GINGRAS, D.; BELIVEAU, R. Matrix metalloproteinase inhibition by green tea catechins. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1478, n.1, p. 51-60, 2000.

DU, X.; HUANG, X; HUANG, C.; WANG, Y.; ZHANG, Y. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) enhances the therapeutic activity of a dental adhesive. **Journal of Dentistry**, v.40, p.485-492, 2012.

FLURY, S.; KOCH, T.; PEUTZFELDT, A.; LUSSI, A.; GANSS, C. The effect of a tin-containing fluoride mouth rinse on the bond between resin composite and erosively demineralised dentin. **Clinical Oral Investigation**, v.17, p. 217–225, 2013.

GANSS C, KLIMEK J, STARCK C. Quantitative analysis of the impact of the organic matrix on the fluoride effect on erosion progression in human dentine using longitudinal microradiography. **Archives of Oral Biology**, v. 49, p. 931-935, 2004.

GENDRON, R.; GRENIER, D.; SORSA, T.; MAYRAND, D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v.6, n.3, p.437-439,1999.

HANNAS, A.R.; PEREIRA, J. C.; GRANJEIRO, J.M.; TJADERHANE, L. The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. **Acta Odontologica Scandinavica**, v.55, n.1, p.1-13, 2007.

HARA, A.T.; ANDO, M.; CURY, J.A.; SERRA, M.C.; GONZALEZ-CABEZAS, C.; ZERO, D.T. Influence of the organic matrix on root erosion by citric acid. **Caries Research**, v 39, n.2, p. 134-138, 2005.

HASHIMOTO M. A review – micromorphological evidence of degradation in resin-dentin bonds and potential preventional solutions. **Journal of Biomedical Material Research: Part B, Applied Biomaterials**, v. 92, n. 1, p. 268-80, 2010.

HEBLING, J.; PASHLEY, D.H.; TJADERHANE, L.; TAY, F.R. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. **Journal of Dental Research**, v.84, n. 8, p. 741-746, 2005.

KATO, M.T., LEITE, A.L., HANNAS, A.R., BUZALAF, M.A. Gels containing MMP inhibitors prevent dental erosion in situ. **Journal of Dental Research**, v.89, n.5, p.468-472, 2010a.

- KATO, M.T., MAGALHAES, A.C., RIOS, D., HANNAS, A.R., ATTIN, T., BUZALAF, M.A.R. Protective effect of green tea on dentin erosion and abrasion. **Journal of Applied Oral Science**, v.17, n.6, p.560-564, 2009.
- KATO, M.T.; LEITE, A.L.; HANNAS, A.R.; OLIVEIRA, R.C.; PEREIRA, J.C., TJÄDERHANE, L. Effect of iron on matrix metalloproteinase inhibition and on the prevention of dentin erosion. **Caries Research**, v.44, p.309-316, 2010b.
- KOMORI, P.C.; PASHLEY, D.H.; TJADERHANE, L.; BRESCHI, L., MAZZONI, A.; DE GOES, M.F. Effect of 2% chlorhexidine digluconate on the bond strength to normal versus caries affected dentin. **Operative Dentistry**, v. 34, n. 2, p. 157-165, 2009.
- LIU Y, TJÄDERHANE L, BRESCHI L, MAZZONI A, LI N, MAO J, PASHLEY DH, TAY FR. Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. **Journal of Dental Research**, v.90, n.8, p. 953-968, 2011.
- LOGUÉRCIO, A.D.; STANISLAWCZUK, R.; POLLI, L.G.; COSTA J.A.; MICHEL M.D.; REIS A. Influence of chlorhexidine digluconate concentration and application time on resin-dentin bond strength durability. **European Journal of Oral Sciences**, v.117, n 5, p 587-596, 2009.
- LUSSI, A.; SHLUETER, N.; RAKHMATULLINA, E.; GANSS, C. Dental Erosion- An overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. **Caries Research**, v.45 (suppl 1), p.2-12, 2011.
- MAGALHÃES, A.C.; WIEGAND, A.; RIOS, D.; HANNAS, A.; ATTIN, T.; BUZALAF M.A.R. Chlorhexidine and green tea extract reduce dentin erosion and abrasion in situ. **Journal of Dentistry** v.37, n.994-998, 2009.
- NAKABAYASHI, N. & PASHLEY, D.H., Hibridização dos tecidos dentais duros. **Quintessence**, 2000.
- NAKAJIMA, M.; KUNAWAROTE, S.; PRASANSUTTIPORN, T.; TAGAMI, J. Bonding to caries-affected dentin. **Japanese Dental Science Review**, v. 47, p. 102-104, 2011.
- NISHITANI, Y.; YOSHIYAMA, M.; WADGAONKAR, B.; BRESCHI, L.; MANNELLO, F.; MAZZONI, A.; CARVALHO, R. M.; TJADERHANE, L.; TAY, F. R.; PASHLEY, D. H. Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. **European Journal of Oral Sciences**, v. 114, n. 2, p. 160–166, 2006.
- OSORIO, R.; YAMAUTI, M.; OSORIO, E.; RUIZ-REQUENA, M.E.; PASHLEY, D.; TAY, F., TOLEDANO, M. Effect of dentin etching and chlorhexidine application on

metalloproteinase-mediated collagen degradation. **European Journal of Oral Science**, v. 119, n. 1, p.79-85, 2011.

PASHLEY, D.H.; TAY, F.R.; YIU, C.; HASHIMOTO, M.; BRESCHI, L.; CARVALHO, R.M; ITO, S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. **Journal of Dental Research**, v. 83, n. 3, p. 216-221, 2004.

PASHLEY, D.H.; TAY, F.R.; BRESCHI, L.; TJÄDERHANE, L.; CARVALHO, R.M.; CARRILHO, M.; TEZVERGIL-MUTLUAY, A. State of the art etch-and-rinse adhesives. **Dental Materials**, v.27, p.1–16, 2011.

PASSOS, V. F.; SOUZA, A. M. B.; RODRIGUES, L. K. A.; BOMBONATTI, J. C. F. S.; SANTIAGO, S. L. A conservative treatment approach using direct composite resins for anterior teeth eroded by lemon sucking. **General Dentistry**, v. 61, p. e1, 2013.

PERDIGÃO J. Dentin bonding-variables related to the clinical situation and the substrate treatment. **Dental Materials**, v.26, n.2, p.24-37, 2010.

RAMOS, T.M.; RAMOS-OLIVEIRA, T.M.; DE FREITAS, P.M.; AZAMBUJA JR., N.; ESTEVES-OLIVEIRA, M.; GUTKNECHT, N.; DE PAULA EDUARDO, C. Effects of Er:YAG and Er,Cr:YSGG laser irradiation on the adhesion to eroded dentin. **Lasers in Medical Science**, 2013.

REIS, A.; CARRILHO, M.; BRESCHI, L.; LOGUERCIO, A.D. Overview of clinical alternatives to minimize the degradation of the resin-dentin bonds. **Operative Dentistry**, v.38, n.4, 2013.

RESTON, E.G.; CORBA, V.D.; BROLIATO, G.; SALDINI, B.P.; BUSATO, A.L.S. Minimally invasive intervention in a case of a noncarious lesion and severe loss of tooth structure. **Operative Dentistry**, v. 37, n.3, p. 324-328, 2012.

RICCI, H.A.; SANABE, M.E.; DE SOUZA COSTA, C.A.; PASHLEY, D.H.; HEBLING, J. Chlorhexidine increases the longevity of in vivo resin–dentin bonds. **European Journal of Oral Science**, v.118, p.411–416, 2010.

SABATINI, C. Effect of a Chlorhexidine-containing Adhesive on Dentin Bond Strength Stability. **Operative Dentistry**, v.38, n.5, 2013.

SANO, H.; TAKATSU, T.; CIUCCHI, B.; HORNER, J.A.; MATTHEWS, W.G.; PASHLEY, D.H. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. **Operative Dentistry**, v.20, n. 1, p. 8-25, 1995.

SANO, H.; YOSHIKAWA, T.; PEREIRA, P.N.; KANEMURA, N.; MORIGAMI, M.; TAGAMI, J.; PASHEY, D.H. Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. **Journal of Dental Research**, v. 78, n. 4, p. 906-911, 1999.

SANTIAGO, S. L.; PASSOS, V. F.; VIEIRA, A. H. M. Restaurações de lesões cervicais não cariosas: problemas e soluções. **Pro-odonto**. Estética, v. 2, p. 83-138, 2008

SANTIAGO, S.L.; FRANCO, E.B.; MENDONÇA, J.S.; LAURIS, J.R.P., NAVARRO, M.F.L. One-year clinical evaluation of tooth-colored materials in non-cariou cervical lesions. **Journal of Applied of Oral Science**, v. 11, p. 175-180, 2003.

SANTIAGO, S.L.; OSORIO, R.; NERI, J.R.; CARVALHO, R.M.; TOLEDANO, M. Effect of the flavonoid epigallocatechin-3-gallate on resin-dentin bond strength. **The Journal of Adhesive Dentistry**, v.15, 2013.

STANISLAWCZUK, R., AMARAL, R.C., ZANDER-GRANDE, C., GAGLER, D., REIS, A., LOGUÉRCIO, A.D. Chlorhexidine-containing acid conditioner preserves longevity of resin-dentin bonds. **Operative Dentistry**, v.34, p.483-492, 2009.

SULKALA, M., TERVAHARTIALA, T., SORSA, T., LARMAS, M., SALO, T., TJÄDERHANE, L. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin. **Archives of Oral Biology**, v. 52, n. 2, p. 121-7, 2007

TAY, F.R.; PASHLEY, D.H.; LOUSHINE, R.J.; WELLER, R.N.; MONTICELLI, F.; OSORIO, R. Self-etching adhesives increase collagenolytic activity in radicular dentin. **Journal of Endodontics**, v. 32, n. 9, p. 862-868, 2006.

TAY, F.R.; PASHLEY, D.H.; SUH, B.I.; CARVALHO, R.M.; ITTHAGARUN, A. Single-step adhesives are permeable membranes. **Journal of Dentistry**, v. 30, n. 7-8, p. 371-82, 2002.

TJADERHANE, L.; LARJAVA, H.; SORSA, T.; UITTO, V.; LARMAS, M.; SALO, T. The activation and function of host matrix metalloproteinase in dentin matrix during breakdown in carious lesions. **Journal of Dental Research**, v.77, n.8, p.1622-1629, 1998

VAN MEERBEEK, B.; PNEUMANS, M.; POITEVIN, A.; MINE, A., VAN ENDE, A.; NEVES, A. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. **Dental Materials**, v. 26, n. 2, p. 100-21, 2010.

VAN MEERBEEK, B.; DE MUNCK, J.; YOSHIDA, Y.; INOUE, S; VARGAS, M.; VIJAY, P. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. **Operative Dentistry**, v.28, p.215-35, 2003.

VAN MEERBEEK, B.; YOSHIHARA, K.; YOSHIDA, Y.; MINE, A.; DE MUNCK, J.; VAN LANDUYT, K.L. State of the art of self-etch adhesives. **Dental Materials**, v.27, p.17-28, 2011.

WANG, X & LUSSI, A. Assessment and Management of Dental Erosion. **Dental Clinics of North America**, v. 54, p.565–578, 2010.

WANG, Y. & SPENCER, P.; Hibridization efficiency of the adhesive/dentin interface with wet bonding. **Journal of Dental Research**, v. 82, n. 2, p. 141-5, 2003.

YIU, C.K.; HIRAISHI, N., TAY, F.R.; KING, N.M. Effect of chlorhexidine incorporation into dental adhesive resin on durability of resin-dentin bond. **Journal of Adhesive Dentistry**, v. 14, n. 4, p. 355-62, 2012.

YOSHIDA, Y.; NAGAKANE, K.; FUKUDA, R.; NAKAYAMA, Y.; OKAZAKI, M.; SHINTANI, H.; INOUE, S; TAGAWA, Y; SUZUKI, K.; DE MUNCK, J.; VAN MEERBEEK, B. Comparative Study on adhesive performance of functional monomers. **Journal of Dental Research**, 83(6):454-458, 2004.

ZHANG, C.; KERN, M. The Role of host-derived dentinal matrix metalloproteinases in Reducing Dentin Bonding of Resin Adhesives. **International Journal of Oral Science**, v.1, n4, p.163–176, 2009.

ZIMMERLI, B.; DE MUNCK, J.; LUSSI, A.; LAMBRECHTS, P.; VAN MEERBEEK, B. Long-term bonding to eroded dentin requires superficial bur preparation. **Clinical Oral Investigation**, v.16, p.1451–1461, 2012.

APÊNDICE
TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr. (a) _____, após ter tomado conhecimento do protocolo da pesquisa “INFLUÊNCIA DE INIBIDORES DE METALOPROTEINASES DA MATRIZ (MMPs) NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO DE UM SISTEMA ADESIVO AUTOCONDICIONANTE EM DENTINA HÍGIDA E EROSIVAMENTE DESMINERALIZADA” que tem como objetivo avaliar o efeito do flavonóide epigallocatequina-3-galato e da clorexidina na resistência de união de um sistema adesivo de autocondicionamento à dentina hígida e erosivamente desmineralizada, vem na melhor forma de direito DOAR à cirurgiã-dentista Cecília Atem Gonçalves de Araújo costa __ dentes (terceiros molares), declarando, sob as penas da lei, que os dentes objeto da presente doação foram extraídos por indicação terapêutica, cujos históricos circunstanciados fazem parte dos prontuários dos pacientes de quem se originam.

Data: ___/___/___

Assinatura: _____

RG: _____

ANEXO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ PROPESQ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: A INFLUÊNCIA DE INIBIDORES DE METALOPROTEINASES DA MATRIZ (MMPs) NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO DE UM SISTEMA ADESIVO AUTOCONDICIONANTE EM DENTINA SADIA E ERODIDA

Pesquisador: CECILIA ATEM GONÇALVES DE ARAÚJO COSTA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 19738013.0.0000.5054

Instituição Proponente: Departamento de Odontologia Restauradora

Patrocinador Principal: Departamento de Odontologia Restauradora

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 369.345

Data da Relatoria: 22/08/2013

Apresentação do Projeto:

Pesquisa de dissertação de mestrado de Cecília Atem Gonçalves de Araújo Costa, orientada pelo Prof. Sérgio Lima Santiago, na qual serão avaliadas soluções inibidoras de MMPs empregadas para a limpeza de cavidades que sofreram ataque ácido prévio às restaurações estéticas. Trata-se de um estudo quantitativo, do tipo investigação experimental em laboratório utilizando-se dentes terceiros molares extraídos por motivos alheios a este estudo, nos quais serão aplicadas soluções de água destilada, digluconato de clorexidina e flavonóide Epigallocatequina-3-galato (EGCG) em dentina sadia e erodida e seguidas de colocação de resinas compostas. Serão utilizados 36 dentes e os testes de avaliação da interface adesiva serão realizados imediatamente e após seis meses, por esta razão a pesquisadora informa que as amostras serão armazenadas. Para comparação entre os grupos, será utilizada a Análise de Variância (ANOVA) a três critérios: solução de tratamento dentinário (água destilada, digluconato de clorexidina a 2 % e solução do flavonóide Epigallocatequina-3-galato), tipo de substrato (dentina sadia e erodida) e o tempo de teste (imediate e após 6 meses). Em todas as situações, será adotado o nível de significância de 5 %.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o efeito de inibidores de MMPs (EGCG e Clorexidina) na resistência de união à dentina (sadia e erodida artificialmente), de um sistema adesivo autocondicionante, através de ensaios de

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127
 Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-270
 UF: CE Município: FORTALEZA
 Telefone: (85)3366-8344 Fax: (85)3223-2903 E-mail: compe@ufc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ PROPESQ



Continuação do Parecer: 368.345

microtração em dois períodos: imediato (24h após os procedimentos adesivos) e mediato (após 6 meses de envelhecimento dos espécimes).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Não há riscos envolvidos pois trata-se de uma pesquisa em laboratório com dentes humanos extraídos por motivos que não envolvem este estudo

Benefícios:

Será possível propor novos materiais a serem usados na odontologia restauradora com o objetivo de aumentar a longevidade das restaurações de resina composta

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo de inibidores de MMPs utilizados em preparos cavitários parece promissor na odontologia atual, para a manutenção da camada híbrida na dentina e conseqüente maior durabilidade das restaurações adesivas. Assim a preservação da própria estrutura dentária e a redução dos custos com assistência odontológica podem ser minimizados.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A pesquisadora apresentou ao CEP: folha de rosto devidamente preenchida e assinada pelo chefe do Departamento de Odontologia Restauradora, carta de encaminhamento a este comitê, cronograma atualizado, orçamento detalhado, declaração de participação da pesquisadora e do orientador, termo de anuência do Laboratório da PPGO, solicitação de dispensa de TCLE e substituição pelo Termo de doação de dentes.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A pesquisadora não enviou o currículo Lattes sendo o mesmo acessado diretamente na página do CNPq.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127
 Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-270
 UF: CE Município: FORTALEZA
 Telefone: (85)3366-8344 Fax: (85)3223-2903 E-mail: comape@ufc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ PROPESQ



Continuação do Parecer: 369.345

FORTALEZA, 23 de Agosto de 2013

Assinado por:
FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA
(Coordenador)

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127
Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-270
UF: CE Município: FORTALEZA
Telefone: (85)3366-8344 Fax: (85)3223-2903 E-mail: comape@ufc.br