



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

LUCAS LINO DE OLIVEIRA

**POTENCIAL BIOMODIFICADOR DE COLÁGENO DENTINÁRIO E DE
PRESERVAÇÃO DA CAMADA HÍBRIDA POR DIFERENTES LIGNINAS**

FORTALEZA

2024

LUCAS LINO DE OLIVEIRA

POTENCIAL BIOMODIFICADOR DE COLÁGENO DENTINÁRIO E DE
PRESERVAÇÃO DA CAMADA HÍBRIDA POR DIFERENTES LIGNINAS

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. Diego Lomonaco Vasconcelos de Oliveira.

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O48p Oliveira, Lucas Lino de.
POTENCIAL BIOMODIFICADOR DE COLÁGENO DENTINÁRIO E DE PRESERVAÇÃO DA
CAMADA HÍBRIDA POR DIFERENTES LIGNINAS / Lucas Lino de Oliveira. – 2024.
40 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e
Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Fortaleza, 2024.
Orientação: Prof. Dr. Diego Lomonaco Vasconcelos de Oliveira.

1. Lignina. 2. Adesivos dentinário. 3. Reagentes para ligações cruzadas. I. Título.

CDD 617.6

LUCAS LINO DE OLIVEIRA

POTENCIAL BIOMODIFICADOR DE COLÁGENO DENTINÁRIO E DE
PRESERVAÇÃO DA CAMADA HÍBRIDA POR DIFERENTES LIGNINAS

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.

Aprovado em: / / .

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Diego Lomonaco Vasconcelos de Oliveira (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Vanara Florêncio Passos (Banca)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Renally Bezerra Wanderley e Lima (Banca)
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Profa. Dra. Talita Arrais Daniel Mendes (Banca)
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

AGRADECIMENTOS

A Deus, primeiramente, pois sem Ele não sou nada e a Ele devo gratidão por cada conquista de minha vida. É nas conversas com Ele que divido cada momento íntimo de felicidade, tristeza, angústia e oração.

À minha mãe, senhora Maria do Carmo, por representar todo o meu alicerce de sustentação. É o meu chão. Pessoa que me ensinou quase tudo que sou como ser humano e com quem ainda aprendo em todos os dias da minha vida.

Ao meu pai, senhor José Alailson, por me ensinar que garra e humildade contemplam a integralidade de um ser. Sempre serei grato por tudo que já fez por mim, ainda faz e espero um dia retribuir à altura.

À minha irmã, Amanda, por ser uma motivadora no meu percurso. Sempre acreditou em mim, no meu potencial, e com quem também divido essa caminhada que é a Odontologia.

Ao meu sobrinho, Ravi, por ter sido um dos melhores presentes divinos nesse percurso do Mestrado. Foi nele que, por muitas vezes, encontrei alegria para motivar e seguir nessa caminhada.

Ao meu primo, Matheus, que sempre foi um grande amigo acima de tudo. Nunca se absteve em cada momento que eu necessitasse da sua ajuda sempre regado da sua extrema boa vontade.

Ao meu amigo, Marcos, por ter vivido comigo nesse período em Fortaleza. Não é fácil sair de onde sempre morou e estar em lugar novo, com novos desafios, mas o seu companheirismo tornou essa caminhada mais leve.

Aos meus amigos em geral, que por muitas vezes escutaram minhas angústias e serviram de refúgio para os momentos de dificuldade encontrados nesse período.

Ao meu orientador e coorientador, professores Diego Lomonaco e Victor Feitosa, por representarem espelhos na pesquisa e no ensino. Levarei comigo cada ensinamento repassado e sinto que o fruto dessa caminhada foi extremamente positivo.

À minha banca de pré-defesa, professores Juliano e Marcelo, que simbolizam para mim tudo aquilo que enxergo de inspirador em educadores. Toda sua calma e capacidade de motivação são primordiais para trazer o que há de melhor em cada aluno. Professor Juliano foi um grande motivador nesse percurso e a quem devo total gratidão.

À minha banca de defesa, professoras Renally, Talita e Vanara, que são mulheres inspiradoras e extremamente solícitas. Professora Renally é uma pesquisadora nata e um

espelho nesse ramo. Professora Vanara sempre com seu jeito doce me cativou em todas as formas, com certeza um alento na pesquisa e no ensino. Professora Talita é uma pessoa que já considero amiga e que me acompanha desde a graduação, sendo um dos símbolos mais importantes nessa conquista.

A UFC, especialmente a FFOE, que representou um sonho desde a graduação e hoje poder dizer que faço parte dessa história é de extrema felicidade.

Ao PPGO, por dar todo suporte necessário durante esse período e ter sido sempre acolhedor mesmo com alunos que não são oriundos da UFC, mas que hoje também são pertencentes a ela.

A CAPES, por ser uma instituição de fomento que sempre apoia a pesquisa brasileira e na qual tive a oportunidade de ser um dos bolsistas.

A Faculdade Paulo Picanço, por sempre disponibilizar do seu laboratório nos momentos em que necessitei para realizar qualquer teste da pesquisa.

RESUMO

A união entre adesivo e substrato dentinário pode não ser duradoura quando se trata de sistemas adesivos de condicionamento e lavagem, devido a composição desse substrato e uma vez que as fibras colágenas expostas pelo condicionamento ácido não são completamente infiltradas pelos monômeros do adesivo, propiciando a ação de diversos mecanismos de degradação da camada híbrida (CH). Nesse sentido, os agentes biomodificadores (AB) são uma das estratégias utilizadas visando minimizar os impactos causados pelos mecanismos de degradação da CH, destacando-se alguns polifenóis, como as Proantocianidinas (PAC), do extrato da semente de uva. A lignina, por sua vez, é um polímero natural proveniente do resíduo de descarte da indústria do papel que apresenta um grande potencial para a formação de ligações cruzadas devido a sua estrutura química, possuindo capacidade de realizar pontes de hidrogênio ou outras ligações covalentes com o colágeno dentinário. Dessa forma, este estudo objetivou avaliar o efeito biomodificador de diferentes ligninas no procedimento adesivo em dentina, bem como na resistência de união de um sistema adesivo a esse substrato. Para isso, os fatores de estudo sob investigação foram: (1) Lignina etanólica 2 p/p% [LIGe]; (2) Lignina aquosa 2 p/p% [LIGa]; (3) PAC 6,5 p/p%; (4) Cardanol 2 p/p% [CARD]; além do uso de (5) Água destilada [controle negativo]. Foram selecionados 40 dentes terceiros molares humanos, hígidos e extraídos, onde, para o procedimento de biomodificação, foram confeccionadas barras de dentina com 1,7 x 0,5 x 6 mm de dimensão. As variáveis dependentes do estudo foram Módulo de Elasticidade (ME), avaliada quantitativamente por método de flexão de 3 pontos (n=10), Variação de Massa (VM) [n=10] e Taxa de Biodegradação (TB) [n=10], medidos, respectivamente, por uma máquina universal de ensaios e uma balança analítica de precisão. Para o ensaio restaurador, espécimes em forma de palitos de resina-dentina com área transversal de 1mm² foram confeccionados e submetidos ao teste de Resistência de União (RU) por microtração (n=12). Para o teste de ME, utilizou-se ANOVA a dois critérios para medidas repetidas, enquanto para RU utilizou-se ANOVA. Uma análise não paramétrica de Kruskal-Wallis foi adotada para VM e TB. Todos os testes foram realizados adotando nível de significância 5% (p<0,05). PAC e CARD apresentaram os melhores resultados para ME, seguidos de LIGa e LIGe, respectivamente. O grupo controle negativo demonstrou resultados inferiores aos grupos testes para ME e RU. Não houveram diferenças estatísticas entre os grupos para VM e taxa de biodegradação. LIGa e PAC apresentaram os melhores resultados para RU, porém PAC demonstrou redução

significativa após envelhecimento, enquanto LIGa se manteve. LIGe e CARD apresentaram resultados estatisticamente semelhantes para RU e mantiveram-se semelhantes a LIGa após envelhecimento. Conclui-se que as diferentes ligninas representam AB promissores, especialmente LIGa, visto que mantiveram a estabilidade da CH ao longo do tempo e apresentaram potencial para a formação de ligações altamente estáveis devido a sua capacidade de interação com a água.

Palavras-chave: lignina; adesivos dentinário; reagentes para ligações cruzadas.

ABSTRACT

The union between adhesive and dentin substrate may not be long-lasting when it comes to conditioning and washing adhesive systems, due to the composition of this substrate and since the collagen fibers exposed by acid conditioning are not completely infiltrated by the adhesive monomers, providing the action of various degradation mechanisms of the hybrid layer (CH). In this sense, biomodifying agents (BA) are one of the strategies used to minimize the impacts caused by CH degradation mechanisms, highlighting some polyphenols, such as Proanthocyanidins (PAC), from grape seed extract. Lignin, in turn, is a natural polymer originating from waste from the paper industry that has great potential for the formation of cross-links due to its chemical structure, having the ability to form hydrogen bonds or other covalent bonds with the dentin collagen. Therefore, this study aimed to evaluate the biomodifying effect of different lignins on the adhesive procedure on dentin, as well as on the bond strength of an adhesive system to this substrate. For this, the study factors under investigation were: (1) Ethanolic lignin 2 w/w% [LIGe]; (2) Aqueous lignin 2 w/w% [LIGa]; (3) PAC 6.5 p/w%; (4) Cardanol 2 w/w% [CARD]; in addition to the use of (5) Distilled water [negative control]. 40 healthy and extracted human third molar teeth were selected, where, for the biomodification procedure, dentin bars measuring 1.7 x 0.5 x 6 mm in size were made. The dependent variables of the study were Modulus of Elasticity (ME), quantitatively evaluated using the 3-point bending method (n=10), Mass Variation (VM) [n=10] and Biodegradation Rate (TB) [n=10], measured, respectively, by a universal testing machine and a precision analytical balance. For the restorative test, specimens in the form of resin-dentin sticks with a cross-sectional area of 1mm² were manufactured and subjected to the Bond Strength (RU) test by microtensile (n=12). For the ME test, two-way ANOVA was used for repeated measures, while for RU, ANOVA was used. A non-parametric Kruskal-Wallis analysis was adopted for VM and TB. All tests were carried out adopting a significance level of 5% (p<0.05). PAC and CARD showed the best results for ME, followed by LIGa and LIGe, respectively. The negative control group demonstrated inferior results to the test groups for ME and RU. There were no statistical differences between the groups for MV and biodegradation rate. LIGa and PAC showed the best results for RU, but PAC demonstrated a significant reduction after aging, while LIGa was maintained. LIGe and CARD showed statistically similar results for RU and remained similar to LIGa after aging. It is concluded that the different lignins represent promising BAs, especially LIGa,

as they maintained the stability of CH over time and presented the potential for the formation of highly stable bonds due to their ability to interact with water.

Keywords: lignin; dentin-bonding agents; cross-linking reagents.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	12
2 PROPOSIÇÃO.....	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3 CAPÍTULO.....	18
3.1 CAPÍTULO 1.....	19
4. CONCLUSÃO GERAL.....	36
REFERÊNCIAS	
ANEXO – COMITÊ DE ÉTICA	

1 INTRODUÇÃO GERAL

A tendência, na contemporaneidade, dos conceitos em odontologia minimamente invasiva, estética e restauradora perpassa pela substituição de restaurações com amálgama, que apresentam uma durabilidade favorável, por restaurações com resina composta, em virtude de estas serem mais estéticas comparadas as de amálgama, não apresentarem mercúrio em sua composição e contemplarem os conceitos de minimamente invasivo (PERSICI; RIBEIRO; PAZINATTO, 2018).

Entretanto, uma das maiores dificuldades em restaurações com resinas compostas é estabelecer uma união duradoura entre o adesivo e o substrato dentário (COMBA et al., 2019). Por conseguinte, o procedimento criterioso de restaurações adesivas tem sido relatado como o principal empecilho para o seu sucesso a longo prazo (VEIGA et al., 2016).

Esse fator ocorre, principalmente, em substrato dentinário. O substrato dentinário é composto em volume por 20% água, 50% de tecido mineralizado e 30% de matriz orgânica extracelular. Esta última, por sua vez, é composta por 90% de colágeno do tipo I, enquanto os outros 10% são representados por componentes não-colagenosos, como glicosaminoglicanas, proteoglicanas e enzimas endógenas, por exemplo as Metaloproteinasas de Matriz (MMPs) e cisteínas catepsinas (AGUIAR et al., 2014).

Assim, em longo prazo, a união entre adesivo e substrato dentinário pode não ser eficaz quando se trata de sistemas adesivos de condicionamento e lavagem, ocorrendo porque as fibras de colágeno presentes na dentina, na maioria das vezes, não são completamente infiltradas pelos monômeros do adesivo quando expostas por condicionamento ácido, podendo intercorrer diversos mecanismos de degradação por meio da ação de enzimas MMPs e Cisteínas Catepsinas (CTPs), além da hidrólise ocorrida pela presença de água em excesso e polimérica ocasionada pelo próprio adesivo (FRASSETO et al., 2016).

Nesse contexto, tem sido relatado na literatura diversas estratégias que visam aumentar a longevidade da interface adesiva. Dentre elas, pode-se destacar os inibidores de MMPs e CTPs, a técnica úmida etanólica, a remineralização biomimética e os Agentes de Ligações Cruzadas (ALCs) do colágeno dentinário (BEDRAN-RUSSO et al., 2017).

Os ALCs, também conhecidos como Agentes Biomodificadores (ABs) ou de Reticulação do colágeno (AR), em estudos prévios apresentaram resultados promissores em tecidos dentários. Os ALCs melhoram a estabilidade mecânica do colágeno tipo I

presente na dentina, bem como sua resistência à desnaturação térmica e degradação enzimática (AYDIN et al., 2019). O seu termo refere-se, nas ciências biológicas, a ligação química entre as cadeias laterais de aminoácidos dentro do colágeno, estabilizando seu arranjo molecular e, conseqüentemente, fortificando a penetração dos monômeros do adesivo (MAZZONI et al., 2018).

De uma forma pragmática, a biomodificação do colágeno dentinário consiste em uma abordagem em odontologia restauradora que visa o aumento da densidade de ligação cruzada do colágeno dentinário, proporcionando melhora nas propriedades biomecânicas da dentina e redução da taxa de biodegradação (BEDRAN-RUSSO et al., 2017). Tal mecanismo de ação ocorre devido a diminuição de água na camada híbrida em decorrência dessas ligações cruzadas, bem como uma redução da mobilidade molecular das enzimas endógenas presentes na dentina, podendo evitar ligações químicas das proteases em seus sítios receptores (AYDIN et al., 2019).

Dessa forma, o processo de biomodificação dentinária pode partir de produtos de origem sintética ou natural (BEDRAN-RUSSO et al., 2014). Quando se trata de produtos químicos de origem sintética, destaca-se o glutaraldeído que vem sendo utilizado no ambiente odontológico há décadas. O glutaraldeído é um dialdeído com alta afinidade pelo radical da amina primária dos aminoácidos, onde irá promover ligações covalentes entre dois grupos amina de hidroxilinas com seu grupamento aldeído, visando formar compostos de piridíneo, uma ligação altamente estável, mas que apresenta como inconveniente sua alta toxicidade (VENIGALLA et al., 2016). Outro agente sintético utilizado como AB é a carbodiimida, que também pertence à classe dos aldeídos, mas que apresenta um mecanismo de ação associado a formação de ligações amidas, consideradas estáveis por meio da reticulação de grupos funcionais de ácidos carboxílicos, onde formam o intermediário O-acilisourea que irá interagir com aminas hidroxilisina e lisina presentes nos aminoácidos constituintes do colágeno (MAZZONI et al., 2014).

Não obstante, no que diz respeito aos agentes de origem natural, ressalta-se que a utilização desses tipos de ABs representa uma alternativa vistosa, econômica e com caráter renovável, o que complementa características cruciais para o bom proveito de substâncias químicas (BEDRAN-RUSSO et al., 2017). Nesse sentido, diversos polifenóis têm sido testados como ABs e demonstraram uma efetiva bioatividade com componentes da matriz celular e extracelular, consolidando-se como produtos promissores para serem aplicados no ambiente odontológico (AYDIN et al., 2019).

Dentro dos ABs de origem natural, o extrato da semente de uva, rico em proantocianidinas, tem sido um dos polifenóis mais estudados nos últimos anos, podendo ser considerado o padrão ouro dentre os agentes naturais. As proantocianidinas, por sua vez, não possuem mecanismo de ação esclarecido, porém estudos relatam que sua interação com o colágeno advém da formação de ligações de hidrogênio altamente estáveis do seu grupamento fenol com as aminas presentes no colágeno dentinário (BEDRAN-RUSSO et al., 2017; AYDIN et al., 2019). Entretanto, outros agentes também já foram relatados na literatura como um potencial AB, como o extrato do cacau (*Theobroma cacao*), casca do caule da canela (*Cinnamon verum*), folhas da planta chá verde (*Camellia sinensis*), da aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) e da fruta açai (*Euterpe precatoria*) (AGUIAR et al., 2014). Ademais, fenóis da cadeia de carbono longa obtidos da extração industrial do líquido da castanha do caju, conhecidos como cardol e cardanol, também foram relatados na literatura como ABs naturais promissores (MOREIRA et al., 2017; MOREIRA et al., 2018).

Com isso, a Lignina (LIG) é um polímero natural de origem vegetal que, pela sua estrutura química, representa um potencial para a formação de ligações cruzadas no colágeno dentinário, aumentando a sua resistência e favorecendo uma proteção contra a sua biodegradação (DE PAULA, 2019). Por meio do estudo de diferenciação da parede celular de estruturas vegetais, surgiu a ideia de se utilizar a LIG, visto que é o componente principal das paredes celulares secundárias, juntamente com a celulose e a hemicelulose, fornecendo suporte mecânico aos tecidos. Tal mecanismo ocorre devido a LIG preencher os poros entre os polissacarídeos nas paredes celulares, levando a um espessamento secundário das paredes e aumento da sua rigidez, sendo um fator primordial para a proteção das plantas (YOON; CHOI; AN, 2015).

Ademais, esse mecanismo de ação está associado à interação entre LIG, celulose e hemicelulose por meio de ligações químicas, podendo essa interação ocorrer também com a estrutura de colágeno, principalmente devido a composição molecular da LIG. Na estrutura química da LIG é possível perceber subunidades monoméricas como o guaiacil (G), p-hidroxifenil (H) e siringil (S), que são polifenóis capazes de realizar pontes de hidrogênio ou outras ligações covalentes com o colágeno dentinário, consolidados na literatura como ligações químicas estáveis e resistentes aos diversos mecanismos de degradação da camada híbrida (LOPES et al., 2020).

Atualmente a LIG tem sido bastante utilizada pela indústria para a produção de energia, já que é considerado um subproduto da produção de celulose, porém sua

utilização na prática odontológica necessita ser mais investigada, levando em consideração que fora testada como forma de aumentar a longevidade de restaurações resinosas apenas incorporado ao ácido fosfórico (MATHEUS; SMITHSON; GRUNDEN, 2016; DE-PAULA et al., 2020).

Assim, diferentes tipos de LIG podem ser originadas a partir de um processo de diferenciação química. Desse modo, A lignina sulfonada é um tipo de LIG produzida por modificação química de uma lignina separada por um processo diferente da polpação com sulfito. Esta possui uma característica de ser altamente solúvel em água, onde essa sua hidrofiliabilidade é conferida pela presença de grupos sulfonatos aniônicos, mas também por grupos hidroxila fenólicos, sugerindo uma atividade promissora como agente de biomodificação e preservação da interface adesiva (RUWOLDT, 2020).

Por representarem produtos que são, de modo geral, descartados pela indústria, surge a necessidade da sua utilização de forma renovável, visto que apresentam estruturas moleculares promissoras para a utilização enquanto ABs, principalmente a lignina sulfonada que pode possuir um potencial a mais de interação com o colágeno dentinário devido a sua hidrofiliabilidade, conforme demonstra as figuras 1 e 2 (LOMONACO et al., 2017; RUWOLDT, 2020).

Figura 1. Estrutura molecular da lignina solúvel em etanol.

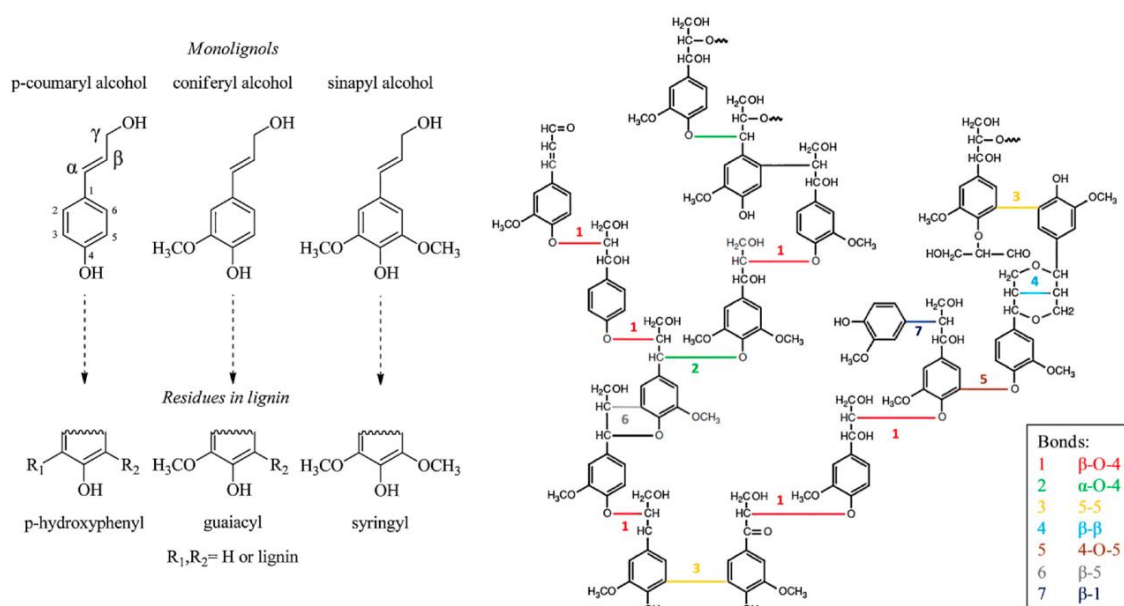
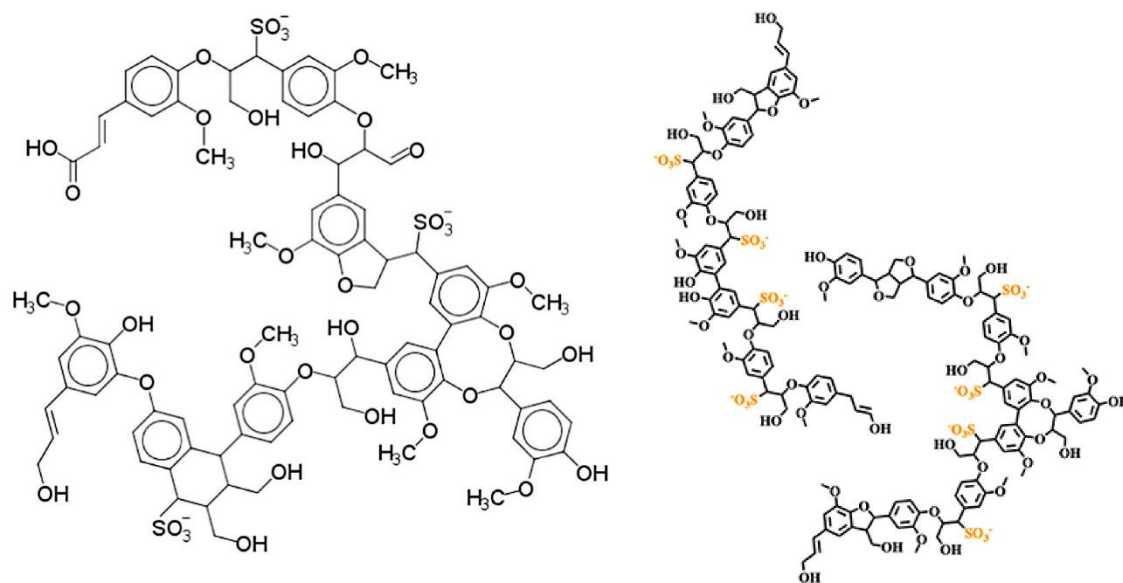


Figura 2. Estrutura molecular da lignina solúvel em água.



2 PROPOSIÇÃO

O presente trabalho tem como objetivos:

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito biomodificador de diferentes ligninas (solúvel em água e solúvel em etanol) no procedimento adesivo em dentina, bem como na resistência de união dos materiais adesivos nesse substrato.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Mensurar o potencial de biomodificação das diferentes soluções de ligninas, através de módulo de elasticidade e variação da massa após biomodificação.

Averiguar a taxa a hidrólise das diferentes ligninas após protocolo de biomodificação.

Analisar o efeito na resistência de união de diferentes ligninas quando utilizadas como pré-tratamento no procedimento adesivo em dentina imediatamente e após envelhecimento.

3 CAPÍTULO

Esta dissertação está baseada no Artigo 46 do Regime 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 co-autoria do candidato (Anexo 1). Por se tratar de pesquisa 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 (Anexo 2). Assim sendo, esta dissertação é composta de um capítulo contendo artigo publicado, submetido para publicação em revistas científicas ou em fase de redação, conforme descrito abaixo:

Capítulo 1

Efeito de diferentes ligninas como agente biomodificador de colágeno dentinário e na preservação da interface adesiva.

Oliveira LL, Feitosa VP, Oliveira DLV.

Artigo a ser submetido ao periódico Brazilian Oral Research.

3.1 CAPÍTULO 1

Efeito de diferentes ligninas como agente biomodificador de colágeno dentinário e na preservação da interface adesiva

RESUMO

Neste estudo objetivou-se avaliar o efeito de diferentes ligninas como agente biomodificador de colágeno dentinário e na preservação da interface adesiva. Para isso, os grupos testados foram: (1) Lignina solúvel em etanol 2 p/p% [LIGe]; (2) Lignina solúvel em água 2 p/p% [LIGa]; (3) Proantocianidinas 6,5 p/p% [PAC]; (4) Cardanol 2 p/p% [CARD]; além do uso de (5) Água destilada [controle negativo]. As variáveis avaliadas no estudo foram Módulo de Elasticidade (ME), avaliada quantitativamente por método de flexão de 3 pontos (n=10), Variação de Massa (VM) [n=10] e Taxa de Biodegradação (TB) [n=10]. Ademais, espécimes em forma de palitos de resina-dentina com área transversal de 1mm² foram confeccionados para aferir o teste de Resistência de União (RU) por microtração (n=12). Para o teste de ME, utilizou-se ANOVA a dois critérios para medidas repetidas, enquanto para RU utilizou-se ANOVA. Uma análise não paramétrica de Kruskal-Wallis foi adotada para VM e TB (p<0,05). PAC e CARD apresentaram os melhores resultados para ME, seguidos de LIGa e LIGe, respectivamente. O grupo controle negativo demonstrou resultados inferiores aos grupos testes para ME e RU. Não houveram diferenças estatísticas entre os grupos para VM e taxa de biodegradação. LIGa e PAC apresentaram os melhores resultados para RU, porém PAC demonstrou redução significativa após envelhecimento, enquanto LIGa se manteve. LIGe e CARD apresentaram resultados estatisticamente semelhantes para RU e mantiveram-se semelhantes a LIGa após envelhecimento. Conclui-se que as diferentes ligninas representam AB promissores, especialmente LIGa, visto que mantiveram a estabilidade da interface adesiva ao longo do tempo e apresentaram potencial para a formação de ligações altamente estáveis devido a sua capacidade de solubilizar com a água.

Palavras-chave: lignina; reagentes para ligações cruzadas; colagem dentária.

INTRODUÇÃO

A adesão de resinas compostas ao substrato dentário tem sido amplamente estudada durante anos, visando a formação de ligações confiáveis que garantam maior resistência de retenção, menor microinfiltração e maior estabilidade da restauração, principalmente quando se trata de adesão ao substrato dentinário¹. Nesse contexto, as fibras de colágeno atuam diretamente na formação da camada híbrida, visto que servem de ancoragem para a penetração dos monômeros adesivos, porém tal fator por muitas vezes não ocorre de forma efetiva, corroborando no comprometimento da longevidade dos procedimentos restauradores².

A dentina é um tecido acelular, avascular, rico em colágeno tipo I, proteínas não colágenas e apatita carbonata³. Assim, este substrato deve apresentar condições ideais para que ocorra o processo de hibridização, especialmente em sistemas adesivos de condicionamento e lavagem. Desse modo, a melhoria da estabilidade mecânica do colágeno dentinário pode ser evidenciada por meio de Agentes Biomodificadores (AB) atuando como pré-tratamentos a superfície dentinária em relação ao procedimento adesivo, melhorando a rigidez da ligação entre resina e substrato dentário⁴.

Assim sendo, a biomodificação do colágeno dentinário consiste em uma abordagem em odontologia restauradora que visa o aumento da densidade de ligação cruzada do colágeno dentinário, proporcionando melhora nas propriedades biomecânicas da dentina e redução da taxa de biodegradação⁵. Diversos AB são descritos na literatura, porém os de origem natural têm ganhado destaque em pesquisas laboratoriais e clínicas, visto que apresentam características renováveis e de baixo custo. Nesse contexto, as proantocianidinas, oriundas do extrato da semente da uva, são consideradas o padrão ouro dentre os AB naturais, uma vez que possuem seu mecanismo de ação associado a formação de ligações covalentes fortemente estáveis com a estrutura de colágeno⁶. Ademais, fenóis da cadeia de carbono longa obtidos da extração industrial do líquido da castanha do caju, conhecidos como cardol e cardanol, também foram relatados na literatura como ABs naturais promissores⁷.

Por conseguinte, a Lignina (LIG) é um polímero natural de origem vegetal que, pela sua estrutura química, representa um potencial para a formação de ligações cruzadas no colágeno dentinário, assim como já relatado no estudo de De-Paula et al.⁸. A LIG possui a capacidade de fornecer suporte mecânico aos tecidos, devido preencher os poros entre os polissacarídeos nas paredes celulares, levando a um espessamento secundário das paredes e aumento da sua rigidez, sendo um fator primordial para a proteção das plantas,

evidenciando que pode ser um agente eficiente no aumento da resistência do colágeno dentinário⁹.

A LIG é formada pela polimerização de diferentes álcoois, conferindo a ela uma característica de maior solubilidade em etanol¹⁰. Por outro lado, lignossulfonatos são polímeros polieletrólitos poliaromáticos solúveis em água, referindo-se a outras formas de subproduto da LIG, como os derivados do processo Kraft¹¹. A LIG sulfonada é produzida por modificação química de uma lignina separada por um processo diferente da polpação com sulfito. A sua hidrofiliabilidade é conferida pela presença de grupos sulfonatos aniônicos, mas também por grupos hidroxila fenólicos¹². Por possuir essas características, acredita-se que LIG solúvel em água tenha maior afinidade aos tecidos dentinários e confira maior longevidade aos procedimentos restauradores. Assim, o presente estudo objetivou avaliar o efeito de diferentes ligninas (solúvel em água e solúvel em etanol) como agentes biomodificadores do colágeno dentinário e na preservação dessa interface adesiva.

MÉTODOS

Trata-se de um estudo laboratorial do tipo *in vitro*. Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, obtendo parecer de aprovação 2.544.897.

Delineamento experimental

Foram utilizados quarenta terceiros molares humanos hígidos extraídos e doados a partir de um termo de doação de dentes e armazenados em solução de timol a 0,1% a 4°C, por um período de, no máximo, 90 dias. Os fatores de estudo sob investigação foram o uso de diferentes agentes de biomodificação em níveis: (1) Lignina solúvel em água 2 p/p% [LIGa]; (2) Lignina solúvel em etanol 2 p/p% [LIGe]; (3) Proantocianidina, extrato da semente de uva 6,5 p/p% [PAC]; (4) Cardanol 2 p/p% [CARD] e (5) Água Destilada [AD] (controle negativo). As variáveis dependentes do estudo foram módulo de elasticidade e resistência de união por microtração, avaliados de forma quantitativa através de uma máquina de ensaios mecânicos universal, e a variação de massa e taxa de biodegradação, utilizando para isso uma balança analítica de precisão.

Preparo das soluções

O CARD foi obtido do líquido da casca da castanha de caju, doado pela Amêndoas do Brasil LTDA (Fortaleza, Brasil). O CARD, LIGa e LIGe foram separados e purificados pela metodologia descrita no estudo de Lomonaco et al¹⁰. Cardanol foi diluído em água/etanol (1:1) na concentração de 2% em peso. A solução de PAC foi preparada dissolvendo 6,5% em peso de extrato de semente de uva (Meganatural Gold, Madera, EUA) em água/etanol (1:1) com 5 min de agitação a 25°C e dupla filtração. A lignina, por sua vez, foi fornecida pela indústria de papel Suzano SA (Limeira, Brasil). Foi também diluída em água/etanol (1:1) em concentrações de 2% LIGa e LIGe. Todas as soluções foram tamponadas a pH 7,2.

Biomodificação do colágeno dentinário

Preparo dos espécimes

Foram confeccionadas barras de dentina média com 1,7 X 0,5 X 6 mm de dimensão, obtidas por meio de uma cortadeira metalográfica em baixa rotação sob constante refrigeração, sendo geradas, por dente, aproximadamente um total de 3 barras. Em seguida, os espécimes foram desmineralizados completamente em solução de ácido fosfórico a 10% durante o período de 5 horas, em temperatura ambiente e sob agitação. As barras de dentina foram distribuídas aleatoriamente em 5 grupos distintos (n=10) e mantidas em suas respectivas soluções por um período de 1 hora¹³.

Módulo de elasticidade

O Módulo de Elasticidade (ME) das barras de dentina desmineralizadas foi avaliado no início e após uma hora na sua respectiva solução de armazenamento, respectivamente. Esse ME foi determinado em um ensaio de flexão de 3 pontos com uma célula de carga de 5,0 N montada em uma máquina de ensaios mecânicos universal (EMIC DL 2000, São José dos Pinhais, Brasil) com velocidade de 0,5 mm/min. Os dados foram expressos em Megapascal (MPa), onde o aumento do ME foi calculado entre a razão do valor final (após a biomodificação da dentina nos respectivos grupos) e os valores iniciais (“*baseline*”) conforme metodologia adotada por Aguiar et al.¹³.

Varição de massa

As barras de dentina desmineralizadas utilizadas no ensaio de flexão foram aferidas as massas antes (M1) e após (M2) a sua biomodificação com uma balança analítica de precisão de cinco casas decimais (0,00001g). As amostras foram secas em um dessecador à vácuo contendo sulfato de cálcio anidro, durante 24 horas à temperatura ambiente. A avaliação da mudança de massa (MM%) foi determinada como a porcentagem de ganho ou perda de densidade de cada amostra com base na seguinte fórmula: $\text{Variação de massa} = (M2 \times 100 / M1) - 100$; onde M1 é a massa matriz de dentina desmineralizada antes da biomodificação dentinária e M2 é a massa de matriz da dentina biomodificada¹³.

Taxa de biodegradação

As barras de dentina tratadas foram armazenadas individualmente em 1,5mL de água deionizada por 4 semanas para promover a biodegradação após análises de módulo de elasticidade e variação de massa. Após esse período, os espécimes foram desidratados conforme descrito anteriormente e pesados novamente (M3).

A seguinte fórmula foi utilizada para avaliar a porcentagem de taxas de biodegradação (R): $R (\%) = 100 - ((M3 \times 100) / M2)$, sendo M2 a massa da matriz dentinária biomodificada e M3 a massa da dentina após o processo de biodegradação¹³.

Procedimento restaurador

Superfícies de dentina média foram obtidas pelo corte de esmalte oclusal com disco diamantado acoplado a uma cortadeira metalográfica (Cutmaster, Londrina, Brasil). As superfícies de dentina expostas foram lixadas com papéis de carbetto de silício na granulação de 320 e 600 por 30 segundos para padronizar a *smear layer*.

A dentina foi condicionada com gel de ácido fosfórico a 37% (Condac 37, FGM, Joinville, Brasil) por 15 segundos, enxaguada com água destilada por 30 segundos, soluções de biomodificação aplicadas por 60 segundos e enxaguadas em seguida. O adesivo convencional de dois passos Single Bond 2 (3M ESPE) foi aplicado ativamente em duas camadas por 20 segundos, suavemente seco ao ar por 3 segundos e

fotopolimerizado por 20 segundos utilizando fotopolimerizador de LED Valo (1200mW/cm², Ultradent, South Jordan, EUA). Duas camadas de 2 mm de espessura de resina composta Opallis (FGM) foram inseridas e fotopolimerizadas, individualmente, por 40 segundos. Os dentes restaurados foram armazenados em água destilada por 24h a 37°C.

Resistência de união à microtração e padrão de falha

Os dentes restaurados foram seccionados longitudinalmente em palitos de resina-dentina com área transversal de aproximadamente 1mm² (n=12). Metade dos palitos foram testados imediatamente e a outra metade foi testada após 6 meses de envelhecimento em água destilada armazenado em estufa a 37°C. O teste de microtração foi realizado fixando os bastões de resina-dentina em dispositivos de Geraldeli com adesivo de cianoacrilato, adaptados em uma máquina de ensaios mecânicos universal (Instron 3345; Instron Inc., Canton, EUA) e testados até a falha, utilizando uma célula de carga de 50N e velocidade de 0,5mm/min. Antes do teste, cada palito teve sua área transversal medida com auxílio de um paquímetro digital para, assim, possibilitar ser obtido a resistência de união em Megapascais (MPa)¹³.

Todos os palitos fraturados foram examinados por estereomicroscopia com aumento de 60x (Stereozoom S8, Leica, Heidelberg, Alemanha) para identificar os padrões de falha, que foram classificados como adesivos, coesivos em dentina, coesivos em resina ou mistos.

Análise estatística

O programa utilizado para as análises foi o Sigma Plot. Para o teste de módulo de elasticidade, os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e posteriormente submetido à análise de variância ANOVA a dois critérios para medidas repetidas, seguida do pós-teste de Tukey. Já para variação de massa, taxa de biodegradação e padrão de falha, os dados foram submetidos a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis. Para microtração, os dados também foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e posteriormente à análise de variância ANOVA, seguida do pós-teste de Tukey. Todos os testes foram realizados adotando nível de significância de 5%.

RESULTADOS

No que concerne aos resultados referentes ao ME, observou-se que existiram diferenças estatísticas significantes entre o grupo de controle negativo e os grupos testes. As PAC e CARD apresentaram os melhores índices de variação após biomodificação, seguido de LIGa e LIGe que não houveram diferenças estatísticas entre si. Ademais, quando aferido novamente após 30 dias, observou-se que CARD e LIGa apresentaram os melhores resultados para ME, enquanto PAC, LIGe e o grupo de controle negativo foram estatisticamente semelhantes.

Quando avaliados em níveis proporcionais, observou-se que CARD e LIGa apresentaram resultados estatisticamente semelhantes a PAC em “*baseline*” e após biomodificação, porém, nos resultados após 30 dias, observou-se que PAC demonstrou redução significativa, sendo estatisticamente inferior ao CARD e LIGa. Os grupos controle negativo e LIGe foram estatisticamente semelhantes após biomodificação e também após os 30 dias.

Tabela 1 - Média (d.p.) dos diferentes grupos experimentais (n=10)

Grupos	Módulo de Elasticidade									
	Baseline-F1, MPa		Tratamento-F2, MPa		30 dias-F3, MPa		Proporção, F2/F1		Proporção, F3/F1	
CN	1,35 (0,37)	A,a	3,13 (1,22)	C,a	1,50 (0,41)	B,a	2,43 (0,95)	C	1,13 (0,28)	B
PAC	1,35 (0,31)	A,a	9,22 (3,86)	A,b	1,21 (0,45)	B,a	7,25 (4,50)	A	0,95 (0,25)	B
CARD	1,46 (0,35)	A,a	8,64 (3,35)	A,b	5,37 (1,79)	A,c	6,15 (2,40)	AB	3,73 (1,49)	A
LIGa	1,24 (0,27)	A,a	6,41 (2,40)	B,b	4,48 (1,47)	A,c	5,41 (2,65)	AB	3,75 (1,53)	A
LIGe	1,39 (0,45)	A,a	4,81 (1,81)	BC,b	1,63 (0,53)	B,a	3,55 (1,11)	BC	1,36 (0,74)	B

Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significantes na comparação do módulo de elasticidade antes e depois do tratamento ($p < 0,05$).

Entretanto, no que diz respeito aos testes de massa, não houveram diferenças estatísticas entre os grupos, tanto para aferição de massa inicial, após biomodificação e após o período de biodegradação, mas quando avaliados por meio de gráficos de ações, observou-se que CARD apresentou maior grau de variação, conforme demonstra figuras 1 e 2.

Tabela 2 - Média (d.p.) dos diferentes grupos experimentais (n=10)

Grupos	Variação de Massa, %	Taxa de Biodegradação, %
CN	-4,60 (4,15) A	4,45 (8,66) A
PAC	1,56 (2,86) A	1,20 (2,73) A
CARD	1,68 (8,28) A	4,58 (8,65) A
LIGa	0,71 (3,08) A	0,97 (2,49) A
LIGaE	-2,13 (5,02) A	0,80 (3,07) A

Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p < 0,05$).

Utilizando as diferentes soluções como pré-tratamento, protocolos restauradores foram testados por meio de resistência de união por microtração, onde observou-se diferenças estatísticas entre os grupos. PAC e LIGa apresentaram os melhores resultados de forma imediata, seguidos CARD e LIGe. O grupo de controle negativo apresentou resultados estatisticamente inferiores quando avaliado imediatamente. Por outro lado, PAC demonstrou redução significativa de sua resistência de união após envelhecimento, sendo estatisticamente semelhante ao grupo de controle negativo. LIGe teve sua resistência de união aumentada após envelhecimento, enquanto LIGa e CARD foram capazes de manter resultados satisfatórios imediatamente e após envelhecimento, evidenciando que não houveram diferenças estatísticas entre os três grupos.

Tabela 3 - Média (d.p.) dos valores de resistência de união à dentina dos diferentes grupos experimentais (MPa, n=10)

Grupos	Tempo de Armazenamento	
	24 horas	6 meses
CN	21,35 (6,97) C,a	19,98 (7,45) B,a
PAC	44,88 (12,79) AB,a	21,10 (7,33) B,b

CARD	37,11 (9,64)	B,a	34,47 (8,35)	A,a
LIGa	51,30 (13,37)	A,a	40,80 (8,64)	A,b
LIGe	35,44 (8,33)	B,a	41,93 (11,71)	A,a

Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os agentes de tratamento em um mesmo período de avaliação ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas na comparação entre tempos de armazenamento de um mesmo agente de tratamento ($p < 0,05$).

Não obstante, o tipo de fratura também fora analisado, observando que a maioria dos espécimes apresentaram fraturas adesivas, corroborando com os achados que a camada híbrida constitui o elo mais fraco dos procedimentos restauradores, conforme demonstra a Figura 3.

DISCUSSÃO

A utilização de AB como pré-tratamentos ao substrato dentinário em procedimentos restauradores representa uma alternativa promissora e com resultados que levam a fomentar a sua aplicabilidade clínica¹⁴. A biomodificação pode proporcionar estabilidade, resistência à biodegradação e fortalecimento da matriz de colágeno^{15,16}.

Assim, polifenóis têm sido amplamente estudados para aplicação em pesquisas laboratoriais e clínicas, demonstrando um excelente potencial enquanto agentes de biomodificação devido ao seu alto peso molecular e a tendência em formar agregados complexos com proteínas¹⁷. Visando conceitos de sustentabilidade, CARD e LIG representam materiais de descarte pelas indústrias, o que representa um desperdício tendo em vista o seu potencial para utilização. Assim, surge a necessidade de analisar esses agentes e diferenças entre eles, acreditando-se que uma LIG com maior solubilidade em água possa apresentar maior afinidade aos tecidos dentinários e resultados promissores para evidenciar sua aplicabilidade em ambiente odontológico⁹.

Neste estudo foram utilizados diferentes polifenóis, destacando-se os taninos condensados como as PACs, sendo os principais presentes no extrato da semente da uva¹⁸. Utilizando o extrato da semente de uva como pré-tratamento em dentina condicionada com ácido fosfórico, observou-se que o ME aumentou de forma gradativa quando avaliados em diferentes momentos, sendo 1 hora, 3 meses, 6 meses e 12 meses¹⁹. Em consonância com os nossos achados, observou-se o ME também em diferentes momentos,

porém notou-se aumento apenas entre os valores iniciais e após 1 hora, enquanto os resultados após 30 dias demonstraram redução significativa.

Não obstante, no nosso estudo também utilizou-se o CARD como AB, assim como objeto de estudo de Moreira et al.⁷, em que cardol e cardanol apresentaram os melhores resultados quanto ao teste de ME, seguidos da PAC. Já avaliando a massa, elucidou-se que CARD apresentou resultados superiores e uma taxa de biodegradação inferior aos outros grupos testados. Estes resultados estão semelhantes ao nosso estudo, uma vez que CARD demonstrou potencial de biomodificação semelhante às PAC, embora quanto ao teste de massa não houvesse diferenças estatísticas entre todos os grupos testados.

Já avaliando resultados de resistência de união das PAC, uma revisão sistemática com meta-análise²⁰ observou que dentre todos os polifenóis analisados, as PAC apresentaram os melhores resultados em resistência de união imediata. Tais achados estão de acordo com o nosso estudo, uma vez que PAC e LIGa apresentaram resultados estatisticamente semelhantes entre si e superiores ao restante dos grupos.

Assim, a utilização de diferentes ligninas como níveis de comparação, tendo em vista a lignina solúvel em etanol já descrita no estudo de De-Paula et al.⁹ como um AB promissor, surgiu como ponto de partida para novas investigações. No seu estudo observou-se que ao teste de RU por microtração, LIGe e CARD demonstraram resultados superiores ao restante dos grupos e que mantiveram-se após envelhecimento. Por outro lado, PAC apresentou resultados imediatos positivos, corroborando também os achados de Zhao et al.²⁰, porém após envelhecimento estes reduziram de forma significativa. Esses resultados vão em confronto com os nossos achados, visto que CARD e LIGe foram estatisticamente semelhantes, mas apresentaram resultados inferiores a LIGa, que demonstrou melhor desempenho a RU por microtração. Em contrapartida, assim como no estudo de De-Paula et al.⁹, em nosso estudo as PAC também apresentaram redução significativa em sua RU após o período de envelhecimento.

Avaliando agentes semelhantes, De-Paula et al.⁹, também observou o padrão de falha dos espécimes submetidos ao teste de RU por microtração, caracterizando-se como falhas em sua maioria adesiva, seguido de coesivas em resina e mistas, respectivamente, sendo achados que vão de acordo com o nosso estudo.

Ademais, como um resultado secundário em nosso estudo, observou-se que os espécimes tratados com PAC e LIGe apresentaram ligeira modificação de cor, o que não foi observado nos espécimes tratados com LIGa e CARD. Visivelmente as soluções apresentam cores diferentes, onde tons mais fortes podem ser observados nos líquidos

contendo PAC e LIGe. Entretanto, são necessários testes específicos para comprovar tais achados.

Devido à sua natureza hidrofóbica, LIG possui alta resistência a ambientes ácidos por apresentar grande quantidade de anéis aromáticos e moléculas complexas baseadas em hidroxifenil, guaiacil e siringil²¹. Ademais, esta é formada pela polimerização de diferentes álcoois, o que conferem a essa substância uma maior solubilidade em etanol²¹.

Nesse sentido, lignossulfonatos são polímeros polieletrólitos poliaromáticos solúveis em água, referindo-se a outras formas de subproduto da LIG, como os derivados do processo Kraft²¹. A LIG sulfonada é produzida por modificação química de uma lignina separada por um processo diferente da polpação com sulfito. A sua hidrofilicidade é conferida pela presença de grupos sulfonatos aniônicos, mas também por grupos hidroxila fenólicos²². Devido a sua estrutura polidispersa e peso molecular, os lignossulfonatos não devem ser considerados compostos químicos clássicos²².

Neste estudo, LIG sulfonada fora classificada como LIG solúvel em água ou LIGa, representando um potencial para biomodificação do colágeno dentinário devido a sua composição química e hidrofilicidade conferida às suas características. Seu mecanismo de ação enquanto AB ainda não é elucidado na literatura, porém acredita-se que devido ao seu componente e peso molecular, ligações covalentes altamente estáveis são formadas e não sendo degradadas pela presença de água em substrato dentinário (Figura 4 e 5)²³.

Com os resultados obtidos através desse estudo, essa hipótese foi confirmada visto que LIGa apresentou resultados superiores em relação aos outros agentes analisados submetidos aos testes de ME e RU, e que tais achados mantiveram-se após o período de envelhecimento. Entretanto, maiores estudos são necessários para evidenciar possíveis efeitos e resultados secundários.

Com isso, CARD e LIG são produtos descartados pelas indústrias que possuem um alto apelo à sustentabilidade. A produção anual do líquido da casca de castanha do caju, onde tem o CARD como principal componente, é de 1.000 toneladas²⁴. Nesse sentido, a LIG pode representar uma produção muito maior, visto que é obtido a partir da produção industrial de papel e celulose. Assim, outras aplicações são ainda necessárias para esses compostos, demonstrando um maior valor a sua aplicabilidade.

CONCLUSÃO

Conclui-se que LIGe e LIGa representam AB promissores para aplicação em âmbito odontológico, visto que representam materiais de descarte e altamente sustentáveis. Por conferir uma característica de hidrofiliçidade, LIGa pode evidenciar maior afinidade aos tecidos dentinários, inferindo em melhores resultados quando utilizadas com sistemas adesivos de condicionamento e lavagem. Ademais, maiores estudos são necessários para elucidar possíveis mecanismos de ação e efeitos adversos desses agentes.

REFERÊNCIAS

1. Bourgi R, Hardan L, Rivera-Gonzaga A, Cuevas-Suárez CE. Effect of Warm-Air Stream for Solvent Evaporation on Bond Strength of Adhesive Systems: A Systematic Review and Meta-Analysis of in Vitro Studies. *Int. J. Adhes. Adhes.* 2021;105:102794. doi: 10.1016/j.ijadhadh.2020.102794.
2. Frassetto A, Breschi L, Turco G, Marchesi G, Di Lenarda R, Tay FR, Pashley DH, Cadenaro M. Mechanisms of Degradation of the Hybrid Layer in Adhesive Dentistry and Therapeutic Agents to Improve Bond Durability—A Literature Review. *Dent. Mater.* 2016;32:e41–e53. doi: 10.1016/j.dental.2015.11.007.
3. Tjäderhane L, Carrilho MR, Breschi L, Tay FR, Pashley DH. Dentin Basic Structure and Composition—An overview. *Endod. Top.* 2009;20:3–29. doi: 10.1111/j.1601-1546.2012.00269.x.
4. Breschi L, Maravic T, Cunha SR, Comba A, Cadenaro M, Tjäderhane L, Pashley DH, Tay FR., Mazzoni A. Dentin Bonding Systems: From Dentin Collagen Structure to Bond Preservation and Clinical Applications. *Dent. Mater.* 2018;34:78–96. doi: 10.1016/j.dental.2017.11.005.
5. Takamizawa T, Imai A, Hirokane E, Tsujimoto A, Barkmeier WW, Erickson RL, Latta MA, Miyazaki M. SEM Observation of Novel Characteristic of the Dentin Bond Interfaces of Universal Adhesives. *Dent. Mater.* 2019;35:1791–1804. doi: 10.1016/j.dental.2019.10.006.
6. Souza LC, Rodrigues NS, Cunha DA, Feitosa VP, Santiago SL, Reis A, Loguercio AD, Perdigão J, Saboia VPA. Two-Year Clinical Evaluation of a Proanthocyanidins-Based Primer in Non-Carious Cervical Lesions: A Double-Blind Randomized Clinical Trial. *J. Dent.* 2020;96:103325. doi: 10.1016/j.jdent.2020.103325.

7. Moreira M. A. et al. Efficacy of new natural biomodification agents from Anacardiaceae extracts on dentin collagen cross-linking. *Dental Materials*. 2017;33;10:1103-1109.
8. 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. *Dental Materials*. 2020;36;01:e1-e8.
9. Paula D. M. *Aplicação da biomassa residual da indústria do papel na odontologia adesiva*. 2019.
10. Lomonaco, D., Maia, F. J. N., & Mazzetto, S. E. Thermal evaluation of cashew nutshell liquid as new bioadditives for poly (methyl methacrylate). *Journal of thermal analysis and calorimetry*. 2013;111:619-626.
11. Xu, C.; Ferdosian, F. Utilization of Lignosulfonate as Dispersants or Surfactants. In *Conversion of Lignin into Bio-Based Chemicals and Materials*; Xu, C., Ferdosian, F., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin/Heidelberg, Germany, 2017; pp. 81–90.
12. Alazigha, D.P.; Indraratna, B.; Vinod, J.S.; Heitor, A. Mechanisms of stabilization of expansive soil with lignosulfonate admixture. *Transp. Geotech*. 2018;14:81–92.
13. Aguiar T. R. et al. Dentin biomodification potential depends on polyphenol source. *Journal of dental research*. 2014;93;04:417-422.
14. Castellan C. S. et al. Solubility study of phytochemical cross-linking agents on dentin stiffness. *Journal of dentistry*. 2010;38;05:431-436.
15. Gu L, Shan T, Ma YX, Tay FR, Niu L. Novel Biomedical Applications of Crosslinked Collagen. *Trends Biotechnol*. 2018;S0167-7799(18)30303-2.
16. Feitosa VP, Sauro S, Ogliari FA, Ogliari AO, Yoshihara K, Zanchi CH, Correr-Sobrinho L, Sinhorette MA, Correr AB, Watson TF, et al. Impact of hydrophilicity and length of spacer chains on the bonding of functional monomers. *Dent Mater*. 2014;30(12):e317-323.
17. Bedran-Russo AK, Pauli GF, Chen SN, McAlpine J, Castellan CS, Phansalkar RS, Aguiar TR, Vidal CM, Napotilano JG, Nam JW, et al. Dentin biomodification: strategies, renewable resources and clinical applications. *Dent Mater*. 2014;30(1):62-76.
18. Balalaie, A., Rezvani, M. B., & Basir, M. M. Dual function of proanthocyanidins as both MMP inhibitor and crosslinker in dentin biomodification: A literature review. *Dental materials journal*. 2018;37(2), 173-182.

19. Leme-Kraus AA, Aydin B, Vidal CM, Phansalkar RM, Nam JW, McAlpine J, Pauli GF, Chen S, Bedran-Russo AK. Biostability of the proanthocyanidins-dentin complex and adhesion studies. *J Dent Res.* 2017. 96(4):406-412.
20. Zhao, S., Hua, F., Yan, J., Yang, H., & Huang, C. (2022). Effects of plant extracts on dentin bonding strength: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 836042.
21. Yoon J, Choi H, An G. Roles of lignin biosynthesis and regulatory genes in plant development. *J Integr Plant Biol.* 2015;57(11):902-912.
22. Ruwoldt, J.; Planque, J.; Øye, G. Lignosulfonate Salt Tolerance and the Effect on Emulsion Stability. *ACS Omega.* 2020;05:15007–15015.
23. Aro, T.; Fatehi, P. Production and Application of Lignosulfonates and Sulfonated Lignin. *ChemSusChem.* 2017;10:1861–1877.
24. Lomonaco D, Mele G, Mazzetto SE. Cashew Nutshell Liquid (CNSL): From an Agro-industrial Waste to a Sustainable Alternative to Petrochemical Resources. Anilkumar P. (eds) *Cashew Nut Shell Liquid.* Springer, Cham. 2017.

ANEXOS – FIGURAS

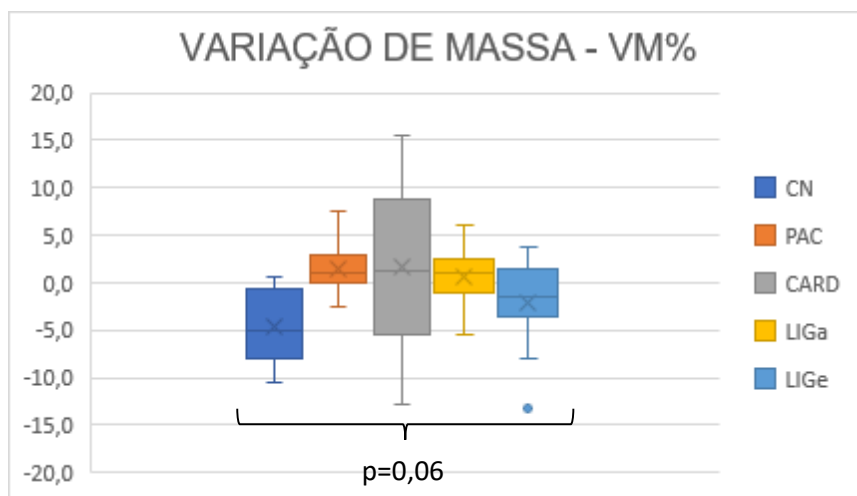


Figura 1 – Variação de massa (%)

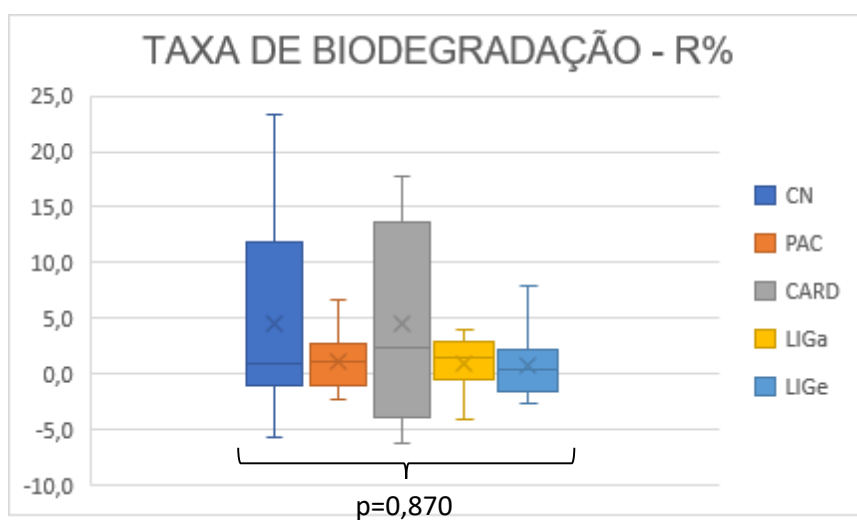
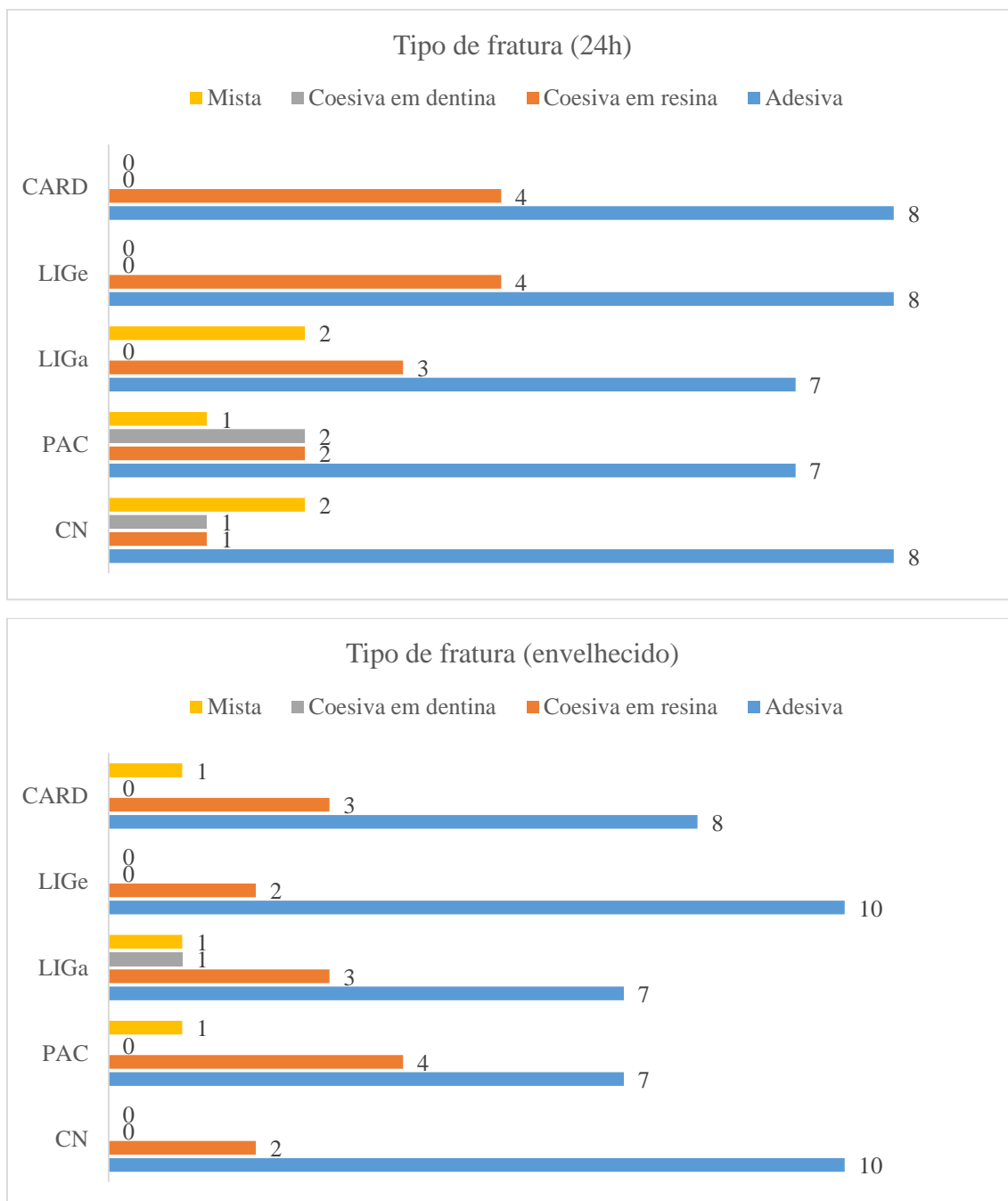


Figura 2 – Taxa de biodegradação (%)

Figura 3. Gráfico representativo dos tipos de fraturas dos espécimes após teste de resistência de união por microtração imediatamente e após envelhecimento.



Legenda: CN: Controle Negativo; PAC: Proantocianidinas; LIGa: Lignina aquosa; LIGe: Lignina etanólica; CARD: Cardanol.

Figura 4. Estrutura molecular da lignina etanólica.

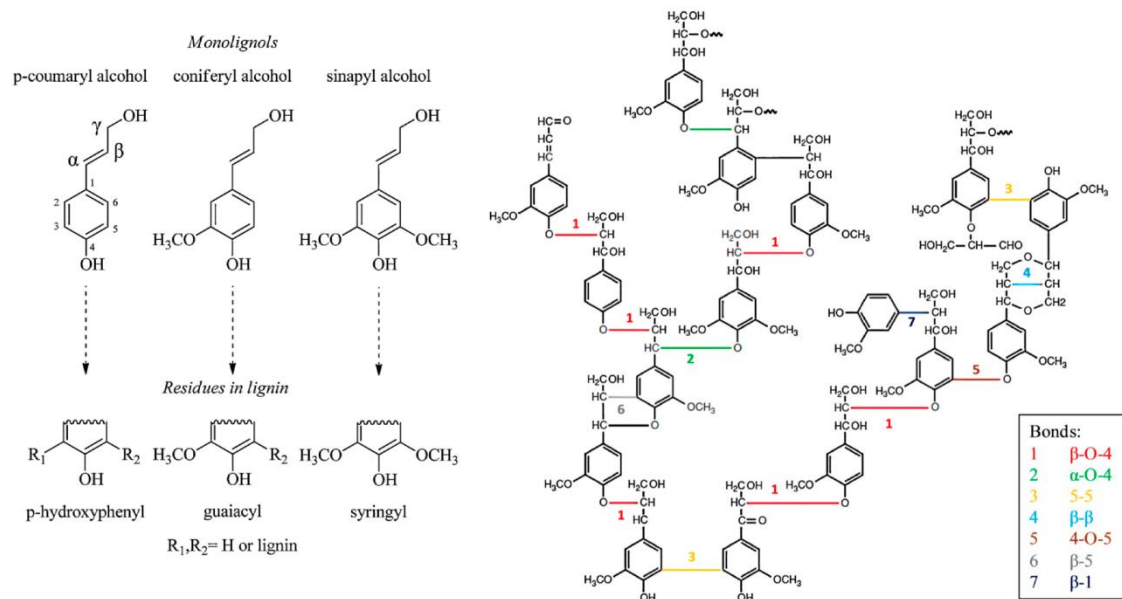
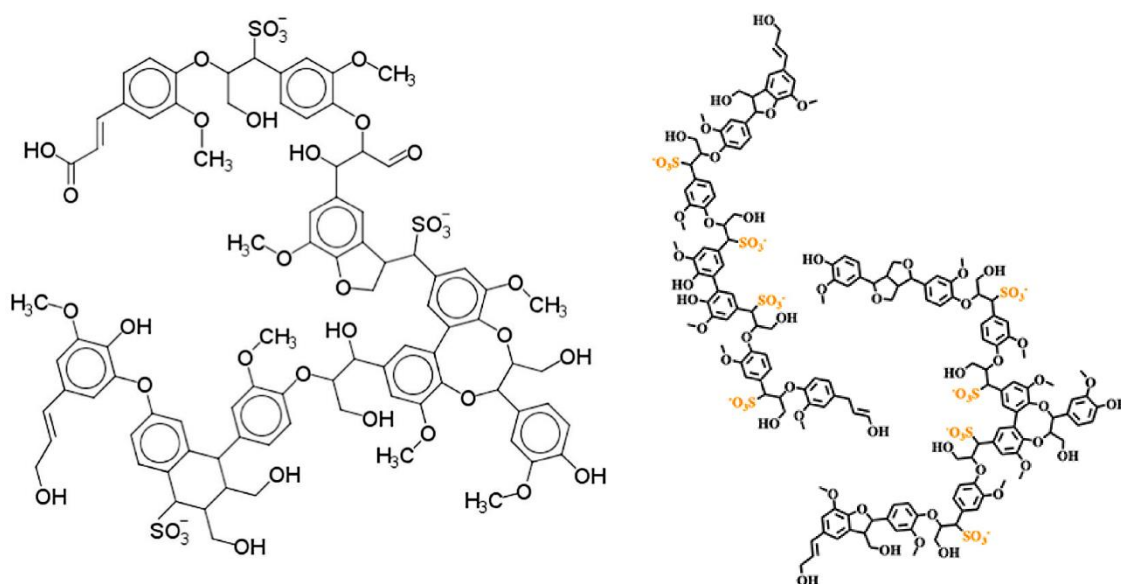


Figura 5. Estrutura molecular da lignina aquosa.



4 CONCLUSÃO GERAL

Conclui-se que as diferentes ligninas apresentam excelentes potencialidades enquanto agentes de biomodificação do colágeno dentinário. Ademais, a lignina solúvel em água por possuir um processo de modificação química por polpação com sulfito, ao seu mecanismo é atribuído uma característica de hidrofiliabilidade, o que sugere uma maior afinidade com os tecidos dentinários, corroborando no fortalecimento do colágeno dentinário e resistência aos mecanismos de degradação da camada híbrida, o que pode ser evidenciado através da manutenção dos seus resultados. Entretanto, maiores estudos são necessários para elucidar a sua utilização em ambiente clínico, além de possíveis efeitos adversos.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, T. R. et al. Dentin biomodification potential depends on polyphenol source. **Journal of dental research**, v. 93, n. 4, p. 417-422, 2014.
- AYDIN, B. et al. Evidence to the role of interflavan linkages and galloylation of proanthocyanidins at sustaining long-term dentin biomodification. **Dental Materials**, v. 35, n. 2, p. 328-334, 2019.
- BEDRAN-RUSSO, A. K. et al. Dentin biomodification: strategies, renewable resources and clinical applications. **Dental materials**, v. 30, n. 1, p. 62-76, 2014.
- BEDRAN-RUSSO, A. et al. An overview of dental adhesive systems and the dynamic tooth–adhesive interface. **Dental Clinics**, v. 61, n. 4, p. 713-731, 2017.
- COMBA, A. et al. Carbodiimide inactivation of matrix metalloproteinases in radicular dentine. **Journal of Dentistry**, v. 82, p. 56-62, 2019.
- 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. **Dental Materials**, v. 36, n. 1, p. e1-e8, 2020.
- FRASSETTO, A. et al. Mechanisms of degradation of the hybrid layer in adhesive dentistry and therapeutic agents to improve bond durability—A literature review. **Dental Materials**, v. 32, n. 2, p. e41-e53, 2016.
- LOPES, T. A. et al. Nanopartículas de lignina e seus efeitos nas propriedades do adesivo ureia-formaldeído para colagem de madeira. **Engenharia Industrial Madeireira: Tecnologia, Pesquisa e Tendências, Brasil**, p. 218-242, 2020.
- MAZZONI, A. et al. Carbodiimide inactivation of MMPs and effect on dentin bonding. **Journal of dental research**, v. 93, n. 3, p. 263-268, 2014.
- MAZZONI, A. et al. Cross-linking effect on dentin bond strength and MMPs activity. **Dental Materials**, v. 34, n. 2, p. 288-295, 2018.
- MOREIRA, M. A. et al. Efficacy of new natural biomodification agents from Anacardiaceae extracts on dentin collagen cross-linking. **Dental Materials**, v. 33, n. 10, p. 1103-1109, 2017.
- MOREIRA, M. M. et al. Synthesis and characterization of a new methacrylate monomer derived from the cashew nut shell liquid (CNSL) and its effect on dentinal tubular occlusion. **Dental Materials**, v. 34, n. 8, p. 1144-1153, 2018.
- PAULA, D. M. Aplicação da biomassa residual da indústria do papel na odontologia adesiva. 2019.

PERSICI, J. S.; RIBEIRO, M. D. F.; PAZINATTO, F. B. Prevalência de retratamentos em restaurações de resina composta e amálgama de prata. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 75, p. 1-9, 2018.

RUWOLDT, J. A critical review of the physicochemical properties of liginosulfonates: Chemical structure and behavior in aqueous solution, at surfaces and interfaces. **Surfaces**, v. 3, n. 4, p. 622-648, 2020.

SAKAGAMI, H. Biological activities and possible dental application of three major groups of polyphenols. **Journal of pharmacological sciences**, p. 14R04CR, 2014.

VEIGA, A. M. A. et al. Longevity of direct and indirect resin composite restorations in permanent posterior teeth: A systematic review and meta-analysis. **Journal of dentistry**, v. 54, p. 1-12, 2016.

VENIGALLA, B. S. et al. Resin bond strength to water versus ethanol-saturated human dentin pretreated with three different cross-linking agents. **Journal of conservative dentistry: JCD**, v. 19, n. 6, p. 555, 2016.

YOON, J.; CHOI, H.; AN, G. Roles of lignin biosynthesis and regulatory genes in plant development. **J Integr Plant Biol.**, Carlton South, vol. 57, n. 11, p. 902-912, nov. 2015.

ANEXO A – COMITÊ DE ÉTICA

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: UMA NOVA TECNOLOGIA PARA O REAPROVEITAMENTO DA BIOMASSA RESIDUAL DA INDÚSTRIA DO PAPEL

Pesquisador: LUCAS LINO DE OLIVEIRA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 83249618.0.0000.50

Instituição Proponente: Departamento de Odontologia Restauradora

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.544.891

Apresentação do Projeto:

Estratégias de biomodificação da dentina com o intuito de melhorar as propriedades mecânicas da camada híbrida e de proteger as fibras colágenas da degradação tem ganhado cada vez mais destaque. O presente trabalho tem como objetivo avaliar a capacidade da lignina agir como biomodificador crosslinking na dentina humana sadia. Para isso, serão fabricados primers contendo lignina (1, 2 e 4%), cardanol 2% e proantocianidina 6,5% aplicados por 1 minuto. A água destilada será utilizada como grupo controle negativo. Serão realizados os testes quantitativos de resistência de união à microtração (n=5) imediato e envelhecido por 6 meses, módulo de elasticidade (n=3)

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a capacidade da lignina agir como biomodificador crosslinking na dentina humana sadia.

Objetivo Secundário:

Avaliar capacidade da lignina realizar crosslinking na dentina sadia aplicada como pré-tratamento das restaurações de resina composta; Comparar a lignina com outros agentes naturais já

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

UF: CE

Município: FORTALEZA

CEP: 60.430-275

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

Continuação do Parecer: 2.544.89

comprovados na literatura.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos estão inerentes à cirurgia de para remoção dos dentes que serão doados por motivos outros à pesquisa. No entanto, a pesquisa possui riscos mínimos por se tratar de pesquisa laboratorial.

Benefícios:

Os benefícios serão a possibilidade de melhorar a longevidade das restaurações de resina composta, bem como fornecer uma uma finalidade para o subproduto da queima do papel.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de uma pesquisa laboratorial de utilização de um subproduto da fabricação do papel para melhoras a resistência de restaurações de resina composta.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de apresentação obrigatória foram devidamente apresentados. O pesquisador refez o que foi solicitado.

Recomendações:

Não se aplica.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não se aplica.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1060152.pdf			Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	14/07/2022 15:06:35	LUCAS LINO DE OLIVEIRA	Aceito
Brochura Pesquisa	Brochura.docx	14/07/2022 15:07:42	LUCAS LINO DE OLIVEIRA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AutorizacaoInstitucionalInfraestrutura.jpg	14/07/2022 15:09:14	LUCAS LINO DE OLIVEIRA	Aceito
Outros	CartaDeApreciacao.pdf	14/07/2022	LUCAS LINO DE	Aceito

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3368-8344

E-mail: comepe@ufc.br

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



Continuação do Parecer: 2.544.89

Outros	CartaDeApreciacao.pdf	16:22:33	OLIVEIRA	Aceito
Outros	CurriculoLattes.pdf	02/08/2022 15:42:21	LUCAS LINO DE OLIVEIRA	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	14/07/2022 16:24:31	LUCAS LINO DE OLIVEIRA	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.docx	14/07/2022 16:26:29	LUCAS LINO DE OLIVEIRA	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto.pdf	14/07/2022 16:28:12	LUCAS LINO DE OLIVEIRA	Aceito
Outros	TermoDoacaoDentes.docx	14/07/2022 16:29:47	LUCAS LINO DE OLIVEIRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	IsencaoDoTCLE.pdf	14/07/2022 16:31:24	LUCAS LINO DE OLIVEIRA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DeclaracaoDeConcordancia.pdf	14/07/2022 16:35:42	LUCAS LINO DE OLIVEIRA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FORTALEZA, 15 de Setembro de 2022

Assinado por:
FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA
(Coordenador)

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000
Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-275
UF: CE Município: FORTALEZA
Telefone: (85)3386-8344 E-mail: comepe@ufc.br