



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

LETÍCIA CARVALHO COUTINHO COSTA PEROTE

**INFLUÊNCIA DE SOLUÇÕES DE CLOREXIDINA E DE PRÓPOLIS E
DA SIMULAÇÃO DE PRESSÃO PULPAR NA RESISTÊNCIA DE
UNIÃO DENTINÁRIA**

2016

LETÍCIA CARVALHO COUTINHO COSTA PEROTE

**INFLUÊNCIA DE SOLUÇÕES DE CLOREXIDINA E DE PRÓPOLIS E DA
SIMULAÇÃO DE PRESSÃO PULPAR NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO DENTINÁRIA**

Tese apresentado ao curso de Odontologia do Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP - Univ Estadual Paulista, Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA RESTAURADORA, Especialidade Dentística.

Orientador: Prof. Adj. César Rogério Pucci

São José dos Campos

2016

Apresentação gráfica e normatização de acordo com:
Alvarez S, Coelho DCAG, Couto RAO, Durante APM. Guia prático para
Normalização de Trabalhos Acadêmicos do ICT. Rev. São José dos
Campos: ICT/UNESP; 2016.

Perote, Letícia Carvalho Coutinho Costa

Influência de soluções de clorexidina e de própolis e da simulação
de pressão pulpar na resistência de união dentinária / Letícia
Carvalho Coutinho Costa Perote. - São José dos Campos : [s.n.],
2016.

89 f. : il.

Tese (Doutorado em Odontologia Restauradora) - Pós-Graduação em
Odontologia Restauradora - Instituto de Ciência e Tecnologia de São
José dos Campos, UNESP - Univ Estadual Paulista, 2016.

Orientador: César Rogério Pucci.

1. Resina composta . 2. Metaloproteinases da matriz. 3.
Pressão pulpar. 4. Resistência à tração. I. Pucci, César Rogério ,
orient. II. Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos
Campos, UNESP - Univ Estadual Paulista. III. Universidade Estadual
Paulista 'Júlio de Mesquita Filho'. IV. UNESP - Univ Estadual
Paulista. V. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Achille Bassi e Seção Técnica de Informática,
ICMC/USP com adaptações - STATi e STI do ICT/UNESP. Dados fornecidos pelo autor.

AUTORIZAÇÃO

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer
meio convencional ou eletrônico, desde que citada a fonte.

São José dos Campos, 17 de fevereiro de 2016
E-mail: leticiacc@gmail.com

Assinatura: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Adj. César Rogério Pucci (Orientador)

Instituto de Ciência e Tecnologia
UNESP – Univ Estadual Paulista
Campus de São José dos Campos

Profa. Tit. Adriana Bona Matos

Faculdade de Odontologia
Universidade de São Paulo

Prof. Assoc. Paulo Francisco César

Faculdade de Odontologia
Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Eduardo Bresciani

Instituto de Ciência e Tecnologia
UNESP – Univ Estadual Paulista
Campus de São José dos Campos

Prof. Adj. Sérgio Eduardo de Paiva Gonçalves

Instituto de Ciência e Tecnologia
UNESP – Univ Estadual Paulista
Campus de São José dos Campos

São José dos Campos, 17 de fevereiro de 2016.

DEDICATÓRIA

A Deus, único que é digno de receber toda glória. Se sou ou fiz alguma coisa, foi por Sua graça e misericórdia. “As vozes de milhões de anjos não poderiam expressar a gratidão do meu pequeno ser, que só pertence a Ti.” *

Ao meu melhor amigo, meu grande amor e meu marido, José A. Perote Filho. Sua companhia faz cada dia valer a pena. Mais uma aventura que concluímos juntos.

À minha filha Isabel, por ter virado o mundo que eu conhecia e ter me feito conhecer uma nova forma de amor. É verdade, a gente descobre tudo de novo.

A memória do meu pai, Linoel Coutinho Costa. Entre tantas outras coisas, me ensinou que as mais duras batalhas podem ser enfrentadas com um sorriso no rosto. O tempo não diminui a saudade, mas a torna menos dolorida.

À minha mãe, Vania B. C. C. Costa. Ninguém tem um sorriso maior pelas minhas conquistas. Agora eu entendo. Teria sido impossível sem sua ajuda.

À minha vó, Maria D’Ajuda, pelo amor e torcida diários. Mais uma dose extra de ajuda, como sempre.

Aos meus irmãos André Luiz, Larissa e Camila C. C. Costa, por existirem. Isso muda tudo. Aos meus irmãos por tabela, Ana Luiza, Lícia, Guilherme e Giovanni, pela amizade e por também serem família.

Aos pequenos Rafael, Miguel e Daniel, queridos sobrinhos. Por toda alegria que trazem.

Aos meus sogros Linda e Perote, por todo o apoio e por apostarem no meu sucesso.

Aos meus queridos tios, por me ajudarem a entender o sentido de ser família.

Aos queridos amigos, por ora denominados “Masters”. Por me ajudarem a carregar meu fardo.

Às amigas Érica, Isabela e Paulina, pela amizade de todas as h e pelas orações.

Às queridas amigas Adele, Alline, Érika, Katy, Paula e Vivian, pela amizade fiel e resistente aos dias difíceis. O que sou como profissional tem um tanto de vocês.

Amo-os demais! Já dizia Tom Jobim, “É impossível ser feliz sozinho”.

*Trecho da música Meu Tributo, de Vitorino Silva.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Cesar Rogério Pucci, por toda a ajuda, orientação, paciência, convivência amigável e dose extra de incentivo.

A todos os colegas e amigos do curso de pós-graduação, especialmente Daphne, Heleine, Luciana, Beatriz, Tânia, Stella, Fernanda e Lucélia. Por toda a ajuda, amizade e momentos que dividimos. A Maria Beatriz, Natália e Graziela, porque encontrar vocês foi um grande presente de Deus.

À UNESP e a todos os funcionários deste Instituto, na pessoa do diretor do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, diretor Prof. Estevao Tomomitsu Kimpara e da vice-diretora Rebeca Di Nicoló.

Ao Programa de Pós-graduação em Odontologia Restauradora, na pessoa do coordenador Prof. Alexandre Luiz Souto Borges e também do coordenador da especialidade de Dentística, Prof. Sérgio Eduardo de Paiva Gonçalves

Aos docentes do programa de Pós-graduação em Odontologia Restauradora, pela disposição em ensinar, colaborar e orientar.

Às técnicas do departamento de Odontologia Restauradora, Fernanda e Josiana, por tanta ajuda e muito mais pela amizade.

À secretária do departamento de Odontologia Restauradora Rosângela, pela solicitude e auxílio.

À equipe da seção técnica de Pós-Graduação Rosemary, Bruno, Rosemary, Sandra e Ivan, por todas as informações e ajuda neste período.

A CAPES pela concessão de bolsa.

*“Bendize, ó minha alma, ao Senhor, e tudo o que há em
mim bendiga o seu santo nome. Bendize, ó minha alma,
ao Senhor, e não te esqueças de nenhum dos seus
benefícios.”*

Salmo 103: 1 - 2

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	08
LISTA DE QUADROS E TABELAS.....	13
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	14
RESUMO.....	15
ABSTRACT	16
1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1 Degradação da interface adesiva.....	21
2.2 Simulação de pressão pulpar.....	25
2.3 Metaloproteinases.....	27
2.4 Clorexidina.....	29
2.5 Própolis.....	33
2.6 Envelhecimento artificial.....	36
3 PROPOSIÇÃO	39
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	40
4.1 Delineamento experimental.....	40
4.1.1 Unidades experimentais.....	40
4.1.2 Fatores em estudo.....	40
4.1.3 Variável de resposta.....	40
4.2 Preparo dos espécimes.....	40
4.3 Divisão dos grupos experimentais.....	42
4.4 Simulação de pressão pulpar.....	44
4.5 Técnica restauradora.....	46
4.6 Envelhecimento.....	47
4.7 Teste de microtração.....	48
4.8 Análise ilustrativa por MEV.....	50
4.9 Planejamento estatístico.....	51
5 RESULTADOS.....	52
6 DISCUSSÃO.....	74
7 CONCLUSÃO.....	80

8 REFERÊNCIAS.....	81
ANEXO.....	89

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Preparo do espécime. A) Molar humano; B) Corte do dente em cortadeira de precisão; C) Segmento obtido após corte; D) Vista inferior do molar após remoção da polpa; E) Criação substrato padrão; F) Aferição da espessura de dentina com espessímetro.....	41
Figura 2 – Divisão dos grupos experimentais.....	43
Figura 3 – A) Dispositivo para simulação de pressão pulpar; B) Vista lateral da base de resina com tubos de metal anexado; C) Vista frontal da base de resina.....	45
Figura 4 – Técnica restauradora. A) Condicionamento ácido; B) Secagem com papel absorvente; C) Aplicação da solução correspondente; D) Aplicação do adesivo; E) Fotopolimerização; F) Restauração finalizada.....	47
Figura 5 – Cicladora Térmica.....	48
Figura 6 – A) Amostra fixada sobre resina acrílica; B) Corte longitudinal da amostra; C) Corte transversal da amostra; D) Paquímetro medindo palito; E) Palito colado no dispositivo de metal na máquina de testes universais; F) Palito fraturado.....	49
Figura 7 – A) Máquina de ensaios universais; B) Estereomicroscópio óptico.....	49
Figura 8 – A) SC 7620; B) Inspect S50.....	51
Figura 9 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o GC.SPP.I. A) Aumento de 2000X; B) Aumento de 5000X.....	57

Figura 10 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o CLX.SPP.I. A) Aumento de 2000X; B)Aumento de 5000X.....	57
Figura 11 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o CLX.SPP.I. Aumento de 10000X.....	58
Figura 12 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o CLX.SPP.I. A) Aumento de 2000X; B)Aumento de 5000X.....	58
Figura 13- Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o PA.SPP.I. Aumento de 10000X.....	59
Figura 14- Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o GC.SPP.I. A) Aumento de 2000X; B) Aumento de 5000X.....	59
Figura 15- Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o PA.SPP.I. Aumento de 10000X.....	60
Figura 16 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o CLX.CPP.I. A) Aumento de 2000X; B) Aumento de 5000X.....	60
Figura 17 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o CLX.CPP.I. Aumento de 10000X.....	61
Figura 18- Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o PA.CPP.I. A) Aumento de 2000X; B) Aumento de 5000X.....	61

Figura 19 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o PA.CPP.I. Aumento de 10000X.....	62
Figura 20 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o GC.SPP.C. Aumento de 2000X.....	62
Figura 21 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o GC.SPP.C. A) e B), Aumento de 5000X. C) e D), aumento de 10000X.....	63
Figura 22 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o subgrupo CLX.SPP.C. A) Aumento de 2000X ; B) Aumento de 5000X.....	64
Figura 23 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o CLX.SPP.C. Aumento de 10000X.....	64
Figura 24 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o subgrupo PA.SPP.C. A) Aumento de 2000X; B) Aumento de 5000X.....	65
Figura 25 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o subgrupo PA.SPP.C., aumento de 10000X	65
Figura 26 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o subgrupo GC.CPP.C. A) Aumento de 5000X; B) Aumento de 10000X.....	66
Figura 27 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o subgrupo GC.CPP.C., aumento de 10000X.....	66

Figura 28- Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o subgrupo CLX.CPP.C. A) Aumento de 2000X; B) Aumento de 5000X.....	67
Figura 29- Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o subgrupo CLX.CPP.C, aumento de 10000X.....	67
Figura 30 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o subgrupo PA.CPP.C. A) Aumento de 2000X; B) Aumento de 5000X.....	68
Figura 31 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o subgrupo PA.CPP.C, aumento de 10000X.....	68
Figura 32 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo GC.SPP.I. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X.....	69
Figura 33 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo CLX.SPP.I. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X.....	69
Figura 34 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo PA.SPP.I. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X.....	70
Figura 35 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo GC.CPP.I. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X.....	70
Figura 36 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo CLX.CPP.I. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X.....	70
Figura 37 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo PA.CPP.I. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X.....	71

Figura 38 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo GC.SPP.C. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X.....	71
Figura 39 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo CLX.SPP.C. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X.....	71
Figura 40 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo PA.SPP.C. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X.....	72
Figura 41 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo GC.CPP.C. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X.....	72
Figura 42 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo CLX.CPP.C. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X.....	72
Figura 43 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo PA.CPP.C. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X.....	73

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 - Materiais utilizados, fabricantes e suas composições.....	44
Tabela 1 – Média e desvio-padrão para cada subgrupo.....	52
Tabela 2 – Resultado da ANOVA 3 Fatores.....	53
Tabela 3 – Resultado do Teste de Tukey para o fator Pressão Pulpar.....	53
Tabela 4 – Resultado do Teste de Tukey para o fator Envelhecimento.....	54
Tabela 5- Resultado do Teste de Tukey para a interação entre os fatores Solução e Pressão Pulpar.....	54
Tabela 6. – Resultado do teste de Tukey para a interação entre os fatores pressão Pulpar e Envelhecimento.....	55
Tabela 7 – Resultado do Teste de Tukey para a interação entre os fatores Solução, Pressão Pulpar e Envelhecimento.....	55
Tabela 8- Porcentagem de tipos de fratura após teste de microtração para cada subgrupo.....	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	= Análise de variância
Bis - GMA	= Bisfenol A diglicidil éter dimetacrilato
Bis - HEMA	= Bisfenol A dimetacrilato
Bis-EMA	= Bisfenol A polietileno glicol diéter
C	= Ciclado
CLX	= Digluconato de clorexidina 0,2%
cm	= Centímetros
CPP	= Com pressão pulpar
GC	= Grupo controle
FTIR	= Fourier transform infrared spectroscopy
H ₂ O	= Água
HEMA	= 2-hidroxietil metacrilato
I	= Corte imediato
ISO	= International Organization for Standardization
µm	= Micrômetros
MEV	= Microscopia eletrônica de varredura
mm	= Milímetros
MPa	= Mega Pascal
MMP	= Metaloproteinase
NaOCl	= Hipoclorito de sódio
NF-κB	= Fator nuclear kappa B
PA	= Extrato de própolis aquoso
SPP	= Sem pressão pulpar
TEGDMA	= Dimetacrilato trietileno glicol
UDMA	= Uretano dimetacrilato
USPHS	= United States Public Health Service

Perote LCCC. Influência de soluções de clorexidina e de própolis e da simulação de pressão pulpar na resistência de união dentinária [tese]. São José dos Campos (SP): Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP - Univ Estadual Paulista; 2016.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de soluções de clorexidina e de própolis e da simulação de pressão pulpar na resistência de união entre resina e dentina. Para isto, foram obtidos segmentos coronários de 120 dentes humanos. Metade das amostras foram conectadas a um dispositivo de simulação de pressão pulpar, cuja altura foi ajustada para 15 cm de água. Foi realizado condicionamento com ácido fosfórico 37% por 15 s, lavagem e secagem com papel absorvente. Em seguida, foram divididas em 3 grupos, de acordo com a solução aplicada por 30 s: **GC** (Grupo Controle – nenhuma solução), **CLX** (Digluconato de Clorexidina 0,2%), **PA** (Extrato de própolis aquoso). Aplicou-se o adesivo (Single Bond Universal) e resina composta (Filtek Z250) em todas as amostras. Os grupos foram subdivididos de acordo com o tipo de envelhecimento: **I** (Corte Imediato), **C** (15000 ciclos térmicos). As amostras foram cortadas em palitos e submetidas ao teste de microtração. Os dados obtidos de resistência de união (MPa) foram submetidos ao teste de ANOVA 3 fatores. Para o fator Solução, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0,46$), mas sim para os fatores Pressão Pulpar ($p=0,00$) e Envelhecimento ($p=0,00$), além das interações entre os fatores Solução e Pressão Pulpar ($p=0,00$), Pressão Pulpar e Envelhecimento ($p=0,00$) e entre os três fatores ($p=0,03$). Os resultados do teste de Tukey para o fator Pressão Pulpar foram: **CPP** (com pressão pulpar): 29,19a, **SPP** (sem pressão pulpar): 32,98b; e para o fator Envelhecimento foram: **C** (ciclados): 28,12a, **I** (imediato): 34,05b. Concluiu-se que as soluções de clorexidina e de própolis não interferiram na resistência de união; e que a simulação de pressão pulpar e a termociclagem diminuíram os valores de resistência de união da resina à dentina.

Palavras-Chave: Resina composta. Metaloproteinases da matriz. Pressão pulpar. Resistência à tração.

Perote LCCC. Influence of chlorhexidine and propolis solutions and simulated pulpal pressure in dentin bond strength [doctorate thesis]. São José dos Campos (SP): Institute of Science and Technology, UNESP - Univ Estadual Paulista; 2016.

ABSTRACT

*This study aimed to assess the influence of chlorhexidine and propolis solutions and simulated pulpal pressure on the bond strength between resin and dentin. To do so, crown segments of 120 human teeth were obtained. Half of the samples were connected to a pulp pressure simulation device, adjusted to 15 cm H₂O. Conditioning was accomplished with 37% phosphoric acid for 15 seconds, washing and drying with absorbing paper. Then, samples were split into 3 groups, according to the solution applied for 30 s: **GC** (Control group – no solution), **CLX** (Chlorhexidine digluconate 0.2%), **PA** (Aqueous propolis extract). Single Bond Universal adhesive and composite resin (Filtek Z250) were applied in all samples. Groups were subdivided according to the aging process: **I** (Immediate cut) and **T** (15000 thermal cycles). Samples were cut into beams and went through microtensile bonding tests. Bond strength data (MPa) were analyzed by three-way ANOVA. For the factor Solution, there was no statistically significant difference among the groups ($p = 0.46$), but was found difference for the factors Pulpal Pressure ($p=0.00$), Aging ($p=0.00$), and interaction between Solution and Pulpal Pressure ($p=0.00$), Pulpal Pressure and Aging ($p=0.00$) and between the 3 factors ($p=0.03$). The results from Tukey's test for Pulpal Pressure factor were: **SPP** (simulated pulpal pressure): 29,19a, **NPP** (no pulpal pressure): 32,98b; and for the factor Aging were: **T** (thermal cycling): 28,12a, **I** (immediate): 34,05b. It was concluded that chlorhexidine and propolis solutions have not interfered in the bond strength; but simulated pulpal pressure and thermal cycling reduced the dentin bond strength.*

Keywords: Composite resin. Matrix metalloproteinase. Pulpal pressure. Tensile strength.

1 INTRODUÇÃO

O objetivo principal da Odontologia Restauradora é reparar a estrutura dental danificada através da aplicação de materiais sintéticos, visando o reestabelecimento da função e da estética (Bertassoni et al., 2012). A maior parte das técnicas utilizadas baseiam-se nas propriedades adesivas dos materiais resinosos (Breschi et al., 2008), pois as restaurações de resina composta são mais estéticas, tem menor toxicidade e manipulação mais fácil do que as restaurações de amálgama (Li et al., 2014).

A união entre resina e dentina é uma forma peculiar de engenharia tecidual, na qual a matriz de colágeno da dentina desmineralizada é usada como esqueleto para a infiltração de resina para produzir a camada híbrida que une adesivo e resina composta à dentina mineralizada subjacente (Liu et al., 2011). Essa interface adesiva permanece como a área mais frágil das restaurações de resina (Breschi et al., 2008). Portanto, o problema da durabilidade da adesão tem dominado a maior parte da pesquisa atual (Carvalho et al., 2012).

Os processos fundamentais envolvidos na adesão dos sistemas adesivos de condicionamento total à dentina incluem a remoção da fase mineral do substrato dentinário sem alterar a matriz colágena e preenchimento dos espaços deixados pelo mineral por adesivo que é submetido a polimerização no local, formando a camada híbrida. Nos sistemas adesivos auto-condicionantes, o condicionamento ácido, a aplicação do primer e do adesivo estão combinadas em um ou dois passos (Spencer et al., 2014). A recente introdução no mercado dos adesivos universais deu-se pela demanda dos clínicos por sistemas adesivos cada vez mais rápidos e menos sensíveis à técnica. Estes adesivos universais foram projetados para aderirem às estruturas dentais por meio da técnica de condicionamento total ou auto-condicionante usando a mesma solução de adesivo, sem alterar a eficácia da adesão. Chen et al. (2015) concluíram que os adesivos universais não agem diferente das gerações anteriores de adesivos de condicionamento total ou auto-condicionantes.

Durante as duas últimas décadas, avanços técnicos e químicos têm contribuído para o aumento da qualidade dos sistemas adesivos, e assim da resistência de união da resina à dentina, embora esta não seja tão eficaz quanto a união entre resina e esmalte (Murchison et al., 2006; Carrilho et al., 2007a).

Insuficiente impregnação de resina na dentina, alta permeabilidade da interface adesiva, polimerização insuficiente, separação de fase e ativação de enzimas endógenas colagenolíticas são alguns dos fatores que ocorrem na interface adesiva dentinária que reduzem sua longevidade (Breschi et al., 2008).

A dentina, em seu estado vital, é hidratada via fluxo de fluído dentinário através dos túbulos dentinários devido à pressão pulpar positiva, que é de aproximadamente 15 cm de H₂O (Ciucchi et al., 1995). A umidade da dentina diminui a resistência de união e a habilidade da resina de selar a dentina (Tao, Pashley, 1989). A sorção de água pode afetar significativamente a durabilidade da interface resina-dentina. A água residual na camada de adesivo polimerizada e a absorção de água do meio podem deteriorar a união adesiva (Abdalla, Feilzer, 2008).

A umidade da superfície dentinária, a presença da pressão pulpar e a espessura da dentina são variáveis extremamente importantes durante os procedimentos adesivos, especialmente quando se testa a resistência de união de materiais adesivos *in vitro* com a intenção de simular as condições *in vivo* (Perdigão, 2010).

Algumas estratégias experimentais têm sido desenvolvidas na tentativa de aumentar a longevidade da interface resina-dentina. Entre elas, estão incluídas: o aumento do grau de conversão e resistência à esterase de adesivos hidrofílicos; o uso de inibidores de largo espectro de enzimas colagenolíticas; o uso de agentes de ligação para silenciar as atividades das metaloproteinases e catepsinas; adesão úmida com etanol com resina hidrofóbica; remineralização biomimética da matriz colágena (Liu et al., 2011).

Dentre estas, o uso de inibidores exógenos de metaloproteinases pode ser uma estratégia efetiva para aumentar a longevidade das restaurações adesivas (Perdigão et al., 2013). As metaloproteinases são uma família de enzimas dependentes de zinco e cálcio, que são importantes em muitos processos biológicos e patológicos porque coletivamente são capazes de degradar praticamente todos os componentes da matriz extra-celular. As metaloproteinases são sintetizadas e em sua maioria secretadas como pró-enzimas inativas, nas quais o pró-domínio previne a atividade funcional do domínio catalítico. A ativação ocorre quando a ponte pré-domínio com o zinco catalítico é interrompida pela quebra do pró-domínio por outras

metaloproteinases, cisteínas, catepsinas ou outras proteinases, ou quimicamente, por exemplo, por alterações de pH (Tjaderhane et al., 2015).

Na dentina mineralizada, as metaloproteinases estão imóveis e não funcionais. O condicionamento ácido necessário para a realização dos procedimentos adesivos desmineraliza a porção superficial da dentina, deixando fibras colágenas expostas e ativando as metaloproteinases (Tezvergil-Mutluay et al., 2011). Porém, se os monômeros resinosos não conseguem penetrar completamente a camada desmineralizada, esta região fica sujeita à degradação hidrolítica, o que tem um efeito adverso na resistência de união (Armstrong et al., 2001; Frankemberger et al., 2005; Wang, Spencer, 2003; Hashimoto et al., 2003).

O inibidor de metaloproteinase que mais tem sido utilizado nos estudos é a clorexidina (Montagner et al., 2014). Gendron et al. (1999) observaram que 0,002% é a concentração mínima de clorexidina que inibe completamente a atividade da MMP-9 e 0,0001% é a concentração mínima que inibe completamente a atividade da MMP-9; essa inibição dá-se pela ação de quelação do cátion. A clorexidina é um antimicrobiano muito utilizado que possui um amplo espectro de atividade contra bactérias orais. Esta bisbiguanida catiônica tem um efeito único na inibição da placa dental, principalmente devido à sua substantividade e sua propriedade antimicrobiana. Mesmo antes de ser testada como potencial inibidor de metaloproteinase, a clorexidina foi primeiro utilizada em adesão dental como desinfetante dentário previamente à aplicação dos adesivos dentais (Perdigão et al., 2013).

Nos últimos anos, as propriedades biológicas e farmacológicas da própolis têm recebido grande atenção na comunidade científica. Este interesse é devido ao amplo espectro de atividades biológicas, como antibacteriana, antifúngica, antiinflamatória, antiviral, entre outras (Jin et al., 2005). Os mesmos autores observaram que o extrato etílico de própolis possui um forte efeito inibitório da atividade da MMP-9, devido à presença do ácido caféico fenil éster.

Os testes *in vitro* continuam a ser um método indispensável para o teste dos materiais odontológicos. A ciclagem térmica é um dos procedimentos mais utilizados para simular o envelhecimento fisiológico que os biomateriais sofrem na prática clínica (Morresi et al., 2014).

Apesar da própolis apresentar efeito inibidor de metaloproteinase, sua influência como agente terapêutico para aumentar a durabilidade da adesão por meio

da diminuição da degradação da interface foi relatada em apenas um estudo (Perote et al., 2015). Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia de soluções de clorexidina e de própolis, e da simulação de pressão pulpar, na resistência de união dentinária, utilizando um sistema adesivo universal.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A revisão de literatura apresentada a seguir não teve a pretensão de esgotar o assunto, mas sim de apresentar artigos científicos de relevância para a escrita deste trabalho. Para melhor entendimento, foi dividida nos seguintes tópicos:

- 2.1 Degradação da interface adesiva
- 2.2 Simulação de pressão pulpar
- 2.3 Metaloproteinases
- 2.4 Clorexidina
- 2.5 Própolis
- 2.6 Envelhecimento artificial

2.1 Degradação da interface adesiva

A microestrutura da dentina e suas propriedades são os principais determinantes de praticamente todos os procedimentos da Dentística Restauradora (Marshall et al., 1997). Este tecido pode ser considerado um complexo hidratado composto basicamente por quatro elementos: túbulos dentinários, cercados pela zona peritubular altamente mineralizada, situada numa matriz intertubular constituída majoritariamente por colágeno tipo 1 com cristais de apatita e fluído dentinário (Marshall, 1993).

De acordo com a fase de formação, a dentina pode ser dividida em 5 tipos: junção amelo-dentinária, dentina do manto, dentina primária, dentina secundária e dentina terciária. A dentina terciária, que é formada para proteger o tecido pulpar, pode ser dividida em reacional ou reparativa, dependendo das células que a formam (odontoblastos primários ou de reposição, respectivamente) (Tjäderhane et al., 2012).

O complexo dentina-polpa é alvo de repetidas injúrias microbiológicas, mecânicas e químicas, como cáries primárias e secundárias, substituição de restaurações e atrição (Tjäderhane et al., 2012), causando mudanças. As variações

morfológicas e físicas na dentina humana tornam-na um substrato difícil para a obtenção de uma união durável entre resina e dentina (Perdigão, 2010).

Após a remoção da dentina infectada para realização do preparo cavitário, grande parte das paredes é formada por dentina afetada por cárie. Esta dentina possui características morfológicas, físicas e químicas muito diferentes da dentina normal, o que leva a uma menor eficácia na união com os sistemas adesivos, afetando a performance clínica das restaurações (Nakajima et al., 2011).

Para que ocorra a infiltração dos monômeros resinosos na dentina e conseqüentemente a formação da camada híbrida, é necessária a desmineralização da dentina intertubular e a manutenção da porosidade interfibrilar (Reis et al., 2004). Se houver o ressecamento da dentina, as fibras ficam mais juntas, gerando uma zona desmineralizada com baixa permeabilidade a esses monômeros (Pashley et al., 1993).

A zona de fragilidade na resina unida à dentina é o tecido colágeno desmineralizado encharcado por água que resulta da remoção da smear layer pelo condicionamento ácido (Delannée et al., 2013). A formação da união dentina-resina é obtida predominantemente pela retenção micromecânica através da penetração de resina e emaranhamento de fibras colágenas expostas na dentina parcial ou completamente desmineralizada (Niu et al., 2014).

A redução da integridade da camada híbrida facilita a perda de adesão (Ryou et al., 2013). A longevidade da camada híbrida parece envolver fatores químicos e físicos. Os fatores físicos incluem as forças oclusais e o estresse de contração e expansão causado pelas constantes mudanças de temperatura da cavidade oral. Os fatores químicos envolvem agentes ácidos no fluido dentinário, saliva, comida e bebida e produtos bacterianos, além da eluição de monômeros resinosos e degradação de componentes da resina (Breschi et al., 2008).

Como a camada híbrida é formada por uma mistura da matriz orgânica da dentina, cristais de hidroxiapatita residuais, monômeros resinosos e solventes, o envelhecimento pode afetar cada um dos componentes individualmente ou ser devido a uma combinação sinérgica do fenômeno de degradação ocorrendo dentro da camada híbrida (Breschi et al., 2008).

Os monômeros adesivos não são capazes de encapsular completamente a matriz colágena exposta, deixando fibras colágenas totalmente ou parcialmente

expostas na base da camada híbrida, faltando a proteção da resina polimerizada. A falta da proteção da resina e a presença de água deixam as fibras colágenas desmineralizadas vulneráveis à degradação hidrolítica que depende do tempo (Tjäderhane et al., 2013).

Existem dois mecanismos principais envolvidos na degradação da interface entre resina e dentina ao longo do tempo. Um mecanismo é a hidrólise lenta dos componentes da resina, causados pela sorção de água ou esterases. Outro é a degradação da zona rica em água e pobre em fibras de colágeno dentro da camada híbrida, por meio da ativação de MMPs e catepsinas durante os procedimentos adesivos (Liu et al., 2011).

Ryou et al., em 2013, realizaram um estudo com o objetivo de avaliar o comportamento mecânico de dentina infiltrada por resina, identificar as contribuições da matriz de colágeno à deformação dependente do tempo da camada híbrida e avaliar a importância da hidratação do espécime na resposta à nano análise mecânica dinâmica. Para isto, espécimes de dentina completamente desmineralizada foram infiltradas com sistema adesivo comercial e amostras controle de adesivo foram avaliadas. Os autores concluíram que a microestrutura e a hidratação têm um papel fundamental no comportamento mecânico da camada híbrida.

Abdalla e Feilzer, em 2008, realizaram um estudo com o objetivo de avaliar o armazenamento em água direto e indireto na resistência de união dentinária de um sistema adesivo convencional e dois sistemas adesivos auto-condicionantes. Para isto, 48 terceiros molares humanos foram utilizados. Em cada dente, foi preparada uma cavidade de classe I (4 mm X 4 mm) na superfície oclusal com a parede pulpar estendendo-se aproximadamente 1 mm na dentina. Os dentes foram divididos em 3 grupos e restaurados com resina composta Clearfil AXP usando um dos adesivos testados (Admira Bond, Clearfil SE Bond e Hybrid Bond). Para cada grupo experimental, 3 procedimentos teste foram utilizados: A) os dentes foram armazenados em água por 24 h e seccionados em palitos para o teste de microtração; B) os dentes foram seccionados em palitos, armazenados em água por 4 anos e submetidos ao teste de microtração (exposição direta à água); C) os dentes foram armazenados em água por 4 anos e posteriormente seccionados em palitos e submetidos ao teste de microtração. Os autores concluíram que todos os adesivos testados não mostraram redução na resistência de união após 4 anos de exposição

indireta à água. No entanto, após 4 anos de exposição direta à água, a união produzida por todos os adesivos testados foi incapaz de resistir à deterioração.

Anchieta et al., em 2015, realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a influência do tempo de armazenamento no módulo de elasticidade, micromorfologia, nanoinfiltração e comportamento micromecânico da interface entre dentina e adesivo de cinco diferentes sistemas adesivos (um de condicionamento total de 3 passos, dois auto-condicionantes de 2 passos, e dois auto-condicionantes de 1 passo. Para isto, cinquenta dentes foram restaurados e distribuídos de acordo com o sistema adesivo. Foram obtidos no mínimo 4 espécimes por dente. Um foi avaliado em microscopia eletrônica de varredura para análise da interface dentina-adesivo. Dois espécimes foram usados para verificar nanoinfiltração, um após 24 h de realização da restauração e outro após 12 meses. O último espécime foi usado para nanoidentação, após 24 h e após 12 meses, para obter as propriedades mecânicas da interface dentina-adesivo inicial e final. Os autores concluíram que a degradação ocorreu na interface dentina-adesivo para todos os sistemas adesivos utilizados, mas a intensidade da degradação variou dependendo do tipo de sistema adesivo. A interface formada pelo primer auto-condicionante contendo o monômero funcional 10-MDP mostrou a melhor estabilidade entre os grupos após 12 meses de armazenamento.

Gotti et al., em 2015, avaliaram a eficácia dos antioxidantes vitamina C, vitamina E e quercetina na resistência de união, grau de conversão e taxa de polimerização de três adesivos comerciais: Adper Single Bond 2, Clearfil SE Bond e Adper Easy Bond. Para isto, pré-molares humanos foram restaurados utilizando os adesivos com os antioxidantes. As amostras foram armazenadas por 24 h em água destilada ou 6 meses sob simulação de pressão pulpar. Os dentes foram seccionados em palitos e submetidos ao teste de microtração. Foi realizada uma análise qualitativa de nanoinfiltração de um palito central de cada dente restaurado. O grau de conversão e a taxa de polimerização dos sistemas adesivos foram avaliados usando FTIR. Os autores concluíram que a performance dos antioxidantes variou de acordo com o sistema adesivo ao qual foram adicionados, e os adesivos alterados com os antioxidantes mostraram um efeito positivo na durabilidade da interface adesiva, já que a resistência de união obtida após 24 h foi mantida ou aumentou com o tempo.

2.2 Simulação de pressão pulpar

Belli et al., em 2010, avaliaram a durabilidade da adesão dentinária de adesivos simplificados após um ano de armazenamento em água sob simulação de pressão pulpar. Para isto, cavidades de classe I forma preparadas em 60 terceiros molares humanos com a parede pulpar localizada em dentina média. As raízes foram cortadas para expor a câmara pulpar, e os dentes foram montados em um dispositivo de simulação de pressão pulpar. Um sistema adesivo de condicionamento total de três passos, um de dois passos, um de auto-condicionante de dois passos e três de um passo foram aplicados de acordo com as instruções dos fabricantes. Não foi utilizado condicionamento prévio do esmalte para os sistemas adesivos auto-condicionantes. As cavidades foram preenchidas com resina fotopolimerizável em 4 ou 5 incrementos horizontais e individualmente fotopolimerizadas. Imediatamente após a cura, a pressão pulpar foi ajustada para 15 cm de H₂O. Após 24 h e 1 ano sob simulação de pressão pulpar, os dentes foram seccionados e submetidos ao teste de micro-tração. Os autores concluíram que um ano de simulação de pressão pulpar não afetou a resistência de união dentinária de adesivos simplificados em cavidades de classe I. Sinais de degradação só foram revelados por análise fractográfica.

Feitosa et al., em 2012, realizaram um estudo com o objetivo de comparar os efeitos hidrolíticos induzidos por simulação de pressão pulpar, direta ou indireta exposição à água da interface dentina-resina criada por três sistemas adesivos simplificados. Foram obtidos segmentos coronários de 105 terceiros molares humanos. Os espécimes foram divididos em três grupos, de acordo com o sistema adesivo aplicado: Clearfil SE Bond, Clearfil S3 Bond e Adper Single Bond 2. Seguiu-se a realização de restaurações de resina composta. Os dentes foram subdivididos em 7 grupos, de acordo com a estratégia de envelhecimento utilizada: 1- imersão em água deionizada por 24 h seccionados em palitos, 2- seccionados em palitos e armazenamento em água por 6 meses, 3- seccionados em palitos e armazenamento por 12 meses, 4- imersão em água por 6 meses e seccionados em palitos, 5- imersão em água por 12 meses e seccionados em palitos, 6- submetidos à simulação de pressão pulpar, armazenados por 6 meses e seccionados em palitos e 7- submetidos à simulação de pressão pulpar, armazenados por 12 meses e seccionados em palitos.

Os espécimes foram submetidos ao teste de microtração. Os autores concluíram que a degradação hidrolítica da interface resina-dentina dependeu do tipo da estratégia de envelhecimento utilizada. A exposição direta da interface à água permanece como a estratégia mais rápida para envelhecer a união resina-dentina. Contudo, a simulação de pressão pulpar pode simular melhor o cenário *in vivo*. A aplicação de uma camada de adesivo hidrofóbico livre de solvente pode reduzir a degradação hidrolítica e aumentar a longevidade da interface dentina-resina criada por adesivos simplificados.

Feitosa et al., em 2013, avaliaram os efeitos do aumento dos procedimentos de fotopolimerização na resistência de união de adesivos auto-condicionantes de passo único submetidos à simulação de pressão pulpar. Para isto, foram obtidos segmentos coronários de 60 molares humanos. As amostras foram divididas em 3 grupos, de acordo com o adesivo aplicado: Clearfil S3 Bond, Adper Easy Bond e G-Bond Plus. Cada grupo foi fotopolimerizado por 10 ou 40 segundos. Os espécimes foram armazenados por 24 h com ou sem simulação de pressão pulpar. Os espécimes foram seccionados em palitos e submetidos ao teste de microtração. Observou-se que o aumento no tempo de fotopolimerização aumentou a resistência dos adesivos auto-condicionantes de passo único à simulação de pressão pulpar.

de Alexandre et al., em 2014, avaliaram os efeitos da simulação de pressão pulpar na resistência de união dentinária e nos padrões de nanoinfiltração produzidos por cimentos adesivos após 12 meses. Três cimentos auto-adesivos e três convencionais foram analisados. Para isto, foram obtidos segmentos coronários de 123 molares humanos. Os cimentos resinosos foram utilizados para cimentar blocos de resina aos dentes, com ou sem simulação de pressão pulpar. Sessenta espécimes foram submetidos à simulação de pressão pulpar 24 h antes ou 24 h ou 12 meses depois dos procedimentos de cimentação. Os dentes restaurados foram seccionados em palitos e submetidos ao teste de micro-tração. Dois dentes adicionais por grupo foram seccionados em fatias para análise de nanoinfiltração. Os autores concluíram que a simulação de pressão pulpar aumentou a deposição de prata na maioria dos grupos em ambos os tempos de avaliação. O efeito da pressão pulpar dependeu do material. O tempo de armazenamento sem simulação de pressão pulpar não afetou a resistência de união. Entretanto, a simulação de pressão pulpar prolongada influenciou a performance dos cimentos.

Kim et al., 2014, realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a influência pressão pulpar *in vitro* e do tipo de cavidade na interface adesiva entre dente e compósito por meio de análise de emissão acústica. Para isto, 28 terceiros molares foram divididos em 2 grupos: em metade deles foram realizadas cavidades de classe I e metade cavidades de classe II. Cada grupo foi subdividido e restaurado com ou sem simulação de pressão pulpar de 20 cm H₂O durante os procedimentos. Os dentes foram restaurados com a resina Z250 e o adesivo Adper Scotchbond Multi-Purpose (3M ESPE, St. Paul, MN, USA). Os eventos de emissão acústica foram gravados durante 2000 s durante a fotopolimerização. Após o teste de emissão acústica, os dentes foram seccionados e a interface dente-resina foi analisada utilizando microscopia eletrônica de varredura. Os autores concluíram que a simulação de pressão pulpar e a cavidade de classe I, com alto fator C, desencadearam mais eventos de emissão acústica, confirmando seu impacto negativo na interface adesiva.

2.3 Metaloproteinasas

A degradação proteolítica da interface entre dentina e biomateriais têm ganhado cada vez mais atenção nos últimos anos, e agora representa um campo científico (Bertassoni et al., 2012). O papel das metaloproteinasas na degradação tecidual se tornou evidente em muitas doenças e em consequência existe grande interesse no controle farmacológico da atividade dessas enzimas (Vilela et al., 2015).

As metaloproteinasas são uma família de enzimas dependentes de zinco e cálcio, que são importantes em muitos processos biológicos e patológicos porque coletivamente são capazes de degradar praticamente todos os componentes da matriz extra-celular. Em humanos, os 23 membros da família das metaloproteinasas são frequentemente divididos em seis grupos: colagenases, gelatinases, estromelinas, matrilisinas, metaloproteinasas tipo membrana e outras metaloproteinasas – baseados no substrato, especificidade e homologia. Embora esta classificação seja prática, ela subestima a complexidade das funções e atividades biológicas das metaloproteinasas, já que a maioria dessas enzimas pode – ao menos *in vitro* – degradar vários substratos com várias especificidades. As metaloproteinasas

são sintetizadas e em sua maioria secretadas como pró-enzimas inativas, nas quais o pró-domínio previne a atividade funcional do domínio catalítico. A ativação ocorre quando a ponte pré-domínio com o zinco catalítico é interrompida pela quebra do pró-domínio por outras metaloproteinases, cisteínas, catepsinas ou outras proteinases, ou quimicamente, por exemplo, por alterações de pH (Tjäderhane et al., 2015).

As fibras colágenas da dentina contém formas inativas de enzimas proteolíticas chamadas metaloproteinases. Essas enzimas foram identificadas em odontoblastos e em dentina humana mineralizada ou desmineralizada e tem um papel na degradação da interface entre dentina e resina. Novas estratégias para prevenir a degradação da adesão dentinária podem ser cruciais para aumentar a longevidade das restaurações adesivas. Portanto, o uso de inibidores exógenos de metaloproteinases, como a clorexidina, pode ser uma estratégia efetiva para aumentar a longevidade das restaurações adesivas (Perdigão et al., 2013).

As metaloproteinases tem um papel duplo na odontologia. Enquanto várias metaloproteinases tem um papel importante no desenvolvimento de defeitos dos dentes e em cáries, algumas metaloproteinases parecem ter um papel protetor. O principal componente orgânico da estrutura dental é o colágeno e as metaloproteinases que degradam colágeno e a matriz extracelular estão implicadas na progressão da cárie dental. As metaloproteinases também se mostraram ativas em pulpites e podem ser usadas como marcadores diagnósticos para inflamação pulpar (Sambandam, Neelakatan, 2014).

As metaloproteinases da matriz estão implicadas na patogênese da cárie e contribuem para a degradação do colágeno na interface resina-dentina. Osorio et al., em 2011, realizaram um estudo com o objetivo de determinar se a degradação do colágeno pode ser modulada por um excesso de zinco ou quelantes de zinco. Foram testados espécimes de dentina mineralizados ou desmineralizados por ácido fosfórico. Digluconato de clorexidina, doxiciclina ou $ZnCl_2$ foram adicionados ao meio. Em metade dos grupos, mmp-2 exógena ativa foi incorporada à solução. Radioimunoensaio foi realizado após 24 h, 1 e 3 semanas. Os autores concluíram que o excesso de zinco reduz a degradação do colágeno mediada por metaloproteinases. A hipótese é de que a ligação do zinco ao colágeno resulta na proteção de locais de clivagem sensíveis.

Monteiro et al., em 2013, avaliaram o efeito de um inibidor de metaloproteinase natural (chá verde) e um sintético (clorexidina) na resistência de união de um sistema adesivo convencional, após 24 h ou 6 meses de armazenamento em água. Para isto, 30 espécimes de dentina humana foram condicionados com ácido fosfórico, lavados e secos. Estes foram divididos em três grupos de acordo com a solução aplicada: chá verde, clorexidina e controle (nenhuma solução). As soluções foram aplicadas por 60 segundos e secas com papel absorvente. O sistema adesivo Adper Single Bond 2 foi aplicado de acordo com as instruções do fabricante e seguiu-se a confecção de restauração de resina composta. Após 24 h, os dentes foram seccionados em palitos e submetidos ao teste de microtração após 24 h ou 6 meses de armazenamento em água. Os autores concluíram que após uma avaliação de longo prazo ambos os inibidores de metaloproteinases foram capazes de manter a estabilidade da resistência de união.

2.4 Clorexidina

A clorexidina tem sido estudada como inibidor de protease para preservar a camada híbrida por meio da inibição de metaloproteinases e de cisteínas catépsinas (Perdigão et al., 2013).

Campos et al, em 2009, estudaram o efeito do digluconato de clorexidina a 0,2% e a 2% na durabilidade da adesão dentinária de um sistema adesivo convencional de dois passos (Single Bond - 3M/ ESPE) e um sistema auto-condicionante de passo único (Clearfil Tri S Bond - Kuraray). Foram usados 24 terceiros molares humanos hígidos. A superfície oclusal foi removida para expor a dentina, e seguiu-se a aplicação dos sistemas adesivos de acordo com as instruções dos fabricantes, associados ou não ao uso da clorexidina. Em seguida, aplicou-se resina composta (Z250 – 3M/ ESPE) pela técnica incremental. Todos os procedimentos foram realizados sob simulação de pressão pulpar a 22,07 mmHg. Para cada condição, metade dos espécimes foi imediatamente submetida ao teste de microtração. A outra metade foi armazenada por 6 meses sob simulação de pressão intra-pulpar e ciclagem termomecânica e após isto submetida ao teste de microtração.

O estudo concluiu que a clorexidina diminuiu a perda de resistência de união ao longo do tempo associada aos dois sistemas adesivos utilizados. O digluconato de clorexidina a 0,2% não conseguiu diminuir a perda da resistência de união quando associada ao adesivo auto-condicionante. Porém, nenhuma das concentrações de clorexidina conseguiu prevenir completamente a diminuição da resistência de união ao longo do tempo.

Loguercio et al., em 2009, avaliaram os efeitos de diferentes concentrações de digluconato de clorexidina e diferentes tempos de aplicação na preservação da união entre resina e dentina formada usando dois sistemas adesivos convencionais. Para isto, foram utilizados 120 terceiros molares humanos, que tiveram a dentina superficial exposta. Para o primeiro experimento, 60 dentes foram divididos em 12 grupos de acordo com a combinação de dois fatores, adesivo (2 níveis) e solução de reumedecimento (6 níveis). As superfícies dentinárias expostas foram condicionadas com ácido fosfórico por 15 segundos, lavadas por 15 s, secas e reumedecidas com água ou soluções aquosas de 0,002%, 0,02%, 0,2%, 2% e 4% de clorexidina. Todos os procedimentos de reumedecimento foram realizados por 60 segundos. Depois disto, os sistemas adesivos foram aplicados de acordo com as instruções dos fabricantes. O objetivo deste experimento foi selecionar a menor concentração que teve efeitos benéficos na preservação da união entre resina e dentina após um período de 6 meses. Para o segundo experimento, 60 dentes foram divididos em 12 grupos de acordo com a combinação dos fatores adesivo (2 níveis), solução de reumedecimento (3 níveis) e tempo de aplicação (2 níveis). As superfícies dentinárias foram condicionadas com ácido fosfórico, lavadas, secas e reumedecidas com água, solução aquosa de clorexidina 0,002% ou 2% por 15 ou 60 s. Após isto, seguiu-se a aplicação dos sistemas adesivos de acordo com a recomendação dos fabricantes. Em ambos os experimentos, foi realizada restauração de resina composta e os dentes restaurados foram seccionados em palitos para o teste de microtração. Metade dos palitos foi testada imediatamente e metade foi armazenada por 6 meses. Uniões estáveis foram obtidas por 6 meses em todas as condições testadas, independente da concentração de clorexidina e do tempo de aplicação. Os autores concluíram que o uso de solução de clorexidina a 0,002% por 15 segundos pareceu ser suficiente para preservar a interface entre resina e dentina por um período superior a 6 meses.

Breschi et al., em 2010, avaliaram o papel das metaloproteinases endógenas da dentina na auto-degradação de fibrilas colágenas na interface adesiva. A hipótese de nulidade testada foi que a aplicação de adesivos ou clorexidina não modifica a atividade das metaloproteinases da dentina e que clorexidina usada como primer terapêutico não aumenta a estabilidade da interface adesiva ao longo do tempo. Foram realizados zimogramas de extratos proteicos de pó de dentina humana incubada com Adper Scotchbond 1XT apenas, ou com tratamento prévio com clorexidina 0,2% ou 2% , para testar a atividade das metaloproteinases dentinárias. Testes de microtração e de nanoinfiltração foram realizados em interfaces tratadas com Adper Scotchbond 1XT (previamente tratadas ou não com 0,2% ou 2% de clorexidina) imediatamente ou após 2 anos de armazenamento em saliva artificial. Zimogramas mostraram que a aplicação do referido adesivo em pó de dentina aumenta a atividade da MMP-2, enquanto que o pré-tratamento com clorexidina inibe toda a atividade gelatinolítica. A clorexidina diminuiu significativamente a perda da resistência de união e a nanoinfiltração em interface adesiva artificialmente envelhecida por 2 anos.

Sartori et al., em 2013, avaliaram a performance clínica de restaurações de classe V de lesões não-cariosas com e sem a aplicação de digluconato de clorexidina na dentina condicionada. Para isto, 70 lesões não-cariosas foram selecionadas e aleatoriamente divididas em dois grupos. O grupo controle foi restaurado com um adesivo de condicionamento total de dois passos (Adper Single Bond 2) de acordo com as instruções do fabricante, enquanto que no outro grupo foi aplicada solução de digluconato de clorexidina 2% na dentina por 30 segundos após o condicionamento ácido e antes da aplicação do adesivo. Todas as lesões foram restauradas com uma resina composta nanoparticulada (Filtek Supreme XT) e fotopolimerizadas. A performance clínica foi avaliada após 1 semana, 6, 12 e 36 meses utilizando-se os critérios modificados de Ryge/ USPHS nos critérios retenção, descoloração, integridade marginal, sensibilidade pós-operatória e incidência de cárie secundária. Os autores concluíram que a aplicação de digluconato de clorexidina 2% não aumentou a durabilidade clínica das restaurações.

Francisconi-dos-Rios et al., em 2015, avaliaram o efeito a longo prazo de solução aquosa de clorexidina 2% na resistência de união de dentina erodida artificialmente comparada à dentina sadia. Para isto, superfícies de dentina média de

28 terceiros molares extraídos foram apenas polidas com lixa de granulação 600 por 1 min (dentina sadia, n=14), ou adicionalmente submetidas ao ciclo erosivo com refrigerante à base de cola (dentina erodida, n=14). Após o condicionamento ácido, lavagem e secagem, todos os dentes foram reidratados com solução aquosa de clorexidina 2% ou água destilada. Foram confeccionadas restaurações de resina composta Z350 após aplicação do adesivo Adper Single Bond 2. Os espécimes foram seccionados em palitos que foram submetidos ao teste de micro-tração imediatamente ou após 6 ou 12 meses de envelhecimento. Comparado à dentina sadia, a dentina erodida apresentou valores mais baixos de resistência de união. Imediatamente e após 12 meses, o efeito da clorexidina foi insignificante, porém foi significativo após 6 meses, quando conservou a resistência de união da dentina erodia e da sadia. Os autores concluíram que o efeito da clorexidina 2% na conservação da resistência de união da dentina sadia e erodida não foi persistente.

Montagner et al., em 2014, realizaram um estudo com o objetivo de revisar sistematicamente a literatura de estudos *in vivo* e *ex vivo* que avaliaram o efeito de inibidores de metaloproteinases durante procedimentos adesivos nos valores de resistência de união imediatos e de longo prazo. O inibidor de metaloproteinase mais utilizado é a clorexidina. Os resultados de resistência de união imediatos não mostram diferença entre solução de clorexidina 2% e controle; entretanto, é encontrada diferença entre solução de clorexidina 0,2% e controle. Após envelhecimento, os grupos tratados com clorexidina apresentam maiores valores de resistência de união quando comparados aos grupos controle. Contudo, isto não é observado após longos períodos de envelhecimento. Foi encontrada grande heterogeneidade em algumas comparações, especialmente para os subgrupos envelhecidos pelo armazenamento em água. Análise nos subgrupos mostrou que sistemas adesivos convencionais e auto-condicionantes foram beneficiados pelo uso da clorexidina. O uso dos inibidores de metaloproteinases não afetou os valores de resistência de união imediatos, porém influenciou os valores de resistência de união após envelhecimento. Os procedimentos de envelhecimento influenciaram os valores de resistência de união da estabilidade da adesão dentinária.

Em 2014, Stanislawczuk et al. realizaram um estudo para avaliar o efeito da adição de diacetato de clorexidina em diferentes concentrações em dois sistemas adesivos simplificados de condicionamento total. Na resistência à tração, grau de

conversão, sorção de água, solubilidade, liberação de clorexidina, além da resistência e união entre resina e dentina imediata e após 1 ano e nanoinfiltração. Para isto, 10 adesivos experimentais foram formulados de acordo com a adição de diacetato de clorexidina (0; 0,01; 0,05; 0,1; 0,2%) nos dois sistemas adesivos. Para resistência à tração e grau de conversão, os espécimes foram fabricados e testados após 24 h. Para sorção de água, solubilidade e liberação de clorexidina, após a confecção dos espécimes, estes foram armazenados em água e as propriedades foram medidas após 60 dias. O esmalte oclusal de 50 molares foi removido e os adesivos foram aplicados nas superfícies dentinárias após o condicionamento com ácido fosfórico 37%. Após a confecção das restaurações de resina, os dentes foram seccionados em palitos para o teste de microtração, imediatamente ou após 1 ano. Para nanoinfiltração, 2 palitos por dente foram separados e analisados em microscopia eletrônica de varredura. Os autores concluíram que a adição de diacetato de clorexidina em concentrações até 0,2% nos sistemas adesivos de condicionamento total simplificados podem ser uma alternativa para aumentar a estabilidade a longo prazo da interface entre resina e dentina, sem prejudicar as propriedades mecânicas avaliadas.

2.5 Própolis

A própolis é uma substância resinosa fortemente adesiva, coletada, transformada e utilizada pelas abelhas para selar a sua colmeia, alisar as paredes internas e proteger a entrada de intrusos (Burdock, 1998). Este produto é um potente antimicrobiano e agente anti-inflamatório. As principais classes de produtos químicos presentes na própolis são os flavonoides, compostos fenólicos, e vários compostos aromáticos. Os flavonoides são compostos de plantas conhecidos, que têm propriedades antioxidante, antibacteriana, antifúngica, antiviral e anti-inflamatória (Al-Shaher et al., 2004).

O uso do própolis em odontologia tem sido enfatizado por vários estudos. Além de diminuir a hipersensibilidade dentinária e a permeabilidade da dentina e ocluir os túbulos dentinários, mostrou-se benéfico em vários aspectos, incluindo a

prevenção da cárie dental, redução da mucosite oral resultante da quimioterapia, câncer oral, gengivite e doença periodontal, inibição de placa dental e anti-inflamatório; como constituinte de dentifrício para controle da microbiota oral, como meio de transporte efetivo para aumentar a viabilidade de células do ligamento periodontal de dentes avulsionados, capeamento pulpar direto, e como analgésico (Vagish Kumar, 2014).

Em 2010, Valera et al. realizaram um estudo que avaliou a ação antimicrobiana do extrato glicólico de própolis usado como solução irrigadora durante o preparo biomecânico e como medicação intracanal contra *Escherichia coli* e suas endotoxinas nos canais radiculares. Quarenta e oito dentes unirradiculares humanos tiveram a coroa removida e os canais instrumentados. A região apical de cada dente foi selada com resina composta e a região externa da raiz selada com resina epóxi. As raízes foram então contaminadas com uma suspensão de *E. coli*. Realizou-se a instrumentação com solução irrigadora de extrato glicólico de própolis a 12% e após os dentes foram divididos em quatro grupos, de acordo com a medicação intracanal que receberam: pasta de hidróxido de cálcio, solução de polimixina B, associação de pó de hidróxido de cálcio com gel de clorexidina a 2% e sem medicação. A medicação permaneceu por 14 dias e foi removida com solução salina. Após isto, foi coletada uma amostra e os dentes foram armazenados a 37°C com solução salina por 7 dias e foi coletada nova amostra. Foi realizada a quantificação das endotoxinas. Os autores concluíram que a própolis é efetivo contra *E. coli* depois do preparo biomecânico, porém não conseguiu eliminar as endotoxinas presentes no canal radicular.

Em 2011, Kayaoglu et al. investigaram a atividade antibacteriana contra *Enterococcus faecalis* de 2 amostras de própolis num bloco de dentina, e a efetividade foi comparada com a do hidróxido de cálcio e da clorexidina. Blocos de dentina foram produzidos a partir de dentes humanos unirradiculares e foram contaminados por *E. faecalis*. Os canais radiculares foram preenchidos com extratos etanólicos de própolis, hidróxido de cálcio, clorexidina a 2%, etanol ou solução tampão de fosfato. Os dentes foram incubados por 1 ou 7 dias a 37°C. Os canais radiculares foram lavados com água destilada e foi recolhido com broca Gates-Glidden pó de dentina. Os autores concluíram que as amostras de própolis não foram superiores à clorexidina em termos de eliminação de bactérias, embora conseguiram uma grande redução no número de bactérias.

Em 2005, Sforcin et al realizaram uma revisão com o objetivo de discutir o potencial da própolis para o desenvolvimento de novas drogas. Realizaram isto através da comparação de dados da literatura que sugeriam áreas candidatas para o estabelecimento de drogas contra tumores, infecções, alergias, diabetes, úlceras e modulação da resposta imune. Os autores concluíram que as propriedades biológicas da própolis têm sido intensamente investigadas nos últimos anos, atraindo o interesse de muitos consumidores para produtos contendo própolis. Embora uma padronização universal da própolis seja impossível, as propriedades biológicas da própolis podem ser ligadas à sua composição química e à fonte botânica. Existe o potencial para o desenvolvimento de novas drogas, porém baseadas em um tipo específico de própolis. Se existir uma padronização baseada nos principais constituintes ativos, pode ser submetida a testes clínicos e registrada.

Purra et al., em 2014, avaliaram a eficácia de solução etanólica de própolis no tratamento da hipersensibilidade dentinária. Para isto, dez pacientes com idade entre 20 e 40 anos com 156 dentes com hipersensibilidade foram selecionados. Cada paciente foi submetido ao tratamento com solução etanólica de própolis, nitrato de potássio 5% e água destilada. Os pacientes foram chamados novamente no sétimo dia, 2 semanas e 4 semanas para aplicação do agente e reavaliação. A avaliação final dos pacientes foi feita 3 meses após a primeira aplicação. Os autores concluíram que própolis foi mais efetivo que o nitrato de potássio 5% no alívio da hipersensibilidade dentinária e teve um efeito imediato e que foi mantido.

Vilela et al., em 2015, realizaram um estudo com o objetivo de avaliar o efeito do ácido caféico fenetil éster (CAPE) na produção das metaloproteinases e seu inibidor (TIMP) em monócitos ativados por lipopolissacarídeos. Para isto, a linha de células monocíticas humanas (THP-1) foi tratada com concentrações não citotóxicas de CAPE combinado com 1µg/ml de lipopolissacarídeo. A expressão do gene MMP-1, MMP-9 e TIMP-1 foi avaliada por análise quantitativa da reação da cadeia polimerase em tempo real. A secreção de proteína no meio de cultura foi avaliado pelo ensaio de imunossorbância ligado à enzima e a atividade gelatinolítica da MMP-9 foi avaliada por zimografia. Os autores concluíram que o ácido caféico fenetil éster foi capaz de inibir a expressão genética, a produção e a atividade das metaloproteinases induzidas por lipopolissacarídeos e também aumentar a expressão genética do TIMP-1. Essas observações sugerem que o ácido caféico fenetil éster exerceu um efeito

positivo no mecanismo regulatório entre MMPs e TIMP, o que é importante para o controle de diversas doenças.

Perote et al., em 2015, avaliaram o efeito de soluções inibidoras de metaloproteinases e de tipos de envelhecimento na resistência de união entre resina e dentina. Para isto, foram utilizados segmentos coronários de 120 molares humanos. Os procedimentos adesivos foram realizados sob simulação de pressão pulpar. Os dentes foram divididos em 5 grupos de acordo com a solução aplicada: grupo controle, solução aquosa de própolis, solução etanólica de própolis, clorexidina 0,2% e etanol. As soluções foram aplicadas por 60 s. Seguiu-se a aplicação de adesivo e resina composta. Cada grupo foi novamente dividido de acordo com o tipo de envelhecimento: imediato, armazenamento em saliva por 6 meses e ciclagem termomecânica (240000 ciclos mecânicos e 1000 ciclos térmicos). Os espécimes foram seccionados em palitos e submetidos ao teste de microtração. Os autores concluíram que o uso das soluções não preveniu a diminuição dos valores de resistência de união após o envelhecimento. Contudo, não tiveram um efeito negativo na adesão.

2.6 Envelhecimento artificial

Gale e Darvell, em 1999, realizaram uma revisão de literatura com o objetivo de encontrar correlação *in vivo* e padronização para a ciclagem térmica. Foi realizada uma avaliação de estudos que descreviam mudanças de temperatura *in vivo* e seguiu-se análise de 130 estudos laboratoriais de ciclagem térmica. Um regime de ciclagem térmica clinicamente relevante derivou das informações *in vivo* e foi sugerido como referência: 35°C (28 s), 15°C (2 s), 35°C (28 s) e 45°C (2 s). Foi encontrada grande variação nos regimes de ciclagem utilizados, o que tornou a comparação entre os estudos difícil. Não foi encontrada evidência de quantos ciclos devem ser realizados *in vivo* e isto requer mais estudos, porém uma estimativa de 10.000 ciclos por ano é sugerida. O estresse térmico da interface das restaurações é válido quando a adesão inicial é confiável.

Deng et al., em 2014, realizaram um estudo com o objetivo de comparar os efeitos de quatro métodos de envelhecimento artificial comumente utilizados (armazenamento em água, termociclagem, armazenamento em hipoclorito de sódio e ciclagem de pH) na degradação da interface entre dentina e adesivo. Para isto, 50 molares foram seccionados paralelamente ao plano oclusal, polidos e divididos em dois grupos de acordo com o sistema adesivo, sendo um de condicionamento total e um auto-condicionante. Depois da confecção das restaurações, os espécimes foram seccionados em palitos e divididos nos seguintes grupos: grupo controle, 24 h de armazenamento em água; 6 meses de armazenamento em água; 10.000 ciclos térmicos; 1 hora de armazenamento em hipoclorito de sódio 10%; e 15 ciclos de pH. Seguiu-se o teste de microtração. Os autores concluíram que todos os métodos de envelhecimento produziram degradação semelhante nos parâmetros utilizados. Cada método de envelhecimento artificial *in vitro* tem seus próprios mecanismos, características e escopo de aplicação para degradar a interface entre dentina e adesivo. O armazenamento em água é simples e tem baixo custo, porém consome bastante tempo; a termociclagem necessita de um acordo sobre a padronização; o armazenamento em NaOCl economiza tempo, porém degrada principalmente a fase orgânica; a ciclagem em pH pode assemelhar-se à condição cariogênica, porém necessita mais estudos.

Morressi et al., em 2014, realizaram uma revisão de literatura com o objetivo de elucidar os parâmetros para envelhecimento *in vitro* das restaurações adesivas. O objetivo foi avaliar a existência de um protocolo padrão de ciclagem térmica. Foi realizada uma busca na literatura, examinando os efeitos da ciclagem térmica nos materiais restauradores, tanto em bases eletrônicas como manual. A busca restringiu-se a artigos publicados de 1998 a 2013. Foram encontrados 193 estudos experimentais relevantes. Apenas 23 aplicaram o padrão ISO. A maioria dos estudos usou seus próprios parâmetros, mostrando apenas alguma consistência no parâmetro temperatura (5°C – 55°C) e uma grande variabilidade no número de ciclos e tempo de permanência escolhido. Foi encontrada grande variação nos parâmetros de ciclagem térmica aplicada nos estudos experimentais. Os autores concluíram que mais estudos são necessários para o desenvolvimento de um protocolo padrão para ciclagem térmica.

Reis et al., em 2015, realizaram um estudo para avaliar o efeito de soluções de envelhecimento na durabilidade da união entre resina e dentina, através de testes de microtração e nanoinfiltração. Para isto, o sistema adesivo Adper Single Bond 2 foi aplicado na superfície oclusal planificada de 40 molares humanos de acordo com as instruções do fabricante. Após a aplicação do adesivo, foram confeccionadas restaurações de resina composta. Os dentes foram seccionados em palitos e testados em microtração imediatamente ou após diferentes períodos de armazenamento (1 semana, 1 mês ou 6 meses). Os palitos foram mantidos submersos em 5 diferentes soluções: água destilada, ácido propiônico 99,9%, ácido acético 99,9%, etanol 75% e óleo mineral. Os autores concluíram que ácido propiônico, ácido acético e etanol podem ser usados como soluções de envelhecimento alternativas para a obtenção de resultados mais rápidos na resistência da adesão à degradação.

3 PROPOSIÇÃO

Os objetivos deste estudo foram:

- Verificar a influência da aplicação de soluções de clorexidina e própolis na dentina previamente à aplicação de um sistema adesivo universal na resistência de união entre resina e dentina;

- Verificar a influência da simulação de pressão pulpar na resistência de união entre resina e dentina;

- Verificar a influência da ciclagem térmica na resistência de união entre resina e dentina.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento experimental

4.1.1 Unidades experimentais

Cento e vinte dentes humanos, 108 molares e 12 pré-molares.

4.1.2 Fatores em estudo

Pressão pulpar em 2 níveis: Sem pressão pulpar; 15 cm de H₂O.

Solução aplicada em 3 níveis: Grupo Controle, Solução Aquosa de Clorexidina 0,2%, Extrato de Própolis Aquoso.

Envelhecimento em 2 níveis: Armazenamento por 24 h, Ciclagem térmica.

4.1.3 Variável de resposta

Resistência de união (MPa)

4.2 Preparo dos espécimes

Este estudo foi submetido à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos – UNESP, por meio da Plataforma Brasil do Ministério da Saúde, CAAE:47319715.3.0000.0077, conforme ANEXO.

Neste estudo foram utilizados 120 dentes humanos, 108 molares e 12 pré-molares, armazenados em solução de cloreto de sódio a 0,9% a 4°C, até o momento do uso.

Os dentes foram fixados a uma base de resina acrílica com cera pegajosa, com o longo eixo paralelo à superfície da placa. Foram obtidos segmentos das coroas, a partir do corte aproximadamente 2 milímetros abaixo da junção amelo-cementária com um disco diamantado acoplado à cortadeira de precisão (Labcut, Extec, Enfield, CT, EUA), sob refrigeração a água; logo em seguida, o esmalte oclusal foi removido em um corte paralelo aproximadamente 4 milímetros acima da junção amelo-cementária para expor a dentina (Figura 1A, 1B e 1C).

A dentina exposta foi polida para criar um substrato para união padrão na dentina, com lixa d'água de granulação P600 (Fepa-P, Panambra, São Paulo, SP, Brasil) em uma politriz (Pantec Polipan 2, Panambra, São Paulo, SP, BR) (Figura 1E). O tecido pulpar foi removido da câmara pulpar com cureta sem alterar a superfície da pré-dentina (Figura 1D). Um espessímetro foi utilizado para a medição da dentina remanescente, que deveria ter espessura mínima de 2 mm no corno pulpar (Figura 1F). A partir desta espessura mínima, as amostras foram separadas de acordo com a espessura e divididas entre os grupos.

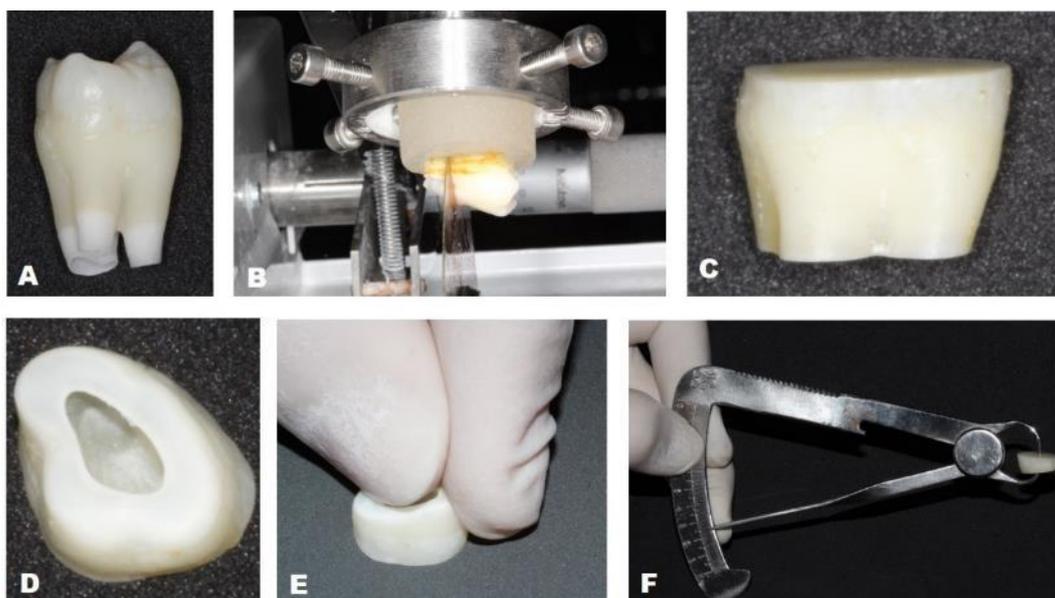


Figura 1 – Preparo do espécime. A) Molar humano; B) Corte do dente em cortadeira de precisão; C) Segmento obtido após corte; D) Vista inferior do molar após remoção da polpa; E) Criação substrato padrão; F) Aferição da espessura de dentina com espessímetro.

4.3 Divisão dos grupos experimentais

Para a realização das restaurações, os dentes foram divididos em dois grupos, de acordo com a pressão pulpar:

- **Sem pressão pulpar;**
- **Com pressão pulpar:** 15 cm de H₂O.

Cada subgrupo foi dividido em três outros subgrupos de acordo como a solução a ser aplicada:

- **GC:** Nenhuma solução aplicada (Controle);
- **CLX:** Solução aquosa de clorexidina 0,2%;
- **PA:** Solução de própolis aquosa (Propomax).

Cada subgrupo foi dividido em dois grupos, de acordo com o tipo de envelhecimento:

- **I:** Corte imediato;
- **C:** Ciclagem térmica (15000 ciclos).

Foram obtidos 12 subgrupos, com 10 espécimes cada. A figura 2 mostra a divisão experimental dos grupos.

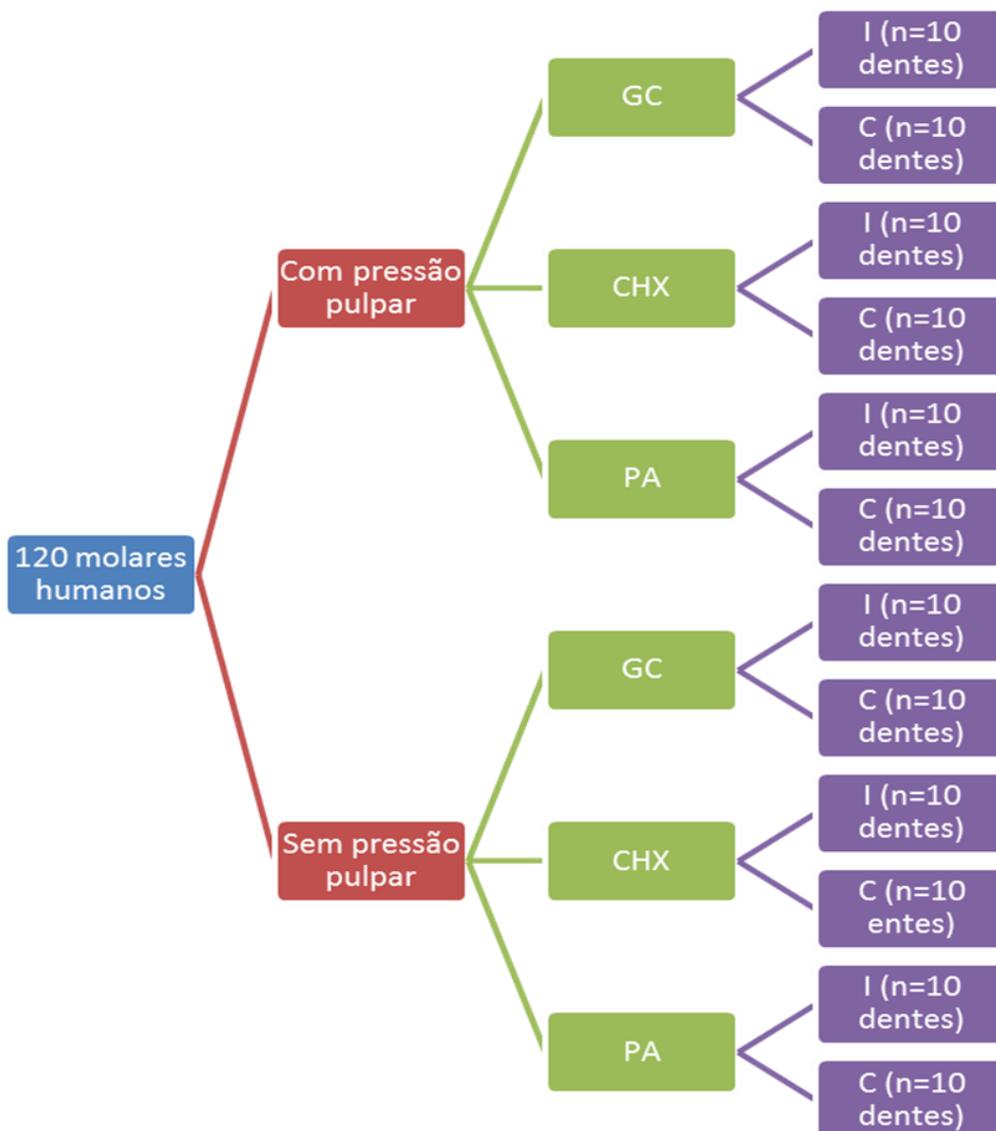


Figura 2 – Divisão dos grupos experimentais.

Todos os materiais, fabricantes e composições estão listados no Quadro 1.

Quadro 1 – Materiais utilizados, fabricantes e suas composições

MATERIAL	FABRICANTE	COMPOSIÇÃO
Condac 37	FGM, Joinville, SC Brasil	Ácido fosfórico a 37%, espessante, corante e água deionizada
Single Bond Universal	3M Deutschland GmbH, Seefeld, Alemanha	Bisfenol A diglicidil éter dimetacrilato (Bis-GMA), metacrilato 2-hidroxietila, sílica tratada com silício, álcool etílico, decametileno dimetacrilato, água, 1,10-decanodiol fosfato metacrilato, copolímero de acrílico e ácido itacônico, canforoquinona, N,N-dimetilbenzocaína, metacrilato de 2-dimetilamonoetilo, metil etil cetona.
Filtek Z250	3M ESPE, Irvine, CA, EUA	Cerâmica tratada com silano, bisfenol A diglicidil éter dimetacrilato (BIS-GMA), bisfenol A polietileno glicol diéter (BIS-EMA), sílica tratada com silano, diuretano dimetacrilato (UDMA) e dimetacrilato de trietileno glicol (TEG-DMA).
Solução aquosa de Clorexidina 0,2%	Becker Farmácia de Manipulação e Homeopatia, São José dos Campos, SP, Brasil	Digluconato de clorexidina 0,2%
Propomax	Apis Flora/ Riberão Preto, São Paulo, Brasil	Própolis e água purificada (aprox. 11% extrato seco)

4.4 Simulação de pressão pulpar

Metade das amostras foi submetidas à técnica restauradora com simulação de pressão pulpar, de 15 cm de H₂O (Ciucchi et al. 1995), por meio dos métodos propostos por Mitchem et al. (1988) e Sauro et al. (2007), e adaptado para este estudo, de acordo com a figura 3A. Cada amostra foi colada com cianoacrilato (Superbond, Henkel) em uma base de resina acrílica transparente ativada quimicamente (Jet-Clássico, São Paulo, SP, Brasil) (2 cm x 2 cm x 0,5 cm), perfurada por dois tubos de

metal (Figura 3B e 3C), que terminam na parte superior da base. Foi utilizada uma seringa para preencher a câmara pulpar com água deionizada. Os tubos de metal foram conectados a dois tubos de polietileno de 20 cm de comprimento; um destes foi conectado um a um tubo de metal conectado a um funil, erguido sobre uma haste metálica. O funil continha água deionizada e a altura a partir da superfície da água ajustada para 15 cm, o que resultou em uma pressão de 15 cm de H₂O (Sauro et al., 2007; Hiraishi et al., 2009). Isto permitiu que a câmara pulpar fosse preenchida com água deionizada para simular a condição in vivo da dentina completamente hidratada. A segunda cânula ficou responsável pela comunicação entre a câmara pulpar e outro tubo de polietileno que levou o fluxo de água para outro reservatório (Goodis et al., 1997). Metade dos espécimes foi submetida à técnica restauradora sem simulação de pressão pulpar.

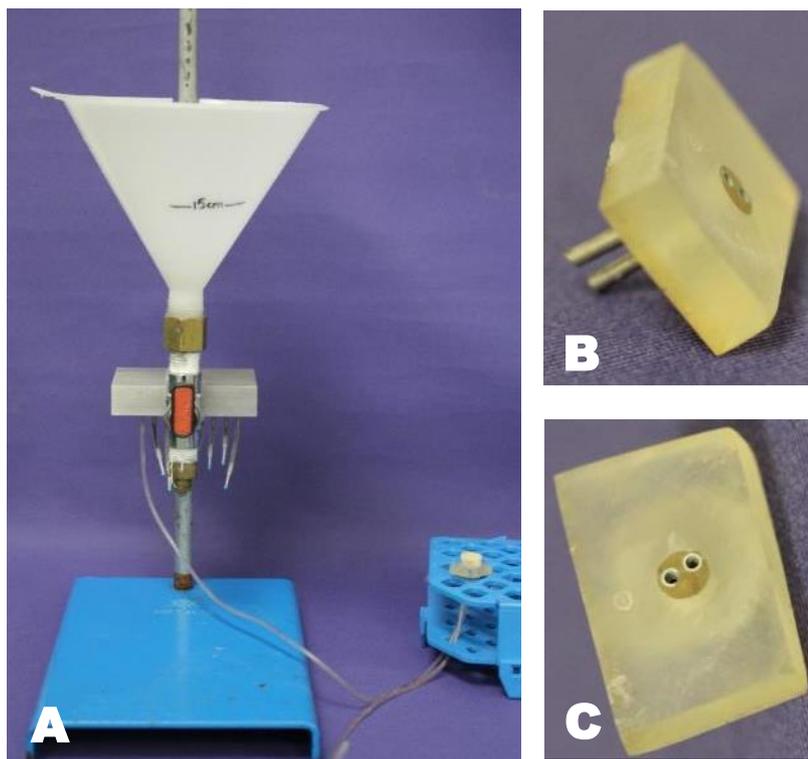


Figura 3 – A) Dispositivo para simulação de pressão pulpar; B) Vista lateral da base de resina com tubos de metal anexado; C) Vista frontal da base de resina.

4.5 Técnica restauradora

Em todos os dentes, a dentina foi condicionada com gel de ácido fosfórico 37%. Em seguida, foi lavada por 15 s e o excesso de água removido com papel absorvente.

No **GC**, controle, a dentina não sofreu nenhum tratamento antes da aplicação do sistema adesivo.

Para os demais grupos (**CHX** e **PA**), cada solução correspondente foi aplicada ativamente por 30 s e o excesso removido com papel absorvente, antes da aplicação do sistema adesivo.

Em seguida, foi realizada a aplicação do sistema adesivo Single Bond Universal em todos os grupos, do modo recomendado pelo fabricante: aplicação ativa por 20 s, secagem com leve jato de ar por 5 s, fotopolimerização por 10 s.

Após a aplicação do sistema adesivo, foram adicionados 3 incrementos de 1,5 mm de espessura de resina composta Filtek Z250. Estes foram fotoativados, um de cada vez, por 20 s, a uma distância padronizada, com o aparelho fotopolimerizador de LED, emissor de luz azul, comprimento de onda que varia entre 440 nm a 480 nm com uma densidade de potência de 1200 mW/cm² (Radii-cal, SDI, Victoria, Austrália). A técnica restauradora pode ser observada na figura 4.

Após a aplicação da resina composta, o dispositivo para simulação de pressão pulpar foi removido.

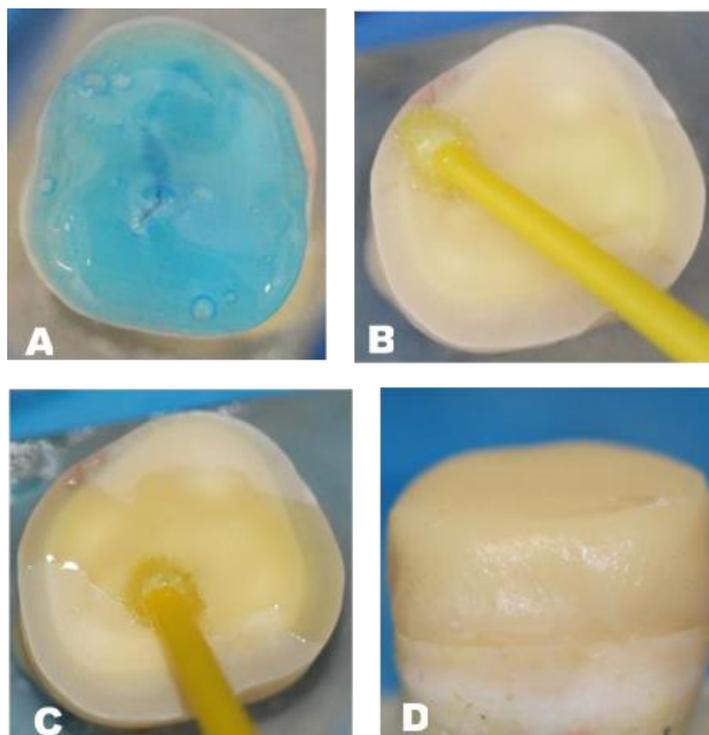


Figura 4 – Técnica restauradora. A) Condicionamento ácido; B) Secagem com papel absorvente; C) Aplicação da solução correspondente; D) Aplicação do adesivo; E) Fotopolimerização; F) Restauração finalizada.

4.6 Envelhecimento

Os espécimes pertencentes ao subgrupo **I** foram armazenados por 24 h em água deionizada.

No subgrupo **C**, os espécimes foram submetidos ao desgaste térmico para simulação do envelhecimento ocorrido na cavidade bucal, por meio da termocicladora Ethik (Ethiktechnology, Vargem Grande Paulista, SP, Brasil). As amostras foram submetidas a 15000 ciclos térmicos com banhos em água durante 15 s em temperatura de $5 \pm 2^\circ\text{C}$ e 15 s em temperatura de $55 \pm 2^\circ\text{C}$.



Figura 5 – Cicladora Térmica

4.7 Teste de microtração

Ao final do envelhecimento, todas as amostras por foram fixadas a uma base de resina acrílica transparente ativada quimicamente (Jet-Clássico, São Paulo, SP, Brasil), com cera pegajosa (Figura 6A). Após a fixação, foram seccionadas com o auxílio de uma cortadeira de precisão (Labcut, Extec, Enfield, CT, EUA) em prismas de secção quadrangular com dimensões aproximadas de 1 mm x 1 mm de base (Figura 6B e 6C).

Após a obtenção dos palitos, a área da interface adesiva foi medida com o paquímetro digital (Starret Indústria e Comércio Ltda., Itu, SP, Brasil) (Figura 6D). Os palitos foram fixados individualmente pelas suas extremidades com cianoacrilato em gel (Loctite 454, Henkel) no dispositivo de microtração metálico (Figura 6E), para realização do ensaio de microtração na máquina de ensaios universais (DL-200MF, EMIC, São José dos Pinhais- PR, Brasil) (Figura 7A), com uma célula de carga de 10

kg, a uma velocidade de 1 mm/min (Figura 6E). No momento da fratura, o teste foi automaticamente interrompido (Figura 6F).

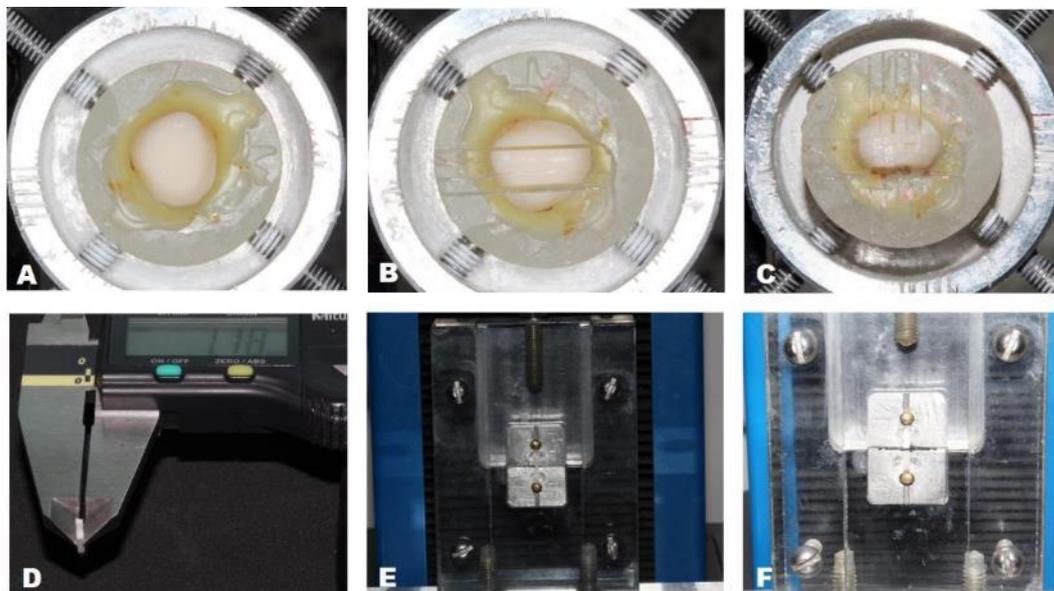


Figura 6 – A) Amostra fixada sobre resina acrílica; B) Corte longitudinal da amostra; C) Corte transversal da amostra; D) Paquímetro medindo palito; E) Palito colado no dispositivo de metal na máquina de testes universais; F) Palito fraturado.

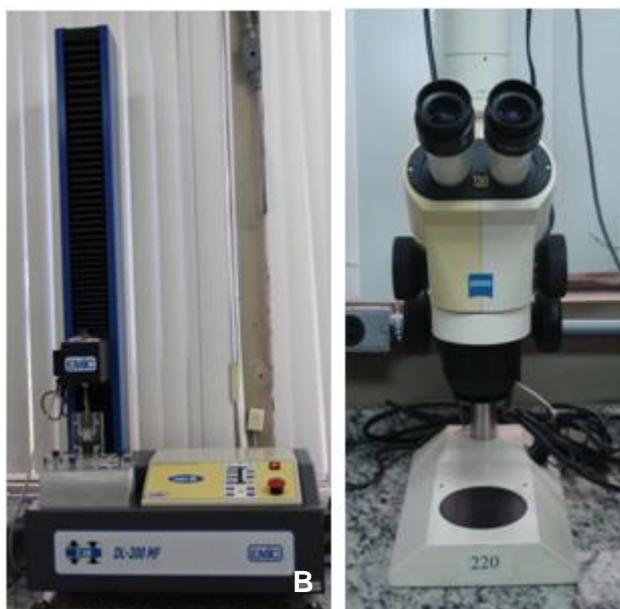


Figura 7 – A) Máquina de ensaios universais; B) Estereomicroscópio óptico.

Ao final do ensaio as partes fraturadas foram analisadas quanto ao padrão de fratura em estereomicroscópio óptico (Stemi 2000-C, ZEISS, Oberkochen, Alemanha) (Figura 7B), e classificadas em fratura coesiva em resina, coesiva em dentina, adesiva e mista. As falhas pré-teste não foram consideradas.

4.8 Análise ilustrativa por Microscopia Eletrônica de Varredura

Foram separadas durante o corte em cortadeira de precisão 2 fatias de dente por grupo e após o teste de microtração, 2 palitos fraturados de cada grupo classificados fratura adesiva, considerando a parte de dentina. As fatias selecionadas foram inicialmente limpas com a aplicação por 5 s de ácido fosfórico sem sílica a 37% (Bac Etch 37%, Bisco Inc, Schaumburg, IL, EUA), lavadas e secas com jato de ar.

Tanto as fatias como os palitos foram desidratados em sílica coloidal por 7 dias e posteriormente montados em *stubs*, onde foi realizada a deposição de liga de ouro com o aparelho SC7620 Mini Sputer Coater and Glow Discharge System (Quorum Technologies, East Sussex, United Kingdom) (Figura 8A). Seguiu-se a observação em um microscópio eletrônico de varredura Inspect S50 (FEI, Hillsboro, Oregon, USA)(Figura 8B), com 20 kV de potência, para fins ilustrativos.

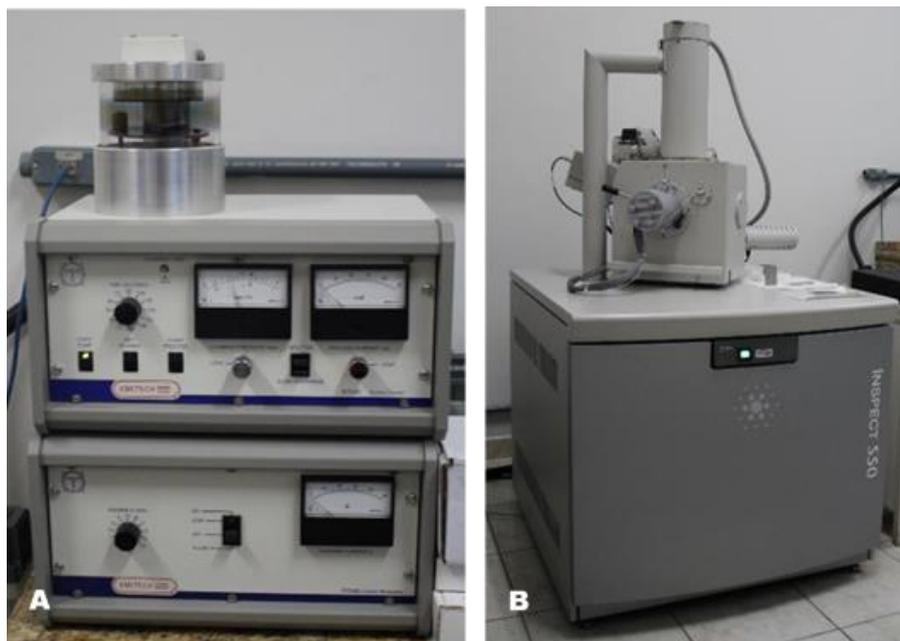


Figura 8 – A) SC7620; B) Inspect S50.

4.9 Planejamento estatístico

As seguintes hipóteses de nulidade foram testadas:

- H_{0A}: a simulação de pressão pulpar não interfere na resistência adesiva;
- H_{0B}: as soluções aplicadas não interferem na resistência de união entre dentina e resina;
- H_{0C}: o envelhecimento artificial não interfere na resistência de união entre dentina e resina;

Os dados de resistência adesiva (MPa) foram analisados estatisticamente, sendo avaliados quanto à sua normalidade, através do teste de Kolmogorov-Smirnov. Como estes apresentaram uma distribuição normal, seguiu-se a aplicação do teste de análise de variância a 3 fatores e o teste de Tukey. Para a tomada de decisões, foi adotado $\alpha=5\%$.

5 RESULTADOS

A tabela 1 mostra os valores de média e desvio-padrão de resistência de união (MPa) para cada subgrupo.

Tabela 1 – Média e desvio-padrão para cada subgrupo

SOLUÇÃO	PRESSÃO PULPAR	ENVELHECIMENTO	MÉDIA ± (DP)
GC	CPP	C	22,55 (2,96)
CLX	CPP	C	24,54 (4,70)
PA	CPP	C	27,14 (3,04)
GC	SPP	C	33,02 (2,97)
CLX	SPP	C	30,45 (4,66)
PA	SPP	C	31,05 (3,65)
GC	CPP	I	33,03 (2,79)
CLX	CPP	I	31,67 (3,75)
PA	CPP	I	36,21 (3,43)
GC	SPP	I	37,73 (3,44)
CLX	SPP	I	35,74 (3,51)
PA	SPP	I	29,91 (2,34)

Os resultados do teste de ANOVA 3 fatores para avaliação da resistência de união encontram-se na tabela 2. Nela, pode-se observar que houve diferença estatisticamente significativa para os fatores pressão pulpar ($p=0,00$) e envelhecimento ($p=0,00$), mas não para o fator solução ($p=0,46$).

Tabela 2 – Resultado da ANOVA 3 Fatores

FATORES	DF	MS	F	p*
Solução	2	9,60	0,78	0,46
Pressão Pulpar	1	431,50	35,15	0,00*
Envelhecimento	1	1053,00	85,78	0,00*
Solução X Pressão Pulpar	2	203,50	16,58	0,00*
Solução X Envelhecimento	2	33,60	2,74	0,07
Pressão Pulpar X Envelhecimento	1	265	21,59	0,00*
Solução X Pressão Pulpar X Envelhecimento	2	44	3,58	0,03*

*Diferenças significativas

A tabela 3 mostra os resultados do teste de Tukey para o fator Pressão Pulpar. Nota-se que a simulação de pressão pulpar causou redução estatisticamente significativa dos valores de resistência de união, sendo o valor da média CPP (com pressão pulpar) inferior ao SPP (sem pressão pulpar).

Tabela 3 – Resultado do Teste de Tukey para o fator Pressão Pulpar

Pressão	Média (MPa)	±dp	Conjuntos Homogêneos*
CPP	29,19	5,92	A
SPP	32,98	4,43	B

*Grupos com letras diferentes apresentam diferenças significantes entre si.

A tabela 4 mostra os resultados do teste de Tukey para o fator Envelhecimento. Observa-se que a ciclagem causou redução estatisticamente

significante dos valores de resistência de união, sendo a média para Ciclados 28,12 e para Imediato 34,05.

Tabela 4 – Resultado do Teste de Tukey para Fator Envelhecimento

Envelhecimento	Média (MPa)	±dp	Conjuntos Homogêneos*
Ciclados	28,12	5,18	A
Imediato	34,05	4,16	B

*Grupos com letras diferentes apresentam diferenças significantes entre si.

A tabela 5 mostra os resultados do teste de Tukey para a interação entre os fatores Solução e Pressão Pulpar. Nela, pode-se observar que os menores valores foram encontrados para os grupos GC.CPP e CLX.CPP.

Tabela 5 – Resultado do Teste de Tukey para a interação entre os fatores Solução e Pressão Pulpar

Solução	Pressão	Média (MPa)	Conjuntos Homogêneos*	
GC	CPP	27,79	A	
CLX	CPP	28,11	A	
PA	SPP	30,48	A	B
PA	CPP	31,67	B	
CLX	SPP	33,09	B	C
GC	SPP	35,37	C	

*Grupos com letras diferentes apresentam diferenças significantes entre si.

A tabela 6 mostra os resultados do teste de Tukey para a interação entre os fatores Pressão Pulpar X Envelhecimento. Pode-se observar que os menores valores de resistência de união foram encontrados para os grupos submetidos à simulação de pressão pulpar e ciclados (CPP.C).

Tabela 6 – Resultado do Teste de Tukey para a interação entre os fatores Pressão Pulpar e Envelhecimento

Pressão	Envelhecimento	Média (MPa)	Conjuntos Homogêneos*	
CPP	C	24,74	C	
SPP	C	31,50	A	
CPP	I	33,67	A	B
SPP	I	34,46	B	

*Grupos com letras diferentes apresentam diferenças significantes entre si.

A tabela 7 mostra os resultados do teste de Tukey para a interação entre os fatores Solução X Pressão Pulpar X Envelhecimento. Nela, podemos observar que os menores valores de resistência de união foram observados para os grupos GC, CLX e PA, submetidos à simulação de pressão pulpar e ciclados.

Tabela 7 – Resultado do Teste de Tukey para a interação entre os fatores Solução, Pressão Pulpar e Envelhecimento

Solução	Pressão	Envelhecimento	Média (MPa)	Conjuntos Homogêneos*		
GC	CPP	C	22,55	E		
CLX	CPP	C	24,54	E		
PA	CPP	C	27,13	C		E
PA	SPP	I	29,91	A	C	
CLX	SPP	C	30,45	A	C	
PA	SPP	C	31,05	A	B	C
CLX	CPP	I	31,67	A	B	C
GC	SPP	C	33,01	A	B	D
GC	CPP	I	33,03	A	B	D
CLX	SPP	I	35,74	B		D
PA	CPP	I	36,21	B		D
GC	SPP	I	37,72	D		

*Grupos com letras diferentes apresentam diferenças significantes entre si.

A tabela 8 mostra a porcentagem de tipos de fratura dos palitos após o teste de microtração, para cada subgrupo. Observa-se que houve predominância dos tipos de fratura adesiva e mista, sobre os tipos coesivas.

Tabela 8 - Porcentagem de tipos de fratura após teste de microtração para cada subgrupo

Tipo de Fratura Grupo	CD	CR	A	M
GC SPP I	19,64%	19,64%	51,79%	8,93%
GC CPP I	22,22%	34,92%	38,10%	4,76%
CLX SPP I	18,52%	20,37%	50,00%	11,11%
CLX CPP I	11,11%	22,22%	37,50%	29,17%
PA SPP I	0,00%	7,46%	92,54%	0,00%
PA CPP I	9,09%	40,91%	34,09%	15,91%
GC SPP C	28,57%	28,57%	39,29%	3,57%
GC CPP C	12,07%	29,31%	56,90%	1,72%
CLX SPP C	12,31%	27,69%	53,85%	6,15%
CLX CPP C	4,55%	27,27%	65,15%	3,03%
PA SPP C	18,03%	26,23%	47,54%	8,20%
PA CPP C	8,96%	22,39%	65,67%	2,99%

A – Adesiva; CD – Coesiva em dentina; CR – Coesiva em resina; M – Mista.

As figuras de 9 a 31 mostram fotomicrografias de MEV da superfície dentinária de palitos após serem classificados como fratura adesiva de todos os grupos.

Na figura 9, no palito do subgrupo GC.SPP.I, podemos observar tanto no aumento de 2000X como no de 5000X que a dentina permaneceu com os túbulos obliterados pelos TAGs de resina.

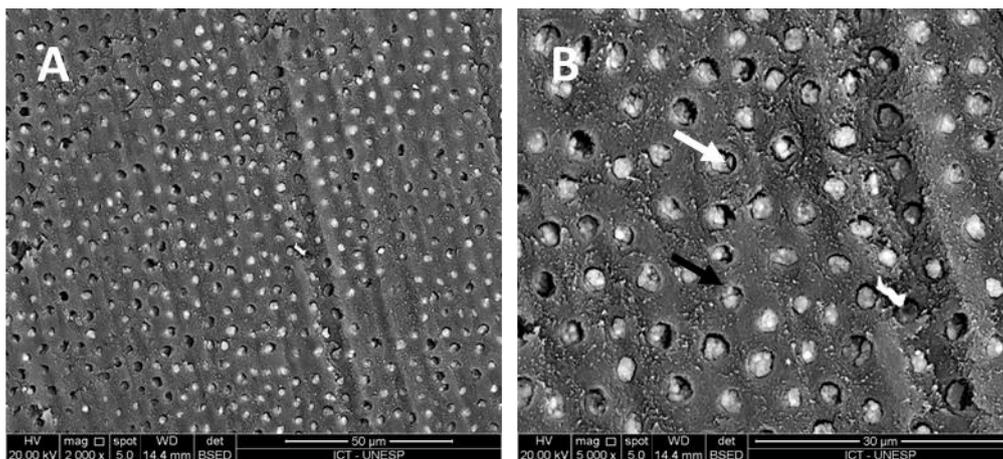


Figura 9 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o GC.SPP.I. A) Aumento de 2000X ; B)Aumento de 5000X. Seta branca – TAG , seta preta- túbulo dentinário.

Na figura 10A, no palito do subgrupo CLX.SPP.I, observa-se no aumento de 2000X, que a dentina permaneceu com os túbulos obliterados pelos TAGs de resina, além de parte da camada de adesivo. Na figura 10B, observa-se além disso a trama de colágeno.

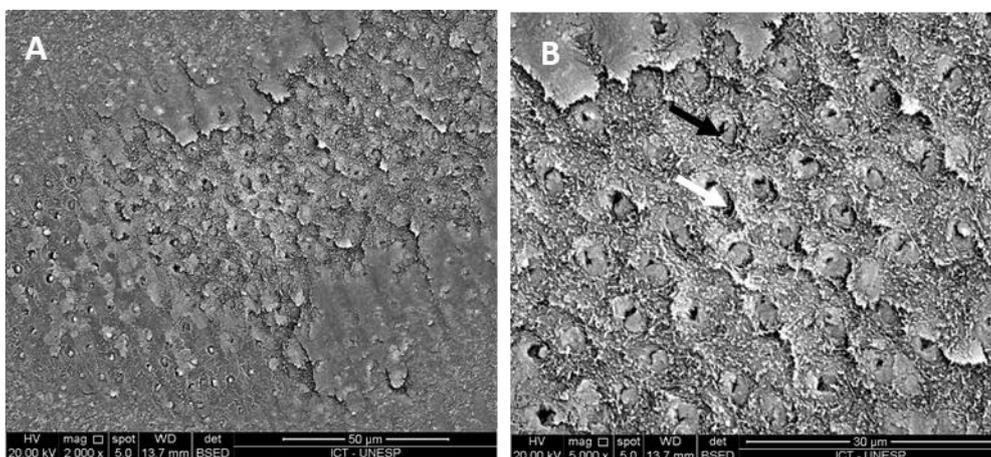


Figura 10 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o CLX.SPP.I. A) Aumento de 2000X ; B)Aumento de 5000X
Seta branca – TAG , seta preta- túbulo dentinário.

Na figura 11, ainda no subgrupo CLX.SPP.I, observa-se no aumento de 10000X, que a dentina permaneceu com os túbulos obliterados pelos TAGs de resina e a trama de colágeno.

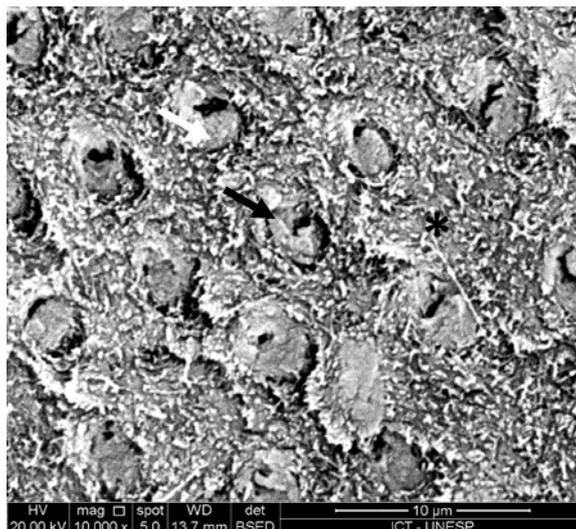


Figura 11 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o CLX.SPP.I. Aumento de 10000X. Seta branca – TAG , seta preta- túbulo dentinário, asterisco – fibras colágenas

Na figura 12A, no palito do subgrupo PA.SPP.I, observa-se no aumento de 2000X, que a dentina permaneceu com os túbulos obliterados pelos TAGs de resina, além de parte da camada de adesivo. Na figura 12B, aumento de 5000X.

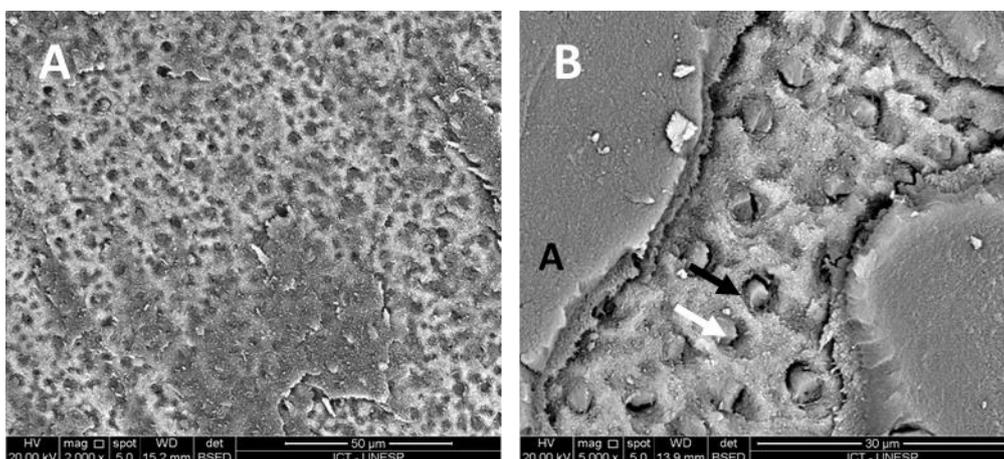


Figura 12 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o PA.SPP.I. A) Aumento de 2000X ; B)Aumento de 5000X. Seta branca – TAG , seta preta- túbulo dentinário, A – adesivo.

Na figura 13, ainda no subgrupo PA.SPP.I, observa-se no aumento de 10000X, que a dentina permaneceu com os túbulos obliterados pelos TAGs de resina, a trama de colágeno e parte da camada de adesivo.



Figura 13- Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o PA.SPP.I. Aumento de 10000X. Seta branca – TAG , seta preta- túbulo dentinário, asterisco – fibras colágenas

Na figura 14, no palito do subgrupo GC.CPP.I, observa-se que os túbulos dentinários permaneceram com TAGs em seu interior, além da trama de colágeno. Na figura 14A, aumento de 2000X; figura 14B, aumento de 5000X.

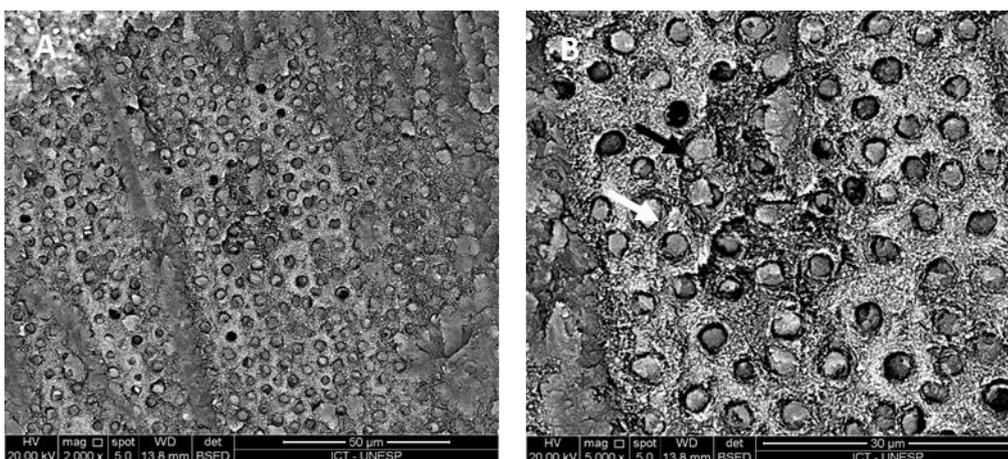


Figura 14- Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o GC.SPP.I. A) Aumento de 2000X ; B)Aumento de 5000X. Seta branca – TAG , seta preta- túbulo dentinário.

A figura 15 mostra o subgrupo GC.CPP.I, no aumento de 10000X.

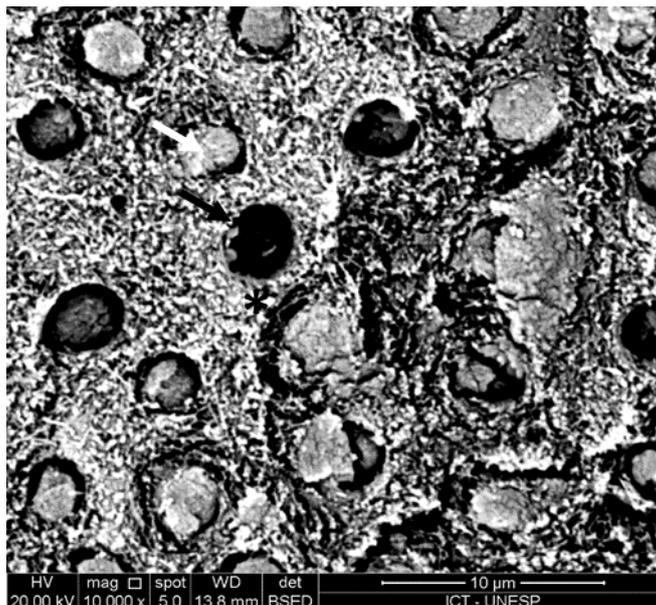


Figura 15- Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o PA.SPP.I. Aumento de 10000X. Seta branca – TAG , seta preta- túbulo dentinário, asterisco – fibras colágenas.

Na figura 16A, no palito do subgrupo CLX.CPP.I, observa-se no aumento de 2000X, a luz dos túbulos dentinários, sem a presença de TAGs resinosos. Na figura 16B, aumento de 5000X, alguns túbulos obliterados por TAGs e outros expostos, além de parte da camada de adesivo.

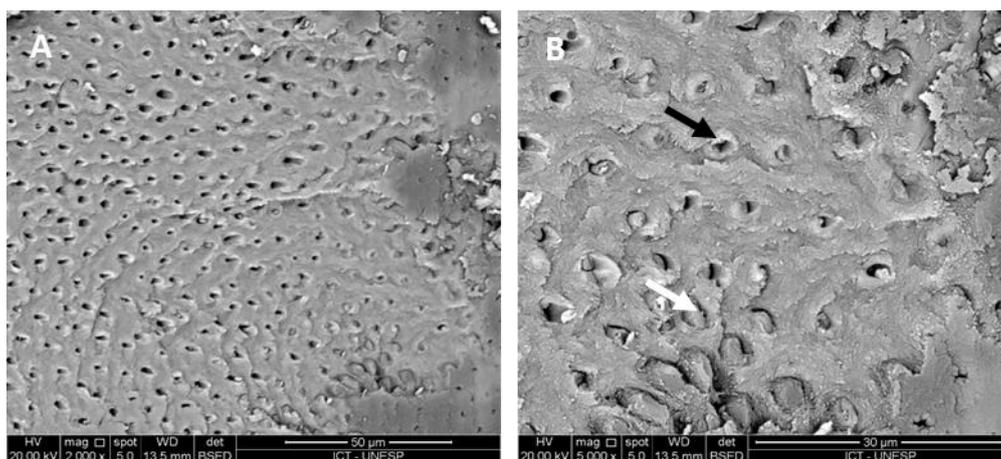


Figura 16 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o CLX.CPP.I. A) Aumento de 2000X ; B)Aumento de 5000X. Seta branca – TAG , seta preta- túbulo dentinário.

Na figura 17, no subgrupo CLX.CPP.I, observa-se no aumento de 10000X, que a dentina permaneceu com os túbulos obliterados pelos TAGs de resina, a trama de colágeno e parte da camada de adesivo.

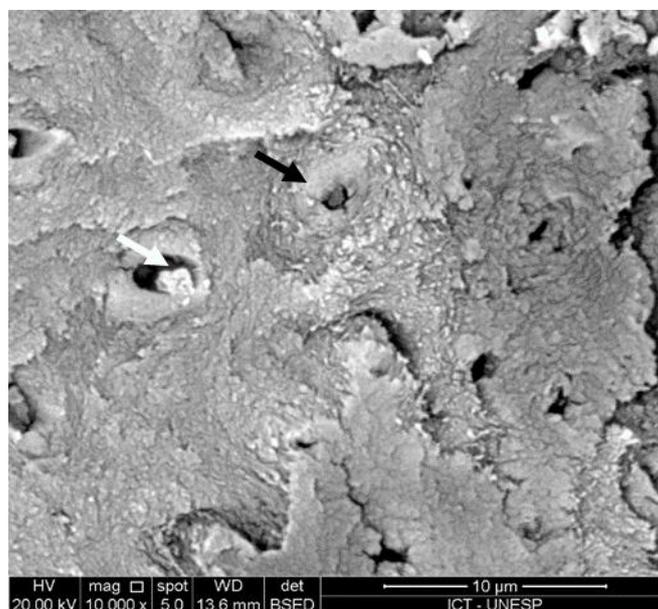


Figura 17 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o CLX.CPP.I. Aumento de 10000X. Seta branca – TAG , seta preta- túbulo dentinário.

Na figura 18, no palito do subgrupo PA.CPP.I, observa-se que parte dos túbulos dentinários permaneceu com os TAGs de resina e parte ficou exposto. Também é possível visualizar parte da camada de adesivo. Aumento de 2000X (A) e de 5000X (B).

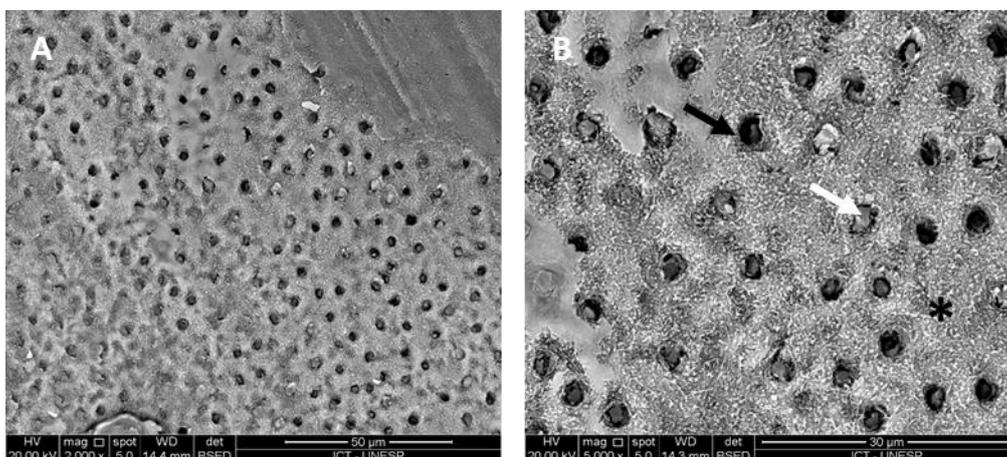


Figura 18- Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o PA.CPP.I. A) Aumento de 2000X ; B)Aumento de 5000X. . Seta branca – TAG , seta preta- túbulo dentinário, asterisco – fibras colágenas.

A figura 19 mostra o subgrupo PA.CPP.I, no aumento de 10000X.

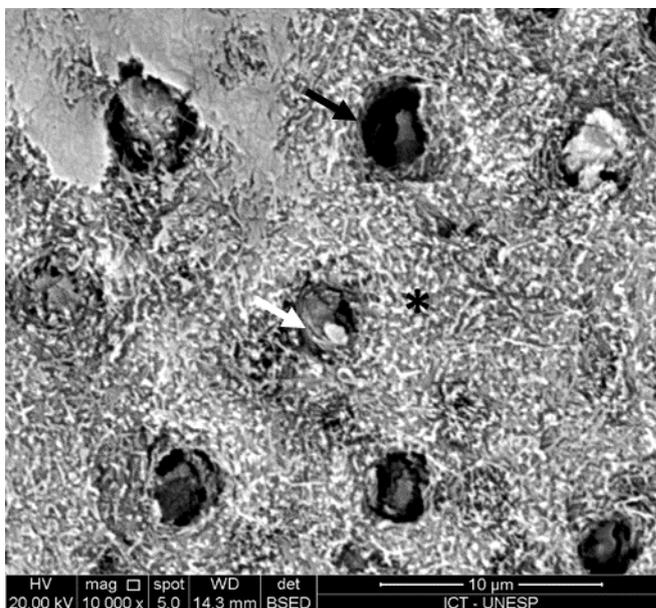


Figura 19 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o PA.CPP.I. Aumento de 10000X. .Seta branca – TAG , seta preta- túbulo dentinário, asterisco – fibras colágenas.

As figuras 20 e 21 mostram o subgrupo GC.SPP.C. Pode-se observar áreas com túbulos obliterados e áreas com túbulos expostos. Figura 20, aumento de 2000X. Figura 21A e 21B, aumento de 5000X, C e D, aumento de 10000X, comparando as distintas áreas.

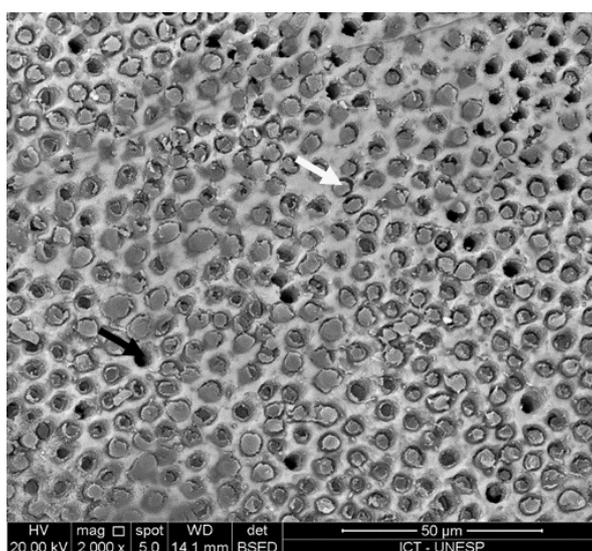


Figura 20 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o GC.SPP.C. Aumento de 2000X. Seta branca – TAG , seta preta- túbulo dentinário.

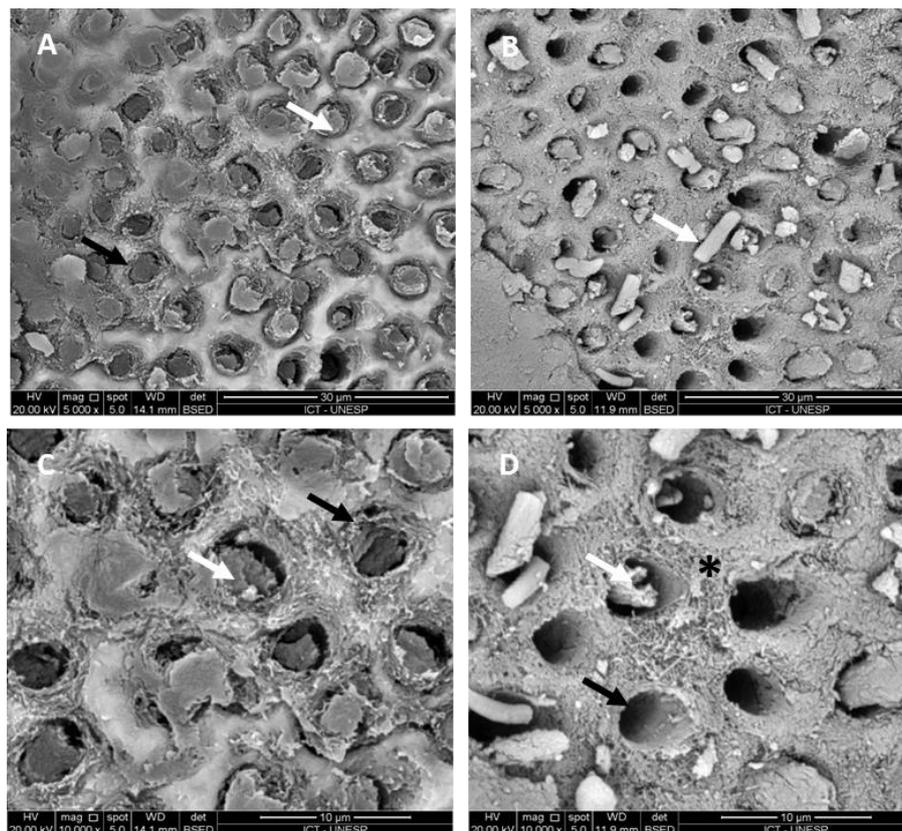


Figura 21 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o GC.SPP.C. A) e B), aumento de 5000X. C) e D), aumento de 10000X. Seta branca – TAG , seta preta- túbulo dentinário, asterisco – fibras colágenas.

Na figura 22, no palito do subgrupo CLX.SPP.C, observa-se que parte dos túbulos dentinários permaneceu com os TAGs de resina e parte ficou exposto. Nota-se também parte da camada de adesivo, a presença de TAGs de resina sobre a dentina e a trama de colágeno. Aumento de 2000X (A) e de 5000X (B). A figura 23 mostra o mesmo grupo no aumento de 10000X.

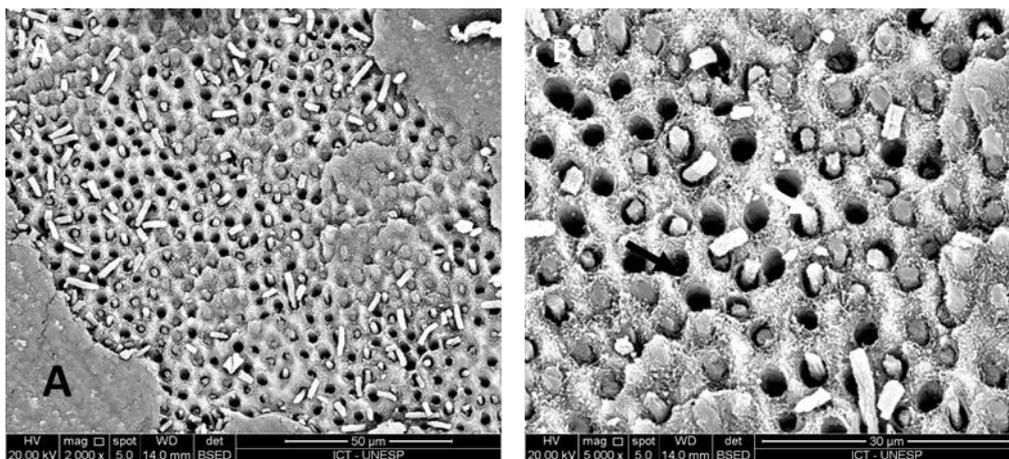


Figura 22 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o subgrupo CLX.SPP.C. A) Aumento de 2000X ; B)Aumento de 5000X. Seta branca – TAG , seta preta- túbulo dentinário, A - adesivo.

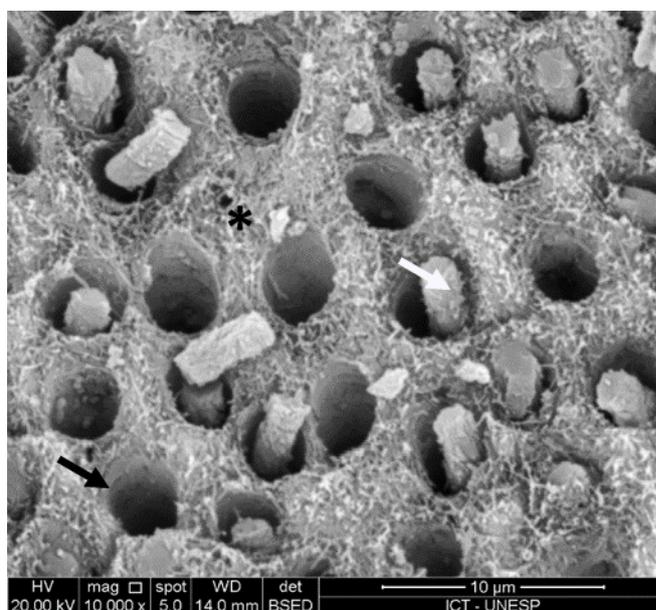


Figura 23 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o CLX.SPP.C. Aumento de 10000X. Seta branca – TAG , seta preta- túbulo dentinário, asterisco – fibras colágenas.

Na figura 24, no palito do subgrupo PA.SPP.C, observa-se que os túbulos dentinários permaneceram com os TAGs de resina em seu interior. Nota-se também parte da camada de adesivo e a trama de colágeno. Aumento de 2000X (A) e de 5000X (B). A figura 25 mostra o mesmo grupo no aumento de 10000X.

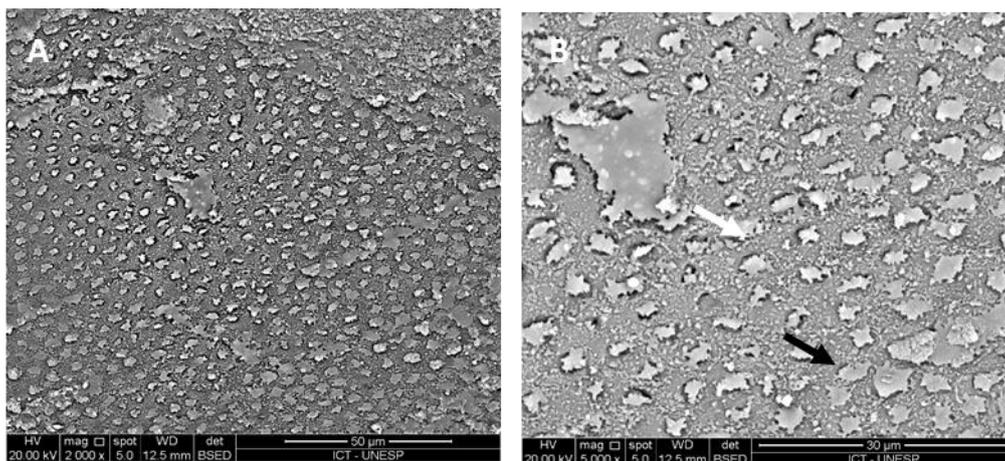


Figura 24 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o subgrupo PA.SPP.C. A) Aumento de 2000X ; B)Aumento de 5000X. Seta branca – TAG , seta preta- túbulo dentinário.

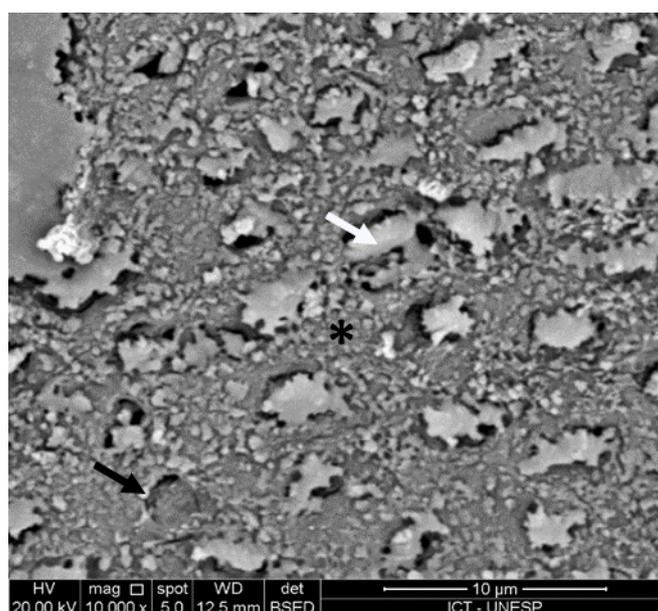


Figura 25 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o subgrupo PA.SPP.C., aumento de 10000X. Seta branca – TAG , seta preta- túbulo dentinário, asterisco – fibras colágenas.

Na figura 26, no palito do subgrupo GC.CPP.C, observa-se que parte dos túbulos dentinários permaneceu com os TAGs de resina em seu interior e parte ficou exposta. No aumento de 5000X (A), observa-se o topo da camada de adesivo. No aumento de 10000X (B), observa-se a trama de colágeno. Na figura 27 observa-se, no mesmo grupo no aumento de 10000X, bolhas na camada de adesivo.

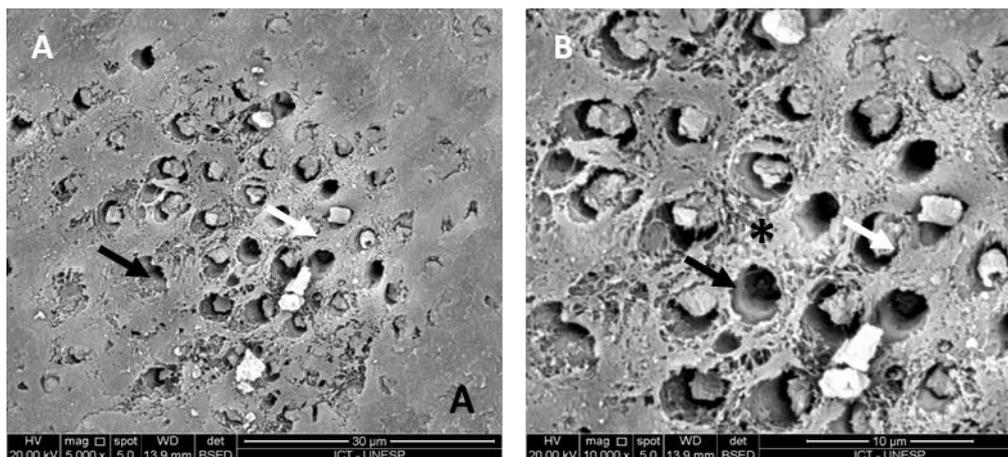


Figura 26 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o subgrupo GC.CPP.C. A) Aumento de 5000X ; B)Aumento de 10000X. Seta branca – TAG , seta preta- túbulo dentinário, asterisco – fibras colágenas; A - adesivo.

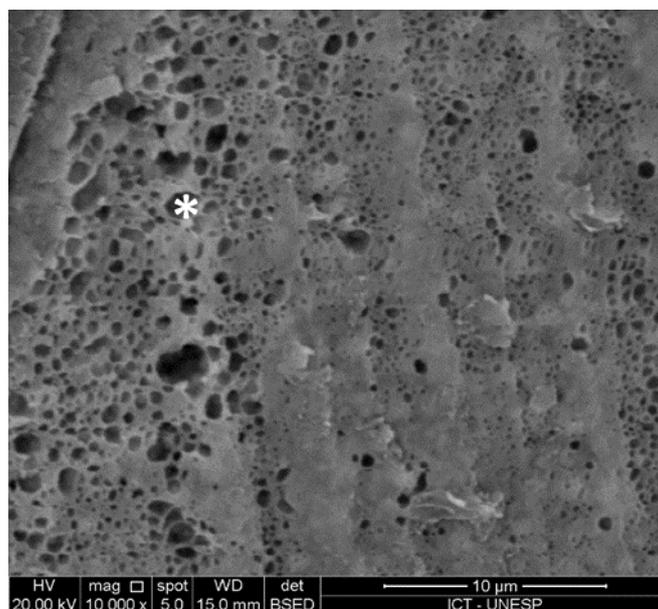


Figura 27 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o subgrupo GC.CPP.C., aumento de 10000X. Asterisco branco – bolhas na camada de adesivo.

Na figura 28, no palito do subgrupo CLX.CPP.C, observa-se que parte dos túbulos dentinários permaneceu com os TAGs de resina em seu interior e parte ficou exposta. No aumento de 2000X (A), observa-se o topo da camada de adesivo e as áreas com túbulos abertos e túbulos obliterados. No aumento de 5000X (B), observa-se a trama de colágeno e os túbulos dentinários abertos. A figura 29 mostra o mesmo grupo no aumento de 10000X.

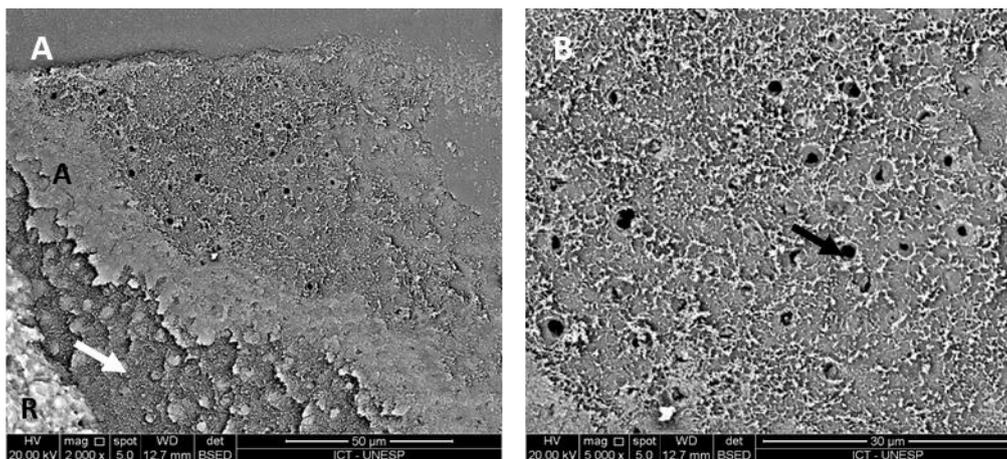


Figura 28- Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o subgrupo CLX.CPP.C. A) Aumento de 2000X ; B)Aumento de 5000X. Seta branca – TAG , seta preta- túbulo dentinário, A – adesivo; R – resina.

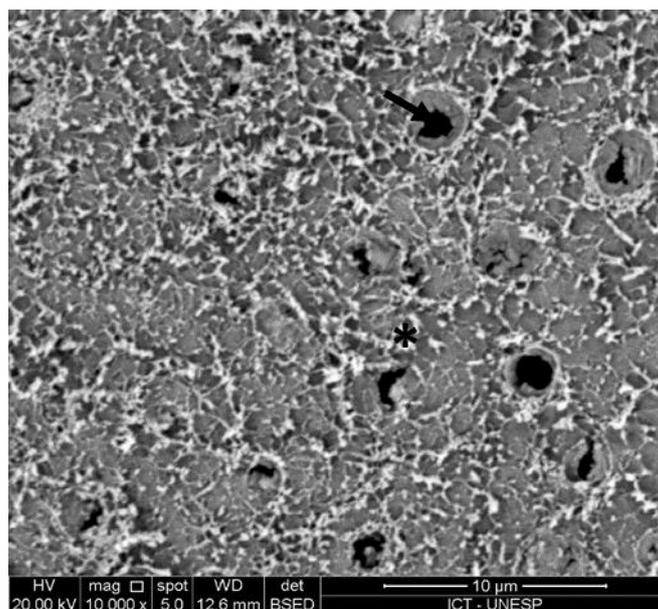


Figura 29- Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o subgrupo CLX.CPP.C, aumento de 10000X. Seta branca – TAG , seta preta- túbulo dentinário, asterisco – fibras colágenas.

Na figura 30, no palito do subgrupo PA.CPP.C, observa-se que a maior parte dos túbulos dentinários permaneceu com os TAGs de resina em seu interior, porém parte ficou exposta. Nota-se ainda a presença da trama de colágeno e de TAGs resinosos removidos do interior dos túbulos sobre a dentina. A figura 31 mostra o mesmo grupo no aumento de 10000X

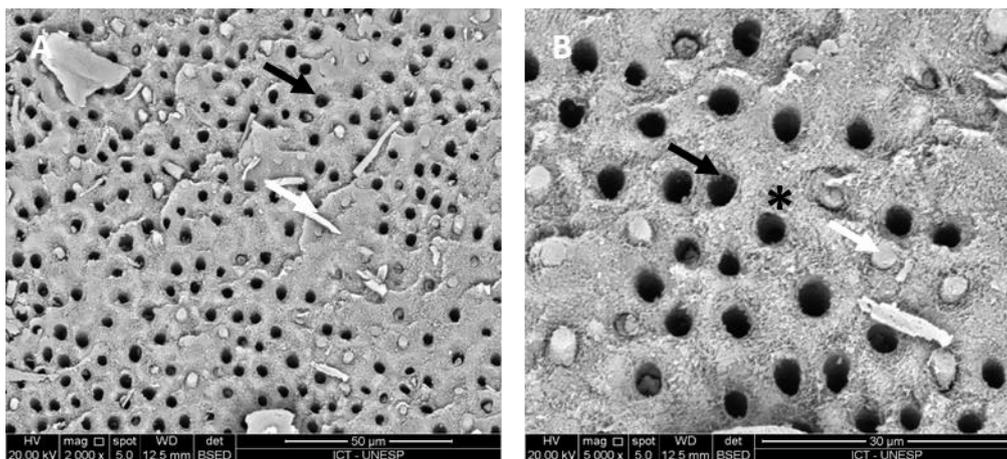


Figura 30 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o subgrupo PA.CPP.C. A) Aumento de 2000X; B) Aumento de 5000X. Seta branca – TAG, seta preta- túbulo dentinário, asterisco – fibras colágenas.

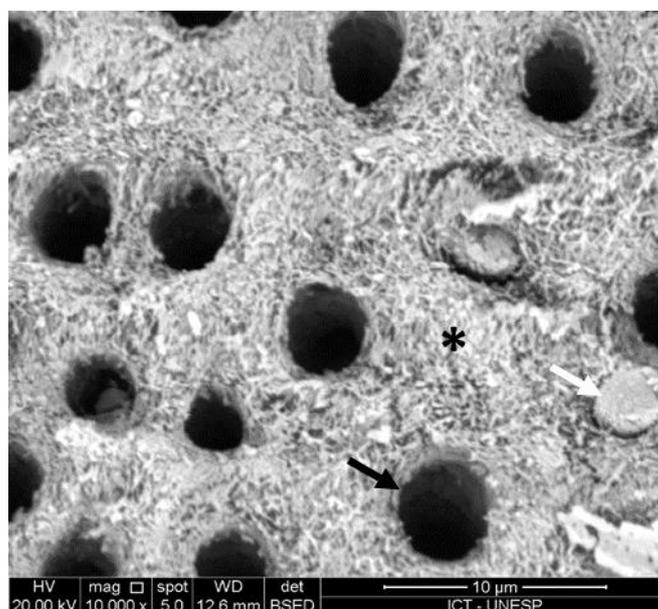


Figura 31 - Fotomicrografia de MEV da superfície dentinária de palitos após fratura avaliada como adesiva para o subgrupo PA.CPP.C, aumento de 10000X. Seta branca – TAG, seta preta- túbulo dentinário, asterisco – fibras colágenas.

As figuras 32 a 43 mostram fotomicrografias de MEV de fatias de dente de todos os subgrupos. Observa-se que em todos os grupos houve a formação da camada híbrida, com TAGs de resina invaginando para dentro dos túbulos dentinários. Nos grupos com pressão pulpar, nota-se que os TAGs não ficaram em íntimo contato com as paredes dos túbulos, mostrando-se mais afilados, o que pode ter ocorrido devido à presença da pressão pulpar simulada (Figuras 35, 36, 37, 41, 42, 43). Nas

fatias dos grupos GC.CPP.C e PA.CPP.C (Figuras 41 e 43) houve o descolamento da porção de resina devido ao vácuo gerado necessário para o processo de metalização e posteriormente pelo próprio microscopia eletrônico de varredura.

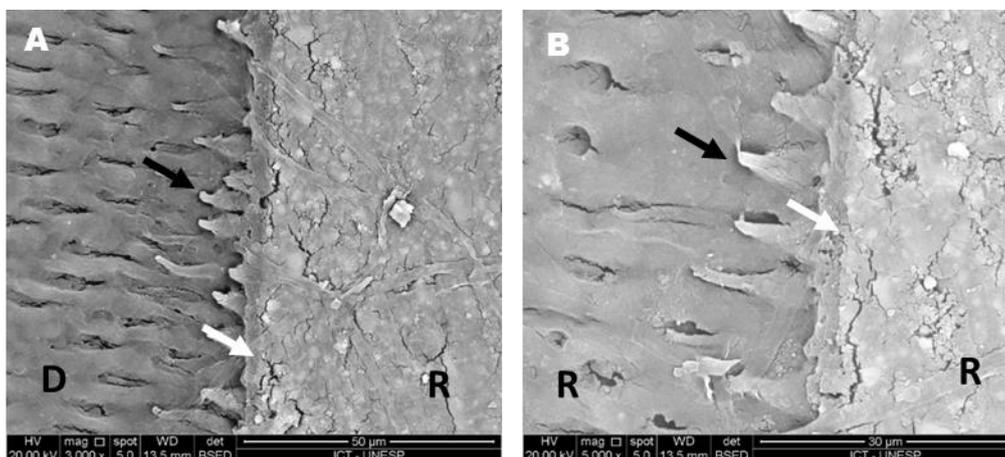


Figura 32 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo .GC.SPP.I. A) Aumento de 3000X; B)Aumento de 5000X. D – dentina, R-resina; seta preta – TAG, seta branca – adesivo.

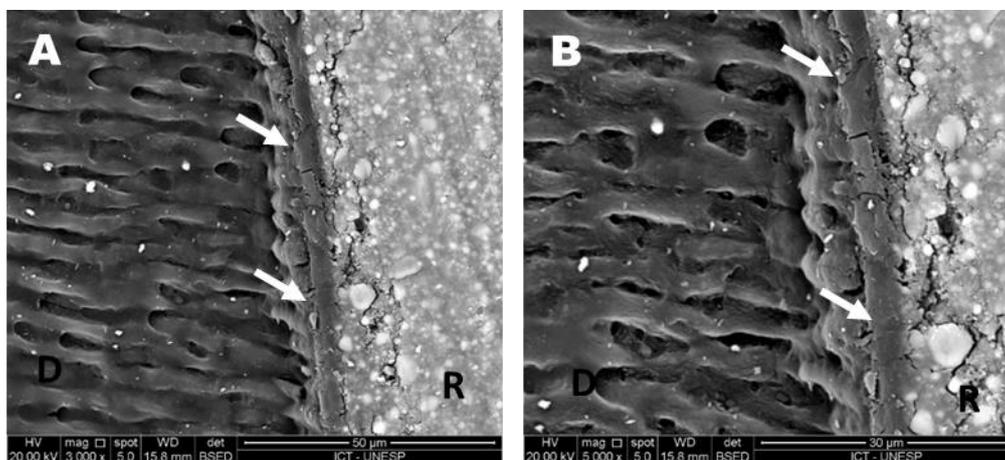


Figura 33 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo .CLX.SPP.I. A) Aumento de 3000X; B)Aumento de 5000X D – dentina, R-resina; seta preta – TAG, seta branca – adesivo.

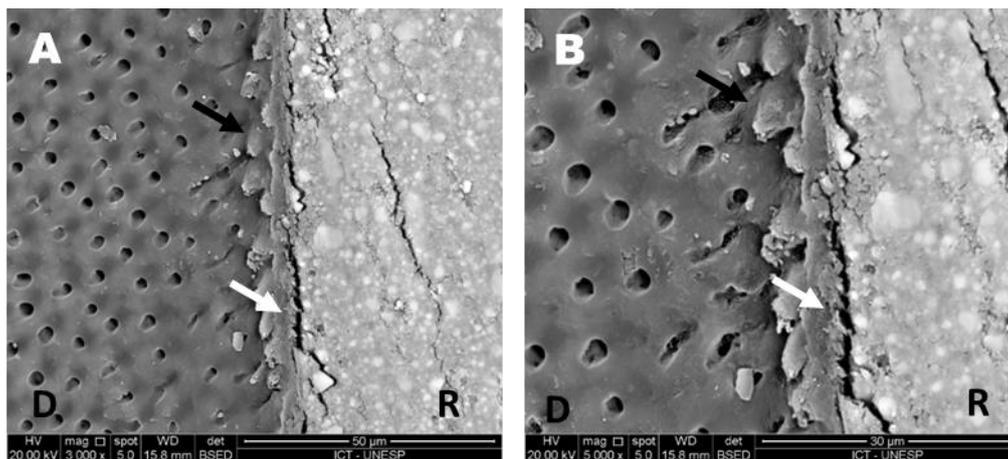


Figura 34 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo .PA.SPP.I. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X. D – dentina, R-resina; seta preta – TAG, seta branca – adesivo.

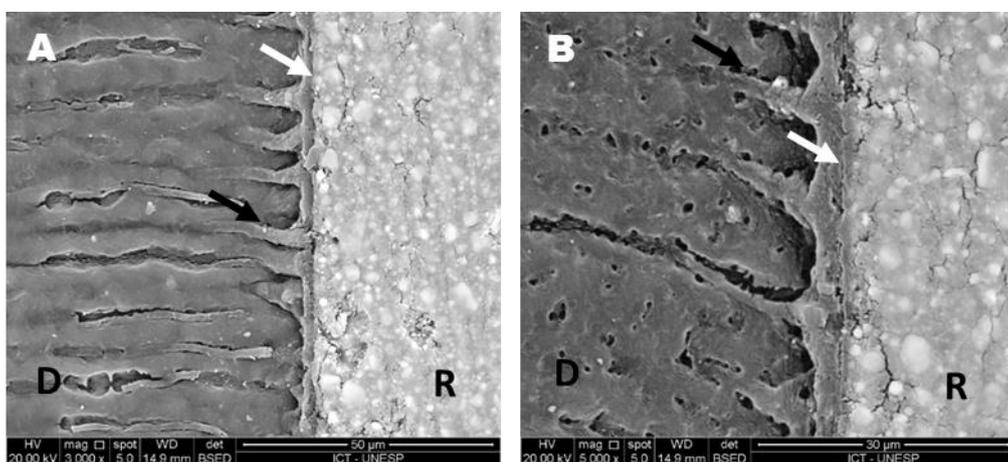


Figura 35 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo .GC.CPP.I. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X. D – dentina, R-resina; seta preta – TAG, seta branca – adesivo.

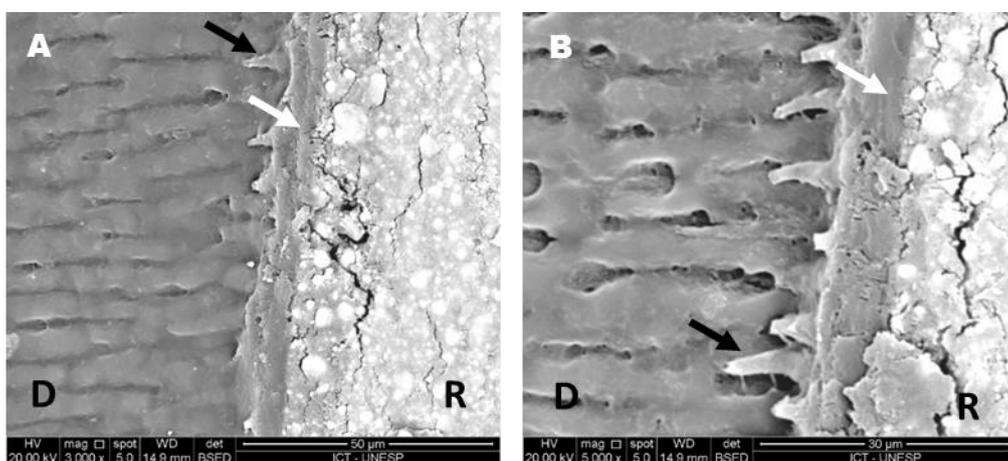


Figura 36 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo .CLX.CPP.I. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X D – dentina, R-resina; seta preta – TAG, seta branca – adesivo.

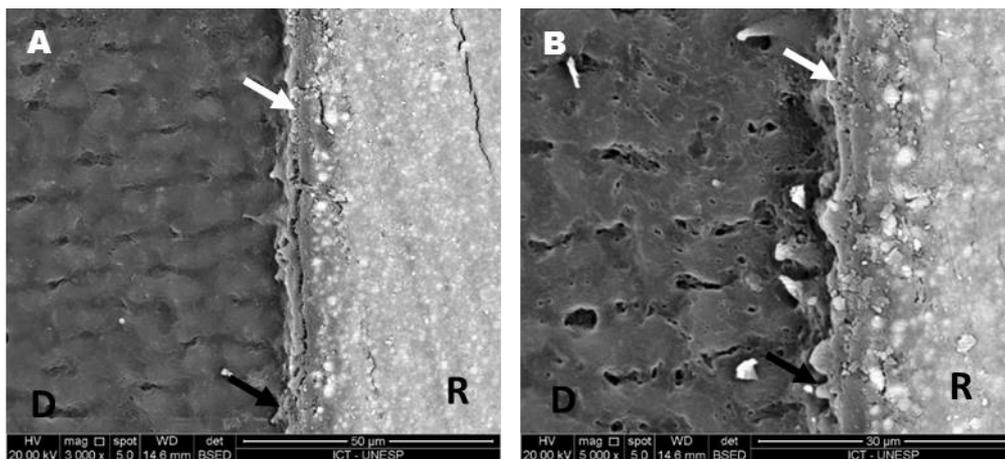


Figura 37 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo .PA.CPP.I. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X. D – dentina, R-resina; seta preta – TAG, seta branca – adesivo.

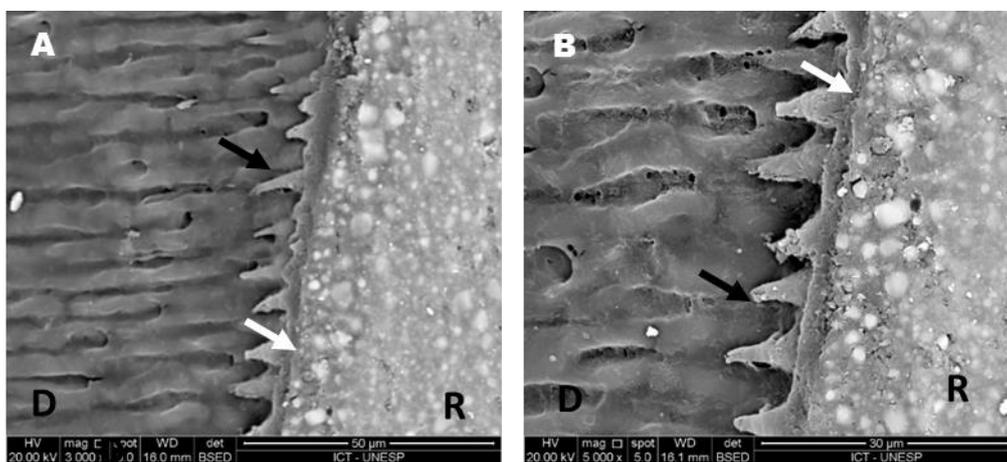


Figura 38 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo .GC.SPP.C. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X. D – dentina, R-resina; seta preta – TAG, seta branca – adesivo.

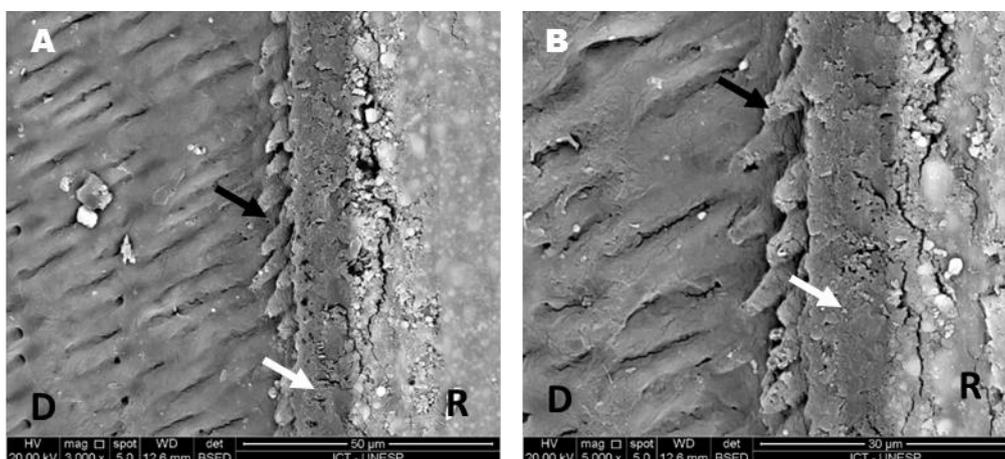


Figura 39 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo .CLX.SPP.C. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X. D – dentina, R-resina; seta preta – TAG, seta branca – adesivo.

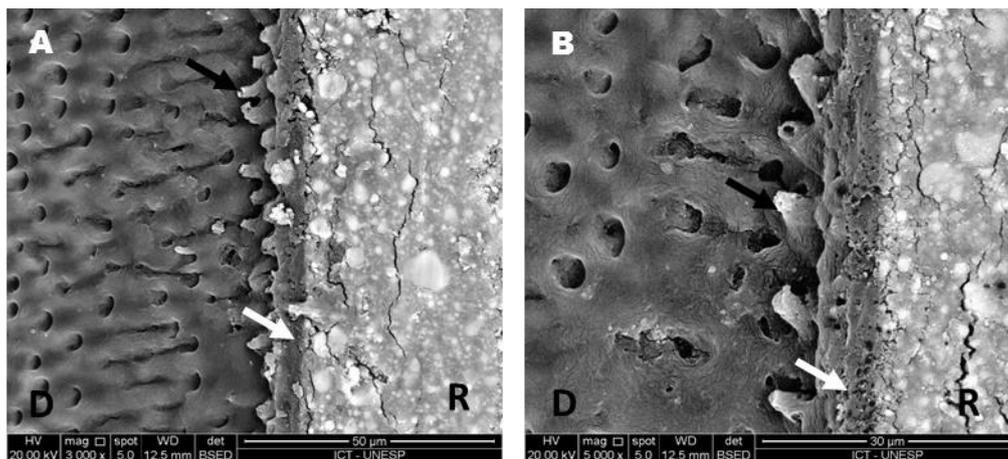


Figura 40 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo .PA.SPP.C. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X. D – dentina, R-resina; seta preta – TAG, seta branca – adesivo.

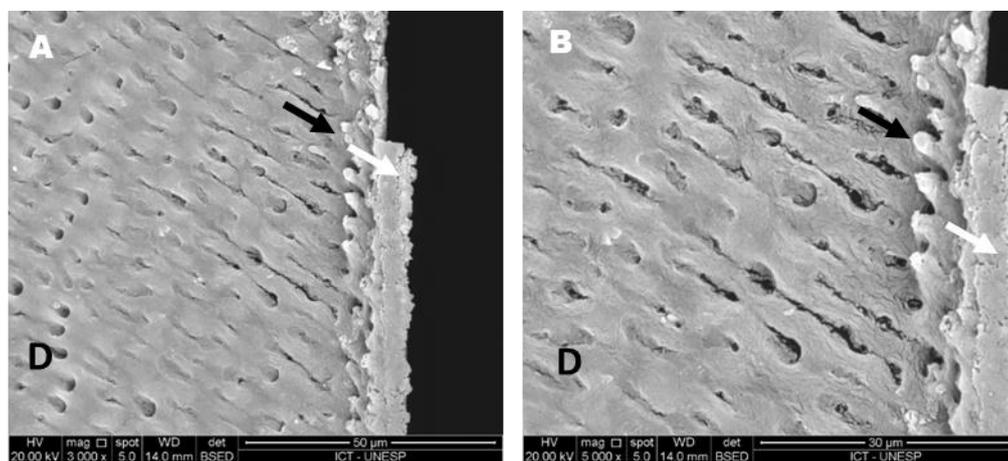


Figura 41 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo .GC.CPP.C. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X. D – dentina, seta preta – TAG, seta branca – adesivo.

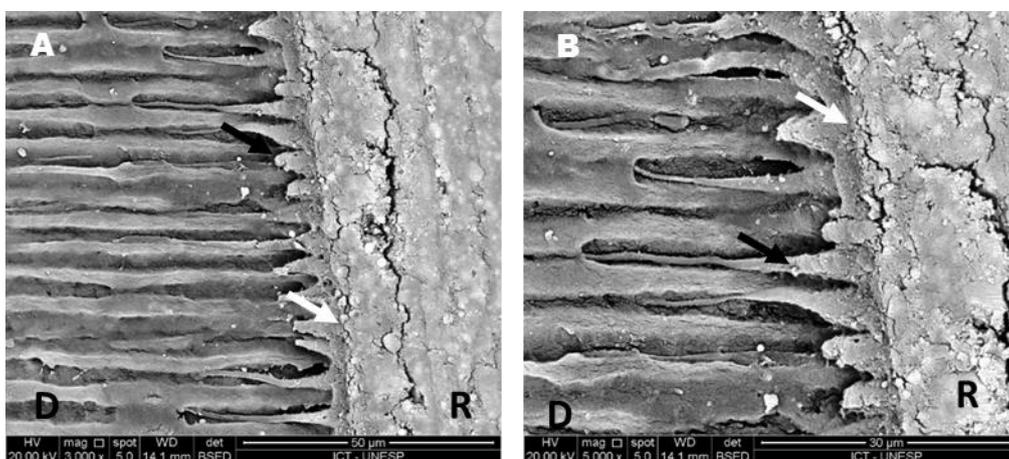


Figura 42 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo .CLX.CPP.C. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X. . D – dentina, R- resina; seta preta – TAG, seta branca – adesivo.

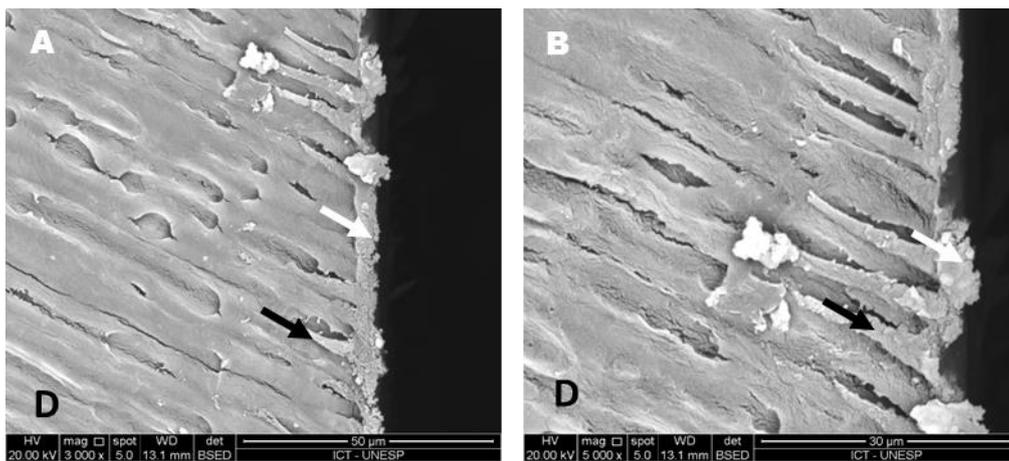


Figura 43 - Fotomicrografia de MEV de fatia de dente do subgrupo .PA.CPP.C. A) Aumento de 3000X; B) Aumento de 5000X. D – dentina, seta preta – TAG, seta branca – adesivo.

6 DISCUSSÃO

Os materiais restauradores devem resistir a um ambiente severo, que varia de paciente para paciente. Longevidade e eficiência são características que deveriam idealmente ser providas por cada produto. Contudo, estas propriedades são ainda objetivos a serem alcançados (Morressi et al., 2014).

Estudos clínicos longitudinais são o árbitro final da eficácia dos materiais restauradores dentais; contudo, são caros, gastam tempo e são difíceis de padronizar (Miyazaki et al., 2012). As condições nas quais os testes adesivos normalmente são realizados são bem distantes das condições clínicas reais, mas devem se aproximar o máximo possível delas. Testes realizados sob condições clinicamente relevantes podem prever melhor o comportamento das restaurações na cavidade oral (Figueiredo Reis et al., 2003).

Neste estudo, optou-se pela utilização de dentes humanos, ao invés de dentes bovinos. O lúmen dos túbulos dentinários bovinos apresenta uma média de diâmetro maior e uma densidade menor que a dentina humana, sugerindo que a dentina bovina não é um substituto adequado da dentina humana em investigações sobre adesão (Sanchez et al., 2009).

Utilizou-se neste estudo o teste de microtração para avaliar a resistência de união. Miyazaky et al. (2012) observaram que testes de resistência de união podem prover informação útil sobre possíveis mudanças nos processos, porém os valores gerados têm um significado limitado. Isso se deve à dispersão dos dados de resistência de união dentinária, ao se comparar os mesmos produtos em diversos estudos (Scherreer et al., 2010). Por isso, os resultados foram observados por A é melhor do que B, ao invés de comparações com os valores numéricos com outros estudos. Heintze et al. (2015) encontraram correlação positiva significativa entre mensurações de performance clínica e *in vitro* entre resistência à tração e descoloração marginal.

Neste estudo, utilizou-se o adesivo Single Bond Universal, que tem como solventes água e etanol. A água é removida com relativa facilidade com o uso de adesivos à base de acetona, pois seu azeótropo contém mais água e tem uma maior pressão de vapor. Por outro lado, nos adesivos à base de etanol, o solvente tem uma

maior habilidade de formar ligações de hidrogênio o que dificulta a eliminação da água do adesivo (Chen et al., 2015).

Durante os procedimentos adesivos com os sistemas adesivos de condicionamento total, é essencial manter a dentina ligeiramente úmida após o condicionamento ácido para prevenir o colapamento das fibras de colágeno e permitir a penetração do primer hidrofílico na trama de colágeno exposta (Feitosa et al, 2012). Contudo, nos dentes vitais, a pressão pulpar causa o fluxo do fluido dentinário dos túbulos dentinários para a superfície da cavidade. O excesso de umidade pode não só evitar a penetração do adesivo na dentina desmineralizada e nos túbulos dentinários, como também evitar a polimerização da resina, resultando numa diminuição das propriedades físicas da camada de adesivo (Kim et al., 2014).

Metade das amostras deste estudo foi submetida aos procedimentos adesivos sob simulação de pressão pulpar de 15 cm H₂O, porém com fluxo, em método descrito por Goodis et al. (1997) e modificado para este estudo. Ciucchi et al., em 1995, obtiveram uma média de pressão pulpar *in vivo* de 14,1 cm H₂O. Os espécimes submetidos à simulação de pressão pulpar apresentaram valores de resistência de união inferiores aos que receberam os procedimentos adesivos sem simulação de pressão pulpar (Tabela 3). Com isso, pode-se rejeitar a hipótese de nulidade H_{0A}, ou seja: a simulação de pressão pulpar influenciou nos valores de resistência de união.

Os achados deste estudo concordam com estudos prévios, nos quais a simulação de pressão pular causou redução nos valores de resistência de união (Feitosa et al., 2012; de Alexandre et al., 2014; Pucci, 2015). A figura 27 mostra bolhas na camada de adesivo do grupo GC.CPP.C, causadas pela simulação da pressão pulpar. A presença de pressão pulpar fisiológica simulada pode causar maior hidrólise e plastificação dos polímeros devido à infiltração de água através das camadas híbrida e adesiva, prejudicando a durabilidade a longo prazo da interface entre resina e dentina. (Feitosa et al., 2012, 2013) A infiltração de água causada pela pressão pulpar também causa ativação das metaloproteinases, sem a qual permanecem inativas (Pashley et al., 2004). Zhang e Kern, em 2009, observaram que água é um fator fundamental para a função hidrolítica das MMPs.

Os resultados do teste de ANOVA três fatores (Tabela 2) mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa para o fator Soluções, aceitando assim a hipótese de nulidade H_{0B}, ou seja, as soluções utilizadas não influenciaram a

resistência de união dentinária. Contudo, observou-se que houve diferença estatisticamente significativa para a interação entre os fatores Solução e Pressão Pulpar. Os resultados do teste de Tukey (Tabela 5), mostram que os menores valores de resistência de união foram encontrados para o grupo Controle com pressão pulpar. Também foi encontrada diferença estatisticamente significativa para a interação entre os fatores Solução, Pressão Pulpar e Envelhecimento. Os resultados do teste de Tukey (Tabela 7) mostraram que os menores valores de resistência de união foram observados para os grupos das 3 soluções (GC, CLX e PA), com simulação de pressão pulpar e ciclados.

A concentração da solução de clorexidina utilizada neste estudo foi de 0,2%. Breschi et al. (2010) e Mazzoni et al. (2011) observaram que a clorexidina é capaz de inibir metaloproteinases mesmo quando usada na concentração de 0,2%. Gendron et al. (1999) observaram em seu estudo que 0,002% é a mínima concentração de clorexidina que levou a uma inibição completa da atividade da MMP-9, e 0,0001% para MMP-2. Isso se dá possivelmente por sua propriedade de quelar o cátion Zn^{2+} . Loguercio et al., em 2009, concluíram que o uso de solução de clorexidina a 0,002% por 15 segundos pareceu ser suficiente para preservar a interface entre resina e dentina por um período superior a 6 meses.

Por outro lado, Sartori et al., em 2013, concluíram que a aplicação de digluconato de clorexidina 2% não aumentou a durabilidade clínica das restaurações. Resultados semelhantes foram encontrados por Francisconi-dos-Rios et al., em 2015, que concluíram que o efeito da clorexidina 2% na conservação da resistência de união da dentina sadia e erodida não foi persistente. Montagner et al., em 2014, em uma revisão sistemática sobre o efeito de inibidores de metaloproteinases durante procedimentos adesivos, observaram que os resultados de resistência de união imediatos não mostram diferença entre solução de clorexidina 2% e controle; entretanto, é encontrada diferença entre solução de clorexidina 0,2% e controle. Após envelhecimento, os grupos tratados com clorexidina apresentam maiores valores de resistência de união quando comparados aos grupos controle. Contudo, isto não é observado após longos períodos de envelhecimento.

A solução de própolis utilizada neste estudo, Propomax, possui 11% de extrato seco de própolis verde. Optou-se pela utilização desta solução comercial pois em estudo prévio foi utilizado solução alcoólica de própolis e esta mesma solução

aquosa, que possuía processo de fabricação patentado. Apesar dos valores de resistência de união gerados por ambas não diferirem estatisticamente, os valores absolutos do grupo tratado com a solução aquosa de própolis foram maiores (Perote et al., 2015). Além disso, não há a influência do álcool, que também é inibidor de metaloproteinase (Tezvergil-Mutluay et al., 2011).

Jin et al., em 2005, observaram que a concentração de 20µg/ml de extrato metanólico de própolis foi capaz de inibir aproximadamente 90% da atividade da MMP-9 em zimografia. O efeito inibidor de metaloproteinase dá-se pela presença do ácido caféico fenil éster. Vilela et al. (2015) observaram que o ácido caféico fenil éster foi capaz de inibir a expressão genética, a produção e a atividade de metaloproteinases. Esta inibição se dá por meio da inibição da via NF-κB e bloqueio do sítio catalítico da MMP (Chung et al., 2004). Perote et al. (2015), em estudo semelhante, não observaram diferença estatisticamente significativa entre a aplicação desta solução e o grupo controle.

Nas figuras de 9 a 31, podemos observar que os grupos submetidos à simulação de pressão pulpar e termociclados apresentaram maior quantidade de túbulos dentinários expostos, mostrando sinais de degradação. Por outro lado, nos grupos sem simulação de pressão pulpar e sem ciclagem (imediatos), houve maior número de túbulos dentinários apresentando ainda TAGs resinosos em seu interior. Isso corrobora os dados obtidos pelo estudo, onde a simulação de pressão pulpar e a termociclagem diminuíram os valores de resistência de união.

A temperatura intra-oral varia dependendo dos hábitos alimentares e respiratórios. Mudanças bruscas de temperatura afetam a estabilidade da restauração adesiva. Portanto, a termociclagem é comumente utilizada para avaliar a durabilidade da adesão por meio de simulação de mudanças da temperatura intra-oral (Deng et al., 2014).

Como esperado, foi encontrada diferença estatisticamente significativa para o fator Envelhecimento, rejeitando assim a hipótese de nulidade H_0c , ou seja, a termociclagem interferiu na resistência de união entre resina e dentina. De acordo com a tabela 4, os espécimes submetidos à termociclagem apresentaram valores de resistência de união significativamente menores do que os submetidos ao teste de microtração no tempo imediato. Também foi encontrada diferença estatisticamente significativa para a interação entre os fatores Pressão Pulpar e Envelhecimento

(Tabela 6), onde os menores valores de resistência de união foram encontrados para o grupo onde houve a associação dos 2 fatores (grupo com pressão pulpar e ciclado).

Não há consenso na literatura sobre uma equivalência entre ciclos térmicos e o desgaste *in vivo*. O ISO TR 11450 (1994), indica que 500 ciclos com temperatura de 5°C e 55°C é um teste de envelhecimento acelerado apropriado. Porém, Gale e Darvel (1999), ao realizarem uma extensa revisão sobre o assunto, sugeriram que 10.000 ciclos equivaleriam a um ano *in vivo*. Ou seja, 15000 ciclos térmicos equivaleriam a 1,5 ano de envelhecimento *in vivo*. Morressi et al. (2014), em recente revisão sobre o assunto, concluíram que são necessários mais estudos para o desenvolvimento de um protocolo de termociclagem. Rêgo (2015), em estudo sobre a resistência de união dentinária em restaurações de classe I *in vivo* e *in vitro*, ao considerar o fator protocolo de envelhecimento, notou que os grupos que sofreram ciclagem termomecânica não apresentaram diferença estatisticamente significativa do grupo *in vivo*, mostrando que o número de ciclos realizados com base nos estudos encontrados na literatura foi capaz de reproduzir o desgaste sofrido *in vivo* em relação à resistência de união.

A adesão dentinária não é tão durável como foi assumido previamente (Liu et al., 2011). Estudos laboratoriais sobre durabilidade sugerem que a degradação da camada híbrida ocorra muito mais rápido do que a falha das restaurações clínicas. Portanto, a durabilidade da interface adesiva pode ter um papel secundário na longevidade clínica das restaurações (Carvalho et al., 2012).

As características dos sistemas adesivos atuais fazem com que estes sejam altamente suscetíveis à sorção de água, o que causa degradação dos polímeros e redução da resistência de união dentinária ao longo do tempo. Estes polímeros instáveis dentro da camada híbrida podem resultar em fibras colágenas expostas, que se tornam vulneráveis à fadiga mecânica e hidrolítica, além da degradação por enzimas com atividade colagenolítica (Perdigão et al., 2013).

O papel das metaloproteinasas na adesão dentinária ainda não é completamente entendido. Alguns problemas ainda necessitam ser esclarecidos, como: a preservação da camada híbrida pode ocorrer na ausência de inibidores de metaloproteinasas; MMP-2 e MMP-9 são incapazes de digerir as fibras colágenas diretamente, então o passo inicial tem que ser feito por outro mecanismo. Uma abordagem alternativa para inibição seletiva das metaloproteinasas na adesão dentinária seria tomar proveito do efeito de vários inibidores exógenos de

metaloproteinases combinando-os numa solução de primer altamente específica. (Perdigão et al., 2013).

Sugere-se, portanto, que futuros estudos sejam realizados com as substâncias inibidoras de metaloproteinases, na tentativa de esclarecer estes mecanismos.

7 CONCLUSÃO

Considerando a metodologia aplicada, e através dos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- O uso das soluções de clorexidina e de própolis não interferiu na resistência de união entre dentina e resina;
- A simulação de pressão pulpar diminuiu a resistência de união entre dentina e resina;
- A ciclagem termomecânica diminuiu a resistência de união da resina à dentina.

8 REFERÊNCIAS*

Abdalla AI, Feilzer AJ. Four-year water degradation of a total-etch and two self-etching adhesives bonded to dentin. *J Dent.* 2008 Aug;36(8):611-7. doi: 10.1016/j.jdent.2008.04.011. Epub 2008 Jun 2.

Al-Shaher A, Wallace J, Agarwal S, Bretz W, Baugh D. Effect of Propolis on Human Fibroblasts from the Pulp and Periodontal Ligament. *J Endod.* 2004 May;30(5):359-61. PubMed PMID: 15107650.

Anchieta RB, Machado LS, Martini AP, Santos PH, Giannini M, Janal M, et al. Effect of long-term storage on mechanical and morphological properties of dentin-adhesive interfaces. *Dent Mater.* 2015 Feb;31(2):141-53. doi: 10.1016/j.dental.2014.11.010. Epub 2014 Dec 16.

Armstrong SR, Keller JC, Boyer DB. The influence of water storage and C-factor on the dentin-resin composite microtensile bond strength and debond pathway utilizing a filled and unfilled adhesive resin. *Dent Mater.* 2001 May;17(3):268-76. PubMed PMID:1257301.

Belli R, Sartori N, Peruchi LD, Guimarães JC, Araújo E, Monteiro S Jr, et al. Slow progression of dentin bond degradation during one year water storage under simulated pulpal pressure. *J Dent.* 2010 Oct;38(10):802-10. doi: 10.1016/j.jdent.2010.06.012. Epub 2010 Jul 3.

Bertassoni LE, Orgel JP, Antipova O, Swain MV. The dentin organic matrix - limitations of restorative dentistry hidden on the nanometer scale. *Acta Biomater.* 2012 Jul;8(7):2419-33. doi: 10.1016/j.actbio.2012.02.022. Epub 2012 Mar 10.

Blatz MB, Oppes S, Chiche G, Holst S, Sadan A. Influence of cementation technique on fracture strength and leakage of alumina all-ceramic crowns after cyclic loading. *Quintessence Int.* 2008 Jan;39(1):23-32. PubMed PMID: 18551213.

Breschi L, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Visintini E, Tjårdene L, et al. Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: a 2-year in vitro study. *Dent Mater.* 2010 Apr;26(4):320-5. doi: 10.1016/j.dental.2009.11.153. Epub 2009 Dec 31.

Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater.* 2008 Jan;24(1):90-101. Epub 2007 Apr 17. Review. PubMed PMID:17442386.

*Baseado em:

Internacional Comite of Medical Journal Editors. Bibliographic Services Division. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals: simple referentes [homepage na Internet]. Bethesda: US Nacional Library; c2003 [disponibilidade em 2006 fev; citado em 20 mar.]. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.

Burdock GA. Review of the Biological Properties and Toxicity of Bee Propolis. *Food Chem Toxicol.* 1998 Apr;36(4):347-63. PubMed PMID:9651052.

Campos EA, Correr GM, Leonardi DP, Barato-Filho F, Gonzaga CC, Zielak JC. Chlorhexidine diminishes the loss of bond strength over time under simulated pulpal pressure and thermo-mechanical stressing. *J Dent.* 2009 Feb;37(2):108-14. doi: 10.1016/j.jdent.2008.10.003. Epub 2008 Nov 20.

Carrilho MR, Carvalho RM, de Goes MF, di Hipolito V, Geraldeli S, Tay FR, et al. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *J Dent Res.* 2007a Jan;86(1):90-4. PubMed PMID:17189470.

Carrilho MR, Geraldeli S, Tay FR, de Goes MF, Carvalho RM, Tjaderhane L, et al. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. *J Dent Res.* 2007b Jun;86(6):529-533. PubMed PMID:17525352.

Carvalho RM, Manso AP, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH. Durability of bonds and clinical success of adhesive restorations. *Dent Mater.* 2012 Jan;28(1):72-86. doi: 10.1016/j.dental.2011.09.011. Review.

Chen C, Niu LN, Xie H, Zhang ZY, Zhou LQ, Jiao K, et al. Bonding of universal adhesives to dentin – old wine in new bottles? *J Dent.* 2015 May;43(5):525-36. doi: 10.1016/j.jdent.2015.03.004. Epub 2015 Mar 20.

Chung TW, Moon SK, Chang YC, Ko JH, Lee YC, Cho G, et al. Novel and therapeutic effect of caffeic acid and caffeic acid phenyl ester on hepatocarcinoma cells: complete regression of hepatoma growth and metastasis by dual mechanism. *FASEB J.* 2004 Nov;18(14):1670-81. PubMed PMID:15522912.

Ciucchi B, Bouillaguet S, Holz J, Pashley D. Dentinal fluid dynamics in human teeth, in vivo. *J Endod.* 1995 Apr;21(4):191-4. PubMed PMID:7673819.

de Alexandre RS, Santana VB, Kasaz AC, Arrais CA, Rodrigues JA, Reis AF. Effect of long-term simulated pulpal pressure on the bond strength and nanoleakage of resin-lutin agents with different bonding strategies. *Oper Dent.* 2014 Sep-Oct;39(5):508-20. doi: 10.2341/13-078. Epub 2014 Feb 6.

Delannée M, Grégoire G, Vergnes JN, Sharrock P. Fluid flow through dentin-self-etch resin interface during long term in vitro aging. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2013 Oct;33(7):3711-5. doi: 10.1016/j.msec.2013.05.008. Epub 2013 May 8.

Deng D, Yang H, Guo J, Chen X, Zhang W, Huang C. Effect of different artificial ageing methods on the degradation of adhesive-dentine interfaces. *J Dent.* 2014 Dec;42(12):1577-85. doi: 10.1016/j.jdent.2014.09.010. Epub 2014 Sep 23.

Feitosa VP, Leme AA, Sauro S, Correr Sobrinho L, Watson TF, Sinhoreti MA, et al. Hydrolytic degradation of the resin-dentin interface induced by the simulated pulpal pressure, direct and indirect water aging. *J Dent.* 2012 Dec;40(12):1134-43. doi: 10.1016/j.jdent.2012.09.011. Epub 2012 Sep 19.

Feitosa VP, Watson TF, Vitti RP, Bacchi A, Correr-Sobrinho L, Correr AB, et al. Prolonged curing time reduces the effect of simulated pulpal pressure on the bond strength of one-step self-etch adhesives. *Oper Dent*. 2013 Sep-Oct;38(5):545-54. doi: 10.2341/12-180-L. Epub 2012 Dec 6.

Figueiredo Reis A, Gianinni M, Ambrosano GMB, Chan DCN. The effects of filling techniques and a low-viscosity composite liner on bond strength to class II cavities. *J Dent*. 2003 Jan;31(1):59-66. PubMed PMID:12615021

Francisconi-dos-Rios LF, Casas-Apayaco LC, Calabria MP, Francisconi PAS, Borges AFS, Wang L. Role of chlorhexidine in bond strength to artificially eroded dentin over time. *J Adhes Dent*. 2015 Apr;17(2):133-9. doi: 10.3290/j.jad.a34059.

Frankenberger R, Pashley DH, Reich SM, Lohbauer U, Petschelt A, Tay FR. Characterisation of resin-dentine interfaces by compressive cyclic loading. *Biomaterials*. 2005 May;26(14):2043-52. PubMed PMID:15576178.

Gale MS, Darvell BW. Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations. *J Dent*. 1999 Feb;27(2):89-99. Review. PubMed PMID:10071465.

Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1999 May;6(3):437-9. PubMed PMID:10225852.

Goodis HE, White JM, Marshall GW Jr, Yee K, Fuller N, Gee L, et al. Effects of Nd: and Ho:yttrium-aluminium-garnet lasers on human dentine fluid flow and dental pulp-chamber temperature in vitro. *Arch Oral Biol*. 1997 Dec;42(12):845-54. PubMed PMID:9460538.

Gotti VB, Feitosa VP, Sauro S, Correr-Sobrinho L, Leal FB, Stansbury JW, et al. Effect of antioxidants on the dentin interface bond stability of adhesives exposed to hydrolytic degradation. *J Adhes Dent*. 2015 Feb;17(1):35-44. doi: 10.3290/j.jad.a33515.

Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H. In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. *Biomaterials*. 2003 Sep;24(21):3795-803. PubMed PMID:12818552.

Heintze SD, Rousson V, Mahn E. Bond strength tests of dental adhesive systems and their correlation with clinical results – a meta-analysis. *Dent Mater*. 2015 Apr;31(4):423-34. doi: 10.1016/j.dental.2015.01.011. Epub 2015 Feb 21.

Hiraishi N, Yiu CK, King NM, Tay FR. Effect of pulpal pressure on the microtensile bond strength of luting resin cements to human dentin. *Dent Mater*. 2009 Jan;25(1):58-66. doi: 10.1016/j.dental.2008.05.005. Epub 2008 Jun 24.

Internacional Organization for Standardization. ISO/TR 11405: dental materials: guidance on testing of adhesion to tooth structure. Geneva: International Organization for Standardization; 1994.

Jin UH, Chung TW, Kang SK, Suh SJ, Kim JK, Chung KH, et al. Caffeic acid phenyl ester in propolis is a strong inhibitor of matrix metalloproteinase-9 and invasion inhibitor: isolation and identification. *Clin Chim Acta*. 2005 Dec;362(1-2):57-64. Epub 2005 Jul 6. PubMed PMID:16004979.

Kayaoglu G, Ömürlü H, Akca G, Gürel M, Gençay Ö, Sorkun K, et al. Antibacterial activity of Propolis versus conventional endodontic disinfectants against *Enterococcus faecalis* in infected dentinal tubules. *J Endod*. 2011 Mar;37(3):376-81. doi: 10.1016/j.joen.2010.11.024. Epub 2011 Jan 8.

Kim RJ, Choi NS, Ferracane J, Lee IB. Acoustic emission analysis of the effect of simulated pulpal pressure and cavity type on the tooth-composite interfacial debonding. *Dent Mater*. 2014 Aug;30(8):876-83. doi: 10.1016/j.dental.2014.05.027. Epub 2014 Jun 14.

Li Y, Carrera C, Chen R, Li J, Lenton P, Rudney JD, et al. Degradation in the dentin-composite interface subjected to multi-species biofilm challenges. *Acta Biomater*. 2014 Jan;10(1):375-83. doi: 10.1016/j.actbio.2013.08.034. Epub 2013 Sep 3.

Liu Y, Tjaderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Li N, Mao J, et al. Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. *J Dent Res*. 2011 Aug;90(8):953-68. doi: 10.1177/0022034510391799. Epub 2011 Jan 10.

Loguercio 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. *Eur J Oral Sci*. 2009 Oct;117(5):587-96. doi: 10.1111/j.1600-0722.2009.00663.x

Marshall GW Jr. Dentin: microstructure and characterization. *Quintessence Int*. 1993 Sep;24(9):606-17. PMID:8272499.

Marshall GW Jr, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent*. 1997 Nov;25(6):441-458. PubMed PMID:9604576.

Mazzoni A, Carrilho M, Papa V, Tjäderhane L, Gobbi P, Nucci H, et al. MMP-2 assay within the hybrid layer created by a two-step etch-and-rinse adhesive: biochemical and immunohistochemical analysis. *J Dent*. 2011 Jul;39(7):470-7. doi: 10.1016/j.jdent.2011.04.004. Epub 2011 Apr 28.

Mitchem JC, Terkla LG, Gronas DG. Bonding of resin dentin adhesives under simulated physiological conditions. *Dent Mater*. 1988 Dec;4(6):351-3. PubMed PMID:3152166.

Miyazaki M, Tsubota K, Takamizawa T, Kurokawa H, Rikuta A, Ando S. Factors affecting the in vitro performance of dentin-bonding systems. *Jap Dent Sci Rev*. 2012;48:53-60.

Montagner AF, Sarkis-Onofre R, Pereira-Cenci T, Cenci MS. MMP inhibitors on dentin stability: a systematic review and meta-analysis. *J Dent Res*. 2014 Aug;93(8):733-43. doi: 10.1177/0022034514538046. Epub 2014 Jun 16.

Monteiro TMA, Basting RT, Turssi CP, França FMG, Amaral FLB. Influence of natural and synthetic metalloproteinase inhibitors on bonding durability of an etch-and-rinse adhesive to dentin. *Int J Adhes Adhes*. 2013;47:83-8.

Morresi AL, D'Amario M, Capogreco M, Gatto R, Marzo G, D'Arcangelo C, et al. Thermal cycling for restorative materials: does standardized protocol exist in laboratorial testing? A literature review. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2014 Jan;29:295-308. doi: 10.1016/j.jmbbm.2013.09.013. Epub 2013 Sep 27.

Murchison DF, Roeters J, Vargas MA, Chan DCN. Direct anterior restorations. In: . Summit JB, Robbins JW, Hilton TJ, Schwartz RS. *Fundamentals of operative dentistry: a contemporary approach*. Illinois: Quintessence Publishing Co; 2006. p 261-88.

Nakajima M, Kunawarote S, Prasansuttiorn T. Bonding to caries-affected dentin. *Japan Dent Sci Review*. 2011;47:102-14.

Nicholson JW. Biologic considerations. In: Summit JB, Robbins JW, Hilton TJ, Schwartz RS. *Fundamentals of operative dentistry: a contemporary approach*. Illinois: Quintessence Publishing Co; 2006. p. 1-36.

Niu LN, Zhang W, Pashley DH, Breschi L, Mao J, Chen JH, et al. Biomimetic remineralization of dentin. *Dent Mater*. 2014 Jan;30(1):77-96. doi: 10.1016/j.dental.2013.07.013. Epub 2013 Aug 5.

Osorio R, Osorio E, Ruiz-Requena ME, Pashley DH, Yamauti M, Toledano M, et al. Zinc reduces collagen degradation in human demineralized dentin explants. *J Dent*. 2011 Feb;39(2):148-53. doi: 10.1016/j.jdent.2010.11.005. Epub 2010 Nov 23.

Pashley DH, Ciucchi B, Sano H, Horner JA. Permeability of dentin to adhesive agents. *Quintessence Int*. 1993 Sep;24(9):618-31. PubMed PMID:8272500.

Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, et al. Collagen Degradation by Host-derived Enzymes during Aging. *J Dent Res*. 2004 Mar;83(3):216-21. PubMed PMID:14981122.

Perdigão J. Dentin bonding-variables related to the clinical situation and the substrate treatment. *Dent Mater*. 2010 Feb;26(2):e24-37. doi: 10.1016/j.dental.2009.11.149. Epub 2009 Dec 14. Review.

Perdigão J, Reis A, Loguercio AD. Dentin Adhesion and MMPs: A Comprehensive Review. *J Esthet Restor Dent*. 2013 Aug;25(4):219-41. doi: 10.1111/jerd.12016. Epub 2013 Feb 19.

Perote LC, Kamozaki MB, Gutierrez NC, Tay FR, Pucci CR. Effect of matrix metalloproteinase-inhibiting solutions and aging methods on dentin bond strength. *J Adhes Dent*. 2015 Aug;17(4):347-52. doi: 10.3290/j.jad.a34594.

Pucci CR. Efeito da pressão pulpar simulada na resistência de união a dentina utilizando diferentes sistemas adesivos [tese de livre docência]. São José dos Campos (SP): Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP – Univ Estadual Paulista; 2015.

Purra AR, Mushtaq M, Acharya SR, Saraswati V. A comparative evaluation of propolis and 5.0% potassium nitrate as a dentine desensitizer: a clinical study. *J Indian Soc Periodontol*. 2014 Jul;18(4):466-71. doi: 10.4103/0972-124X.138695.

Rêgo HMC. Avaliação imediata e após 6 meses da resistência de união à dentina de restaurações de resina composta classe I *in vivo* e *in vitro* [tese]. São José dos Campos (SP): Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP – Univ Estadual Paulista; 2015.

Reis A, Loguercio AD, Carvalho RM, Grande RH. Durability of resin dentin interfaces: effects of surface moisture and adhesive solvent component. *Dent Mater*. 2004 Sep;20(7): 669-76. PubMed PMID:15236942.

Reis A, Martins GC, de Paula EA, Sanchez AD, Loguercio AD. Alternative aging solutions to accelerate resin-dentin bond degradation. *J Adhes Dent*. 2015 Aug;17(4):321-8. doi: 10.3290/j.jad.a34591.

Ryou H, Pashley DH, Tay FR, Araola D. A characterization of the mechanical behavior of resin-infiltrated dentin using nanoscopic Dynamic Mechanical Analysis. *Dent Mater*. 2013 Jul;29(7):719-28. doi: 10.1016/j.dental.2013.03.022. Epub 2013 Apr 29.

Sambandam V, Neelakatan P. Matrix metalloproteinases (MMP) in restorative dentistry and endodontics. *J Clin Ped Dent*. 2014 Fall;39(1):57-9. PubMed PMID:25631728.

Sanches RP, Otani C, Damião AJ, Miyakawa W. AFM characterization of bovine enamel and dentine after acid-etching. *Micron*. 2009 Jun;40(4):502-6. doi: 10.1016/j.micron.2008.12.001. Epub 2008 Dec 9.

Sartori N, Stolf SC, Silva SB, Lopes GC, Carrilho M. Influence of chlorhexidine digluconate on the clinical performance of adhesive restorations: a 3-year follow-up. *J Dent*. 2013 Dec;41(12):1188-95. doi: 10.1016/j.jdent.2013.09.004. Epub 2013 Sep 25. Sauro S, Pashley DH, Montanari M, Chersoni S, Carvalho RM, Toledano M, et al. Effect of simulated pulpal pressure on dentin permeability and adhesion of self-etch adhesives. *Dent Mater*. 2007 Jun;23(6):705-13. Epub 2006 Aug 9. PubMed PMID:16904175.

Scherrer SS, Cesar PF, Swain MV. Direct comparison of the bond strength results of different test methods: a critical literature review. *Dent Mater*. 2010 Feb;26(2):e78-93. doi: 10.1016/j.dental.2009.12.002. Epub 2010 Jan 8.

Sforcin JM, Orsi RO, Bankova V. Effect of propolis, some isolated compounds and its source plant on antibody production. *J Ethnopharmacol.* 2005 Apr 26;98(3):301-5. PubMed PMID:15814263.

Spencer P, Ye Q, Misra A, Gonçalves SEP, Laurence JS. Proteins, pathogens and failure at the composite-tooth interface. *J Dent Res.* 2014 Dec;93(12):1243-9. doi: 10.1177/0022034514550039. Epub 2014 Sep 4.

Stanislawczuk R, Pereira F, Muñoz MA, Luque I, Farago PV, Reis A, et al. Effect of chlorhexidine-containing adhesives on the durability of resin-dentine interfaces. *J Dent.* 2014 Jan;42(1):39-47. doi: 10.1016/j.jdent.2013.11.002. Epub 2013 Nov 16.

Tao L, Pashley DH. Dentin perfusion effects on the shear bond strengths of bonding agents to dentin. *Dent Mater.* 1989 May;5(3):181-4. PubMed PMID:2700178.

Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Hoshika T, Uchiyama T, Tjårdene L, Breschi L, et al. Inhibition of MMPs by alcohols. *Dent Mater.* 2011 Sep;27(9):926-33. doi: 10.1016/j.dental.2011.05.004. Epub 2011 Jun 14.

Tjäderhane L, Buzalaf MAR, Carrilho M, Chaussain C. Matrix metalloproteinases and other matrix proteinases in relation to cariology: the era of “dentin degradomics”. *Caries Res.* 2015;49(3):193-208. doi: 10.1159/000363582. Epub 2015 Feb 6.

Tjaderhane L, Carrilho M, Breschi L, Tay FR, Pashley D. Dentin basic structure and composition: an overview. *Endod Topics.* 2012;20:3-29.

Tjaderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, et al. Strategies to prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer-A review. *Dent Mater.* 2013 Oct;29(10):999-1011. doi: 10.1016/j.dental.2013.07.016. Epub 2013 Aug 14.

Vagish Kumar LS. Propolis in dentistry and oral cancer management. *N Am J Med Sci.* 2014 Jun;6(6):250-9. doi: 10.4103/1947-2714.134369. Review.

Valera MC, da Rosa JA, Maekawa LE, de Oliveira LD, Carvalho CAT, Koga-Ito CY, et al. Action of propolis and medications against *Escherichia coli* and endotoxin in root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010 Oct;110(4):e70-4. doi: 10.1016/j.tripleo.2010.01.029.

Vilela PGF, de Oliveira JR, de Barros PP, Leão MVP, de Oliveira LD, Jorge AOC. In vitro effect of caffeic acid phenetyl ester on matrix metalloproteinases (MMP-1 and MMP-9) and their inhibitor (TIMP-1) in lipopolysaccharide-activated human monocytes. *Arch Oral Biol.* 2015 Sep;60(9):1196-202. doi: 10.1016/j.archoralbio.2015.04.009. Epub 2015 May 21.

Wang Y, Spencer P. Hybridization Efficiency of the Adhesive/Dentin Interface with Wet Bonding. *J Dent Res.* 2003 Feb; 82(2):141-5. PubMed PMID:12562889.

Zhang S, Kern M. The role of host-derived dentinal matrix metalloproteinases in reducing dentin bonding of resin adhesives. *Int J Oral Sci.* 2009 Dec;1(4):163-76. doi: 10.4248/IJOS.09044.

ANEXO – Comprovante do Comitê de Ética em Pesquisa

INSTITUTO DE CIÊNCIA E
TECNOLOGIA CAMPUS SÃO
JOSÉ DOS CAMPOS - UNESP

**COMPROVANTE DE ENVIO DO PROJETO****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Influência de soluções de clorexidina e de própolis e da simulação de pressão pulpar na resistência de união dentinária

Pesquisador: Leticia Carvalho Coutinho Costa Perote

Versão: 2

CAAE: 47319715.3.0000.0077

Instituição Proponente: Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP

DADOS DO COMPROVANTE

Número do Comprovante: 068636/2015

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio