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

AMANDA GUEDES NOGUEIRA MATUDA

AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E MECÂNICAS DE UM SISTEMA ADESIVO BIOATIVO PELA INCORPORAÇÃO DO RESVERATROL

2023

AMANDA GUEDES NOGUEIRA MATUDA

AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E MECÂNICAS DE UM SISTEMA ADESIVO BIOATIVO PELA INCORPORAÇÃO DO RESVERATROL

Tese apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA RESTAURADORA.

Área: Dentística. Linha de pesquisa: Avaliação clínica e laboratorial de alterações da estrutura dental, de materiais e de técnicas de prevenção e tratamento em dentística.

Orientador: Prof. Dr. César Rogério Pucci

São José dos Campos

2023

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2023]. Disponível em http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Matuda, Amanda Guedes Nogueira
Avaliação das propriedades físico-químicas e mecânicas de um sistema adesivo bioativo pela incorporação do resveratrol / Amanda Guedes Nogueira Matuda. - São José dos Campos : [s.n.], 2023.
97 f. : il.

Tese (Doutorado) - - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2023.
Orientador: César Rogério Pucci.

1. Adesivos dentinários. 2. Resveratrol. 3. Material particulado. 4. Testes Mecânicos. 5. Antibacterianos. I. Pucci, César Rogério, orient. II. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. IV. Universidade Estadual Paulista (Unesp). V. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Achille Bassi e Seção Técnica de Informática, ICMC/USP
com adaptações - STATI, STRAUD e DTI do ICT/UNESP.
Renata Aparecida Couto Martins CRB-8/8376

BANCA EXAMINADORA

Prof. Assoc. César Rogério Pucci (Orientador)
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

Profa. Dra. Priscila Christiane Suzy Liporoni
Universidade do Vale do Paraíba (Univap)
Faculdade de Ciências da Saúde
Campus de São José dos Campos

Prof. Dr. Luís Eduardo Silva Soares
Universidade do Vale do Paraíba
Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento
Campus de São José dos Campos

Profa. Dra. Mariane Cintra Mailart
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

Profa. Assoc. Taciana Marco Ferraz Caneppele
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

São José dos Campos, 07 de junho de 2023.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, **José Armando de Castro Nogueira** e **Márcia Regina dos Santos Guedes Nogueira**, por todo amor, dedicação, carinho e respeito com que me criaram. Pela formação, educação, valores e princípios que me passaram ao longo da vida. Sempre serão um exemplo para mim.
Tenho muito orgulho de ser filha de vocês, meus amores, minha vida!

Ao meu marido, **Fábio da Silva Matuda**, por todo incentivo, paciência, amor, cumplicidade. Por me entender e me dar forças nos momentos mais difíceis.
Por todo suporte durante esses anos de estudos, sempre acreditando em mim e no meu trabalho. Sempre terá minha admiração. Sem você não teria chegado até aqui.
Amo você!

Ao meu irmão **Pedro Paulo Guedes Nogueira** pelo amor e companheirismo. Por me conceder a alegria de ser tia e pelos momentos de alegria que passamos juntos.
Por isso e muito mais, amo você!

Aos meus sogros, **Joaquim Matuda** e **Diva da Silva Matuda**, pelo apoio e suporte.
Pelo carinho e cuidado com que me tratam e por estarem sempre por perto.
Agradeço de coração!

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por todos os Seus planos para minha vida, por ter me ajudado a nunca desistir e por ter me dado forças para alcançar meus sonhos e objetivos.

Ao **Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos ICT-UNESP**, por ter me acolhido durante todo meu período de pós-graduação, mestrado e doutorado, pela estrutura proporcionada, aos professores e funcionários por terem contribuído com minha formação.

Ao **Programa de Pós-graduação** em Odontologia Restauradora área Dentística e a todos os docentes do Programa.

Ao meu orientador **Prof. Associado César Rogério Pucci**, pela oportunidade de ter sido sua orientada, pelos ensinamentos transmitidos e por toda paciência. Obrigada pela dose extra de incentivo, palavras de otimismo e por acreditar no meu trabalho. Muito obrigada!

Aos meus colegas de pós-graduação pela convivência diária, principalmente a querida amiga **Sabrina Elise Moecke** pela amizade, carinho e por terem dividido comigo os momentos de dificuldade. Obrigada pela ajuda em todos os momentos. Obrigada por tudo!

Às alunas de iniciação científica pela troca de experiências, pelos trabalhos que realizamos juntas e por toda ajuda no laboratório.

Ao Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D), da Universidade do Vale do Paraíba (Univap), na pessoa da bióloga **Priscila Maria Sarmeiro Correa Marciano Leite**, por ter nos cedido o espaço e os equipamentos, além de nos auxiliar na elaboração de alguns testes, agradeço imensamente.

Aos professores participantes da Banca Examinadora, **Profa. Dra. Priscila Christiane Suzy Liporoni, Prof. Dr. Luís Eduardo Silva Soares, Profa. Dra. Mariane Cintra Mailart e Profa. Assoc. Taciana Marco Ferraz Caneppele** muito obrigada por aceitarem o convite prontamente e fazerem parte desse dia tão especial para mim.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da Bolsa de Doutorado, através do processo nº 88887.475175/2020-00, no período de 01/02/2020 a 07/06/2023.

Agradeço a todos que contribuíram com esse trabalho, pela ajuda e incentivo. Muito obrigada!

"13 Siga o conselho do seu próprio coração, porque mais do que este ninguém será fiel a você. 14 A alma do homem frequentemente o avisa melhor do que sete sentinelas colocadas em lugar alto. 15 Além disso tudo, peça ao Altíssimo que dirija seu comportamento conforme a verdade."

Eclesiástico 37:13

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS 9
LISTA DE TABELAS 11
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS 12
RESUMO 13
ABSTRACT 14
1 INTRODUÇÃO 15
2 REVISÃO DE LITERATURA 18
2.1 Sistemas adesivos 18
2.2 Resveratrol 23
2.3 Teste de microtração 26
2.4 Grau de conversão 34
2.5 Teste de mini-flexão 36
2.6 Atividade antibacteriana 39
3 PROPOSIÇÃO 41
3.1 Hipóteses nulas testadas 41
4 MATERIAL E MÉTODOS 42
4.1 Comitê de ética 42
4.2 Delineamento experimental 42
4.2.1 Unidade experimental 42
4.2.2 Fatores de estudo 42
4.2.3 Variáveis de resposta 43
4.3 Materiais utilizados 43
4.4 Divisão dos grupos experimentais 44
4.5 Incorporação do resveratrol no adesivo 45
4.6 Seleção das amostras para o teste de resistência de união 46
4.7 Preparo das amostras para o teste de resistência de união 47
4.8 Aplicação do adesivo e técnica restauradora 49
4.9 Teste de resistência de união 52
4.10 Grau de conversão 55
4.11 Resistência mini-flexural 57
4.12 Atividade antibacteriana 59

4.12.1 Teste de difusão em ágar **60**
4.12.2 Contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) **62**
4.13 Análise estatística **63**
4.14 Cálculo amostral **63**
5 RESULTADO **65**
5.1 Estatística para resistência de união **65**
5.2 Estatística do grau de conversão **68**
5.3 Estatística para resistência mini-flexural **71**
5.4 Estatística para atividade antibacteriana **73**
5.4.1 Difusão em ágar **73**
5.4.2 Unidade Formadora de colônia (UFC) **74**
6 DISCUSSÃO **76**
7 CONCLUSÃO **83**
REFERÊNCIAS **84**
ANEXO – **96**

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura do trans-resveratrol 24

Figura 2 - Delineamento dos grupos de pesquisa 44

Figura 3 - Incorporação do resveratrol no adesivo 46

Figura 4 - Preparo das amostras 48

Figura 5 - Finalização do preparo das amostras 49

Figura 6 - Técnica restauradora 51

Figura 7 - Confecção dos palitos para o teste de resistência de união 53

Figura 8 - Teste de resistência de união 55

Figura 9 - Grau de conversão 57

Figura 10 - Resistência mini-flexural 59

Figura 11 - Avaliação das atividades antibacterianas 60

Figura 12 - Teste de difusão em ágar 61

Figura 13 - Preparação dos discos de adesivo 62

Figura 14 - Preparação das placas para UFC 63

Figura 15 - Análise descritiva das médias de resistência de união (MPa) e desvio padrão 67

Figura 16 - Porcentagem de tipos de fraturas após teste de microtração.....68

Figura 17 - Análise descritiva das médias de grau de conversão e desvio padrão ...70

Figura 18 - Análise descritiva das médias de resistência mini-flexural e desvio padrão 72

Figura 19 - Análise ilustrativa do teste de difusão em ágar 73

Figura 20 - Análise descritiva das médias de UFC e desvio padrão 75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise descritiva para os diferentes grupos quanto à resistência de união (MPa).....66

Tabela 2 - Teste análise de variância (ANOVA) a um fator para a resistência de união 67

Tabela 3 - Análise descritiva para os diferentes grupos em ordem decrescente quanto ao grau de conversão 69

Tabela 4 - Teste de análise de variância (ANOVA) a um fator para o grau de conversão 70

Tabela 5 - Análise descritiva para os diferentes grupos quanto à resistência mini-flexural.....71

Tabela 6 - Teste de análise de variância (ANOVA) a um fator para a resistência mini-flexural.....72

Tabela 7 - Análise descritiva para os diferentes grupos quanto à atividade antibacteriana (UFC) 74

Tabela 8 - Teste de análise de variância (ANOVA) a um fator para UFC 75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

10-MDP	10-Metacriloiloxidecil dihidrogênio fosfato
A	Área de união
ANOVA	Análise de variância
ATR	Refletância total atenuada
BHI	Brain heart infusion
Bis-GMA	Bisfenol A glicol dimetacrilato
CHX	Clorexidina
CIV	Cimento ionômero de vidro
CIVMR	Cimento ionômero de vidro modificado por resina
CQ	Canforoquinona
Dp	Desvio-padrão
EDAB	Etil 4-dimetilaminobenzoato
EMIC	Máquina Universal de Ensaios
F	Força aplicada
FTIR	Espectroscopia de infravermelho transformada de fourier
GC	Grau de conversão
HAp	Hidroxiapatita sintética
HEMA	2- hidróxietil metacrilato
ICP-OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente acoplado
MCVL	Microscopia confocal de varredura a laser
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MMPs	Metaloproteinases de matriz
MPa	Megapascal
PBS	Solução salina estéril tamponada com fosfato
RES	Resveratrol
RES	Resveratrol
TEGDMA	Trietilenoglicol dimetacrilato
UFC	Unidade formadora de colônia
δ	Força de união a microtração
µTBS	Resistência de união à microtração

Matuda AGN. Avaliação das propriedades físico-químicas e mecânicas de um sistema adesivo bioativo pela incorporação do resveratrol [tese]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2023.

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar as propriedades físico-químicas e mecânicas da incorporação do resveratrol (Sigma-Aldrich) em um sistema adesivo comercial, onde foi avaliada a resistência de união da interface adesiva, o grau de conversão, a resistência mini-flexural e propriedades antibacterianas. Adicionalmente, foi feita a análise por meio do Estereomicroscópio. Os adesivos foram divididos em quatro grupos de acordo com a concentração da incorporação do resveratrol: ASB – Adesivo Adper Single Bond 2 (3M-ESPE) sem incorporação de resveratrol, RES0,5 – Adesivo com a incorporação de 0,5% de resveratrol, RES1 – Adesivo com a incorporação de 1% resveratrol, RES2 – Adesivo com a incorporação de 2% de resveratrol. Para o teste de resistência de união foram utilizados 40 molares humanos com a superfície oclusal desgastada até a exposição da dentina, obtidos de molares humanos hígidos (n=10). O grau de conversão foi monitorado com amostras do adesivo por meio de Espectroscopia Infravermelho transformada de Fourier (FTIR) em triplicata. Para a resistência mini-flexural foram confeccionadas 10 amostras para cada grupo a partir de uma matriz de silicone (12 x 2 x 2 mm) e foi realizada na Máquina Universal de Ensaios (EMIC). A atividade antibacteriana foi feita através dos testes de difusão em ágar e contagem da unidade formadora de colônia (UFC) em triplicata, onde foram utilizados discos de adesivos polimerizados (6,5 x 1,5 mm de diâmetro) dos diferentes grupos. Posteriormente as amostras resultantes do teste de resistência de união foram observadas em Estereomicroscópio para análise do padrão da fratura. Os dados foram analisados estatisticamente quanto à sua normalidade e como apresentaram distribuição normal, foi realizado o teste de análise de variância (ANOVA) paramétrica um fator (sistema adesivo) e o teste de Tukey, sendo adotado o nível de significância de 5% para a tomada de decisões. Os resultados obtidos na microtração (MPa±Dp) foram: ASB – $41{,}01 \pm 2{,}64^{A}$; RES0,5 – $42{,}93 \pm 15{,}49^{A}$; RES1 – $42{,}61 \pm 13{,}97^{A}$ e RES2 – $39{,}43 \pm 9{,}14^{A}$. No grau de conversão: ASB – $77{,}75 \pm 3{,}22^{A}$; RES0,5 – $81{,}02 \pm 1{,}95^{A}$; RES1 – $76{,}02 \pm 9{,}00^{A}$ e RES2 – $58{,}86 \pm 15{,}94^{A}$. Na resistência mini-flexural: RES0,5 – $33{,}14 \pm 13{,}83^{A}$; RES1 – $31{,}1 \pm 12{,}21^{A}$; ASB – $29{,}72 \pm 11{,}95^{A}$ e RES2 – $19{,}72 \pm 5{,}43^{B}$. Na atividade antibacteriana não houve diferença na formação de áreas de inibição, entretanto na unidade formadora de colônia os resultados foram: ASB – $0{,}75 \pm 0{,}03^{A}$; RES1 – $0{,}68 \pm 0{,}34^{B}$; RES0,5 – $0{,}67 \pm 0{,}37^{B}$ e RES2 – $0{,}6 \pm 0{,}02^{C}$. Foi concluído que a incorporação do resveratrol nas diferentes concentrações não influenciou na resistência de união da interface adesiva e no grau de conversão, no entanto, na concentração de 2%, reduziu a resistência mini-flexural do adesivo. Além disso, diminuiu a quantidade de unidades formadoras de colônia no adesivo, apresentando atividade antibacteriana.

Palavras-chave: Adesivos dentinários. Resveratrol. Material particulado. Testes Mecânicos. Antibacterianos.

Matuda AGN. Bioactivity evaluation of resveratrol incorporation in an experimental adhesive system [doctorate thesis]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2023.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the physical-chemical and mechanical properties of the incorporation of resveratrol (Sigma-Aldrich) in a commercial adhesive system, where the bond strength of the adhesive interface, the degree of conversion, the mini-flexural strength and antibacterial properties. Additionally, the analysis was performed using a stereomicroscope. The adhesives were divided into four groups according to the concentration of resveratrol incorporation: ASB – Adper Single Bond 2 Adhesive (3M-ESPE) without resveratrol incorporation, RES0.5 – Adhesive with 0.5% resveratrol incorporation, RES1 – Patch with 1% resveratrol incorporation, RES2 – Patch with 2% resveratrol incorporation. For the bond strength test, 40 human molars were used with the occlusal surface worn down to exposure of the dentin, obtained from sound human molars (n=10). The degree of conversion was monitored with adhesive samples by means of Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) in triplicate. For the mini-flexural resistance, 10 samples were made for each group from a silicone matrix (12 x 2 x 2 mm) and it was performed in the Universal Testing Machine (EMIC). Antibacterial activity was assessed using agar diffusion tests and colony forming unit (CFU) counts in triplicate, using polymerized adhesive disks (6.5 x 1.5 mm in diameter) from different groups. Subsequently, the samples resulting from the bond strength test were observed in a stereomicroscope for analysis of the fracture pattern. The data were statistically analyzed as to their normality and as they presented normal distribution, the one-way parametric analysis of variance (ANOVA) test (adhesive system) and the Tukey test were performed, adopting a significance level of 5% for the decision-making. The results obtained in microtensile (MPa±Dp) were: ASB – $41.01±2.64^{A}$; RES0.5 – $42.93±15.49^{A}$; RES1 – $42.61±13.97^{A}$ and RES2 – $39.43±9.14^{A}$. In the degree of conversion: ASB – $77.75±3.22^{A}$; RES0.5 – $81.02±1.95^{A}$; RES1 – $76.02±9.00^{A}$ and RES2 – $58.86±15.94^{A}$. In the mini-flexural resistance: RES0.5 – $33.14±13.83^{A}$; RES1 – $31.1±12.21^{A}$; ASB – $29.72±11.95^{A}$ and RES2 – $19.72 ± 5.43^{B}$. In the antibacterial activity there was no difference in the formation of areas of inhibition, however in the colony forming unit the results were: ASB – $0.75±0.03^{A}$; RES1 – $0.68±0.34^{B}$; RES0.5 – $0.67±0.37^{B}$ and RES2 – $0.6±0.02^{C}$. It was concluded that the incorporation of resveratrol at different concentrations did not influence the bond strength of the adhesive interface and the degree of conversion, however, at a concentration of 2%, mini-flexural strength decreased of the sticker. In addition, it decreased the amount of colony-forming units in the adhesive, showing antibacterial activity.

Keywords: Dentin-bonding agents. Resveratrol. Particulate matter. Mechanical Tests. Anti-Bacterial Agents.

1 INTRODUÇÃO

A resina composta é o material mais utilizado para restaurações diretas na odontologia atualmente, devido em grande parte às suas propriedades estéticas, facilidades de manipulação e modernas técnicas adesivas (Huang et al., 2018).

A adesão dos compósitos às estruturas dentárias foi realmente efetiva após Nakabayashi et al. (1982) observarem a formação de uma nova estrutura, reforçada por fibrilas colágenas em dentina condicionada com ácido fosfórico. Essa nova estrutura recebeu o nome de camada híbrida. Ainda hoje, esse conceito de hibridização representa o principal mecanismo de retenção dos sistemas adesivos.

O sucesso da adesão de resinas compostas às estruturas dentárias está diretamente relacionado com a duração das restaurações na cavidade bucal e interrupção do ciclo restaurador repetitivo, em que restaurações são periodicamente trocadas por outras cada vez maiores e de maior complexidade (Spencer et al., 2010). Assim, pesquisas sobre estratégias para aumentar a durabilidade da interface adesiva estão em constante crescimento e evolução.

Existem dois grandes desafios associados à durabilidade da interface adesiva, a cárie secundária e a degradação da interface adesiva (Gou et al., 2018). A cárie secundária é a causa mais prevalente de substituição de restaurações dentárias, devido a migração de bactérias e seus subprodutos através da interface adesiva (Nedeljkovic et al., 2015). A disponibilidade de oxigênio e nutrientes para as bactérias retidas permitem que elas se proliferem, causando a cárie secundária e dano pulpar ao longo do tempo (Nedeljkovic et al., 2015).

O outro grande desafio está associado à degradação da interface adesiva. O sistema adesivo utilizado no processo de adesão deve ser capaz de preencher completamente os espaços ao redor das fibrilas colágenas desmineralizadas, caso isso não ocorra, forma-se uma zona fragilizada dentro da camada híbrida, dando início à nanoinfiltração, hidrólise das fibrilas colágenas e consequentemente a degradação da interface adesiva (Hashimoto et al., 2011; Spencer et al., 2010; Cheng et al., 2012). Com a degradação ocorre a diminuição da resistência de união dente-restauração, comprometendo o selamento da cavidade, resultando em manchamento marginal, cárie secundária e perda prematura de restaurações diretas e indiretas (Drummond,

2009). A principal causa da degradação é a presença das enzimas endógenas de matriz extracelular, as metaloproteinases (MMPs), nas fibrilas colágenas expostas da dentina condicionada (Sadek et al., 2010; Hashimoto et al., 2011; Gou et al., 2018; Huang et al., 2018). O condicionamento ácido necessário para procedimentos adesivos, desmineraliza a porção superficial da dentina, deixando as fibras colágenas expostas e ativando as metaloproteinases (Tezvergil-Mutluay et al., 2011). Quando as MMPs de dentina são expostas e ativadas, estas enzimas degradam o colágeno tipo I (Carrilho et al., 2009).

O conteúdo orgânico da dentina é composto principalmente de colágeno tipo I (~90%) (Veis e Schlueter, 1964). Essa estrutura molecular de hélice tripla consiste em três cadeias polipeptídicas, duas (α) 1 e uma (α) 2, que são interligadas entre si e dobradas em uma estrutura destra, semelhante a um cordão (Yamauchi, 2002). As moléculas de colágeno, possuem ligações cruzadas que são ligações entre as cadeias laterais de aminoácidos. Essas ligações aumentam as propriedades mecânicas das fibrilas de colágeno, impedindo que as moléculas longas de colágeno do tipo bastão deslizem entre si sob estresse (Stenzel et al., 1974; Goh et al., 2007).

Sabe-se que a adição de antioxidantes, como polifenóis, aos sistemas adesivos estabiliza e aumenta o número de ligações cruzadas de tecidos à base de colágeno, incluindo a dentina, além disso, diminui a hidrólise das fibrilas colágenas e a degradação da camada híbrida (Erhardt et al., 2011). O uso de um extrato de semente de uva rico em polifenóis melhorou as propriedades mecânicas (módulo de elasticidade e resistência à tração) da dentina desmineralizada (Bedran-Russo et al., 2007, 2008), bem como da interface dentina-resina (Al Ammar et al., 2009). Outros agentes polifenóis, como o extrato de sementes de cacau, também demonstraram diminuir a degradação enzimática, aumentar a resistência e diminuir a taxa de intumescimento da dentina desmineralizada (Castellan et al., 2010a, b). Além disso, extratos naturais apresentam citotoxicidade reduzida quando comparados aos efeitos de agentes sintéticos (Han et al., 2003).

O resveratrol (3,5,4′-trihidroxi-trans-estilbeno) é um polifenol encontrado em muitos extratos vegetais, incluindo uvas, amendoins e *cranberries*. É um membro da família estilbeno e precursor de outros estilbenos, como viniferinas e pterostilbeno (trans-3,5-dimetoxi-40-hidroxiestilbeno) (Atalayin et al., 2019; Li et al., 2020). Possui inúmeras funções biológicas, como atividade antimicrobiana, antiviral, antioxidante,

anti-inflamatória e anticâncer, por isso é amplamente utilizado em aplicações medicinais (Ferreira, Domingues, 2016; Kolouchová et al., 2018; Galiniak et al., 2019).

O resveratrol tem potencial protetor contra danos oxidativos, protegendo os fibroblastos orais dos indutores de espécies reativas de oxigênio (San Miguel et al., 2012; Lin et al., 2015; Li et al., 2018). Além de possuir a capacidade de inibir a atividade fisiológica de bactérias cariogênicas, diminuindo a produção de ácido e a tolerância a ácidos, inibindo a síntese de polissacarídeos solúveis em água e polissacarídeos insolúveis em água, comprometendo assim, a formação de biofilme e posteriormente, o desenvolvimento de cárie dentária (Vestergaard et al., 2019; Li et al., 2020).

Efeitos de produtos baseados em polifenóis, como o resveratrol, nas propriedades mecânicas, podem fornecer informações significativas sobre a capacidade da interface adesiva biomodificada pelo resveratrol em manter sua força, diminuir sua vulnerabilidade à carie secundária e à degradação por enzimas endógenas.

Novas estratégias para solucionar os desafios mencionados podem ser cruciais para aumentar a longevidade das restaurações adesivas (Perdigão et al., 2013). Assim foi avaliada a bioatividade do resveratrol incorporado ao sistema adesivo, por meio de testes de resistência de união, grau de conversão, resistência flexural e propriedades antibacterianas. Adicionalmente, caso apresente um potencial bioativo, colaborando com as propriedades do material, aumentando a estabilidade da interface adesiva e possuindo atividade antibacteriana, seria positivo acrescentá-lo na composição de outros produtos como nas resinas, na cimentação ortodôntica e em selantes, atuando na prevenção de cáries. Os resultados deste estudo inicial podem trazer inovações que terão relevância clínica, com a possibilidade de produção de um novo material.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Para facilitar a compreensão, a revisão da literatura será dividida em seis tópicos principais: Sistemas adesivos; Resveratrol; Teste de microtração; Grau de conversão; Resistência flexural; Atividade antibacteriana.

2.1 Sistemas adesivos

Buonocore (1955) iniciou a Odontologia Adesiva, através da introdução da técnica do condicionamento ácido do esmalte, criando-se assim, uma nova perspectiva nos procedimentos restauradores. O estudo mostrou que a adesão de discos de resina acrílica, com 5 mm de diâmetro, à superfície de esmalte foi maior quando este era condicionado com ácido fosfórico a 85% por 30 segundos, do que quando não recebia nenhum tratamento previamente à colocação da resina acrílica. O autor concluiu que o tratamento empregado promoveu a formação de microporosidades na superfície do esmalte, aumentando sua área superficial, a capacidade de umedecimento da superfície e, finalmente, permitindo a infiltração e a adesão mecânica da resina acrílica com a superfície do esmalte.

Nakabayashi et al. (1982) foram os primeiros a descreverem a formação da camada híbrida. O estudo avaliou um sistema adesivo à base de monômeros resinosos hidrofóbicos e hidrofílicos denominado 4 - metacriloxietil trimetacrilato anidro 4-META/metil metacrilato-tri-n-butil borano oxidizado (MMA/TBB-O), relacionando a sua efetividade associada a um agente condicionante composto pela união do cloreto férrico a 3% e ácido cítrico a 10%. Esta solução ficou conhecida como 10-3, pois essa combinação de ácidos removeu totalmente a lama dentinária e desmineralizou a dentina subjacente em aproximadamente 5 µm de profundidade. Foram utilizados cilindros de esmalte e dentina humana e bovina condicionados, onde os monômeros resinosos hidrofóbicos e hidrofílicos (4-META), infiltraram-se entre as fibras colágenas expostas e, posteriormente, foram polimerizados. As imagens foram observadas em microscopia eletrônica de varredura, uma região mista abaixo da

interface adesiva, com monômeros resinosos no interior da dentina desmineralizada e os autores a denominaram camada híbrida. Essa nova união micro-mecânica foi responsável pelos altos valores de união obtidos por essa técnica.

Pashley et al. (1988) observaram que a natureza distintamente globular de parte da *smear layer* da dentina, é criada com lixa ou brocas, além disso a matriz da dentina pode ser severamente alterada durante a criação da *smear layer*, pois o calor substancial e forças de cisalhamento podem ser geradas na superfície da dentina enquanto ela é cortada. Porém independentemente de como esses grânulos podem ser produzidos, os autores concluíram que eles são uma parte importante da subestrutura da *smear layer* da dentina, pois em uma adesão dentinária o material é colocado na dentina preparada e a adesão que se desenvolve é entre o material e a camada de *smear layer* e não a matriz de dentina mineralizada subjacente.

Pashley (1992) observou ainda que a remoção da camada de *smear layer* pelo condicionamento ácido ocasiona um aumento da permeabilidade da dentina, umidade superficial, potencial de irritação pulpar, desnaturação do colágeno e possível discrepância entre profundidade de desmineralização e capacidade de penetração do agente adesivo. Por isso, foi concluído que o sistema adesivo deve ser hidrofílico, ter afinidade à água, com capacidade de penetrar tanto em dentina intertubular como em dentina peritubular, além disso, a profundidade de desmineralização causada pelo ácido depende não só do tempo de condicionamento, como também da concentração, tipo de ácido utilizado e concentração mineral do substrato em questão.

Tay et al. (1998) realizaram um estudo com o objetivo de investigar a ultraestrutura da interface resina-dentina quando um sistema de *primer* contendo o sal de sódio de NTGGMA e BPDM (bifenil dimetacrilato) foi usado com diferentes concentrações de água como parte do solvente de *primer*. Os autores relataram que com o uso da versão de primer isenta de água, a hibridização ótima foi observada sempre que a dentina foi seca antes da adesão. Na versão com 5% de água, a dessecação prolongada resultou em hibridação comprometida, enquanto os glóbulos de resina foram observados na superfície da camada híbrida quando foi empregada uma técnica úmida. Na versão de 17% de água, bolhas de superfície e glóbulos característicos do "fenômeno de *overwet*" foram observados. Foi concluído que entre os dois extremos de um espectro morfológico de condições de adesão, as diferentes

versões de *primers* exibiram diferentes faixas de sensibilidade. Houve uma mudança na 'janela de oportunidade' para a hibridização ótima e vedação tubular, dependendo do teor de água do sistema de *primer* investigado.

Segundo um estudo de Tay et al. (1996), o excesso de umidade leva à separação de fases da solução *primer* ou *primer*-adesivo nos sistemas à base de acetona e a diluição dos componentes resinosos em adesivos que possuem a água como solvente ou co-solvente. Além disso, de acordo com o estudo, o excesso de água ocupa espaço dentro dos túbulos dentinários e isso impede a formação de *tags* de resina. Por outro lado, os espaços interfibrilares diminuem com a falta de água, ocorrendo falha na infiltração dos monômeros resinosos para a formação da camada híbrida.

Diante das circunstâncias na técnica de adesão úmida, surgiram no mercado, no início dos anos 90, sistemas adesivos que não necessitam de condicionamento prévio com ácido fosfórico, com isso ocorre maior controle da umidade no substrato dentinário. Esse sistema recebeu o nome de adesivo autocondicionante. Os adesivos autocondicionantes são bem adotados na prática geral, pela facilidade de uso e ao rápido tempo de aplicação. No entanto, o ácido fosfórico ainda é frequentemente recomendado para condicionar somente o esmalte seguindo uma maneira chamada técnica "seletiva", isto em particular quando a maioria das margens da cavidade terminam em esmalte.

Por isso, o objetivo do estudo de Hanabusa et al. (2012), foi testar se um novo adesivo autocondicionante de uma etapa pode ser aplicado de maneira completa ou seletiva, usando duas abordagens diferentes, *etch-and-rinse* ou autocondicionante. Foram utilizados vinte e cinco terceiros molares humanos não cariados que foram armazenados em cloramina / água a 0,5% a 48º C e foram utilizados no prazo de 1 mês após a extração. Os dentes foram divididos aleatoriamente em dois grupos principais, seguindo-se 5 protocolos de adesivo. O primeiro foi selecionado e aplicado ao esmalte "recortado", seguindo-se um *self-etch* ou um protocolo de adesivo *etch-and-rinse*, e dentina após um autocondicionamento, uma união a seco ou um protocolo de adesivo de adesão úmida *etch-and-rinse*. A partir deste estudo, pode-se concluir que a eficácia de adesão do adesivo autocondicionante de uma etapa, pode ser melhorado se as margens do esmalte forem condicionadas seletivamente com ácido fosfórico. Na dentina, uma abordagem autocondicionante é preferida, uma vez

que a análise interfacial revelou claramente baixa qualidade de hibridização. Embora o condicionamento prévio da dentina não tenha reduzido a força de adesão "imediata", espera-se que a estabilidade da adesão seja menor do que a produzida quando o adesivo de uma etapa é aplicado à dentina após uma abordagem autocondicionante.

Perdigão (2010), concluiu que as variações morfológicas e físicas na dentina humana, fazem dela um substrato difícil para a obtenção de uma união durável entre resina e dentina. Como foi observado por Ryou et al. (2013), segundo os autores, a redução da integridade da camada híbrida facilita a perda de adesão. O estudo explorou as variações espaciais no comportamento mecânico de dentina infiltrada em resina usando análise dinâmica nanoscópica (DMA). Espécimes de dentina completamente desmineralizados infiltrados com adesivo comercial e controle foram avaliados. A importância da hidratação no comportamento mecânico também foi avaliada a partir da comparação de respostas nas condições de dentina hidratada e desidratada. Foi concluído que a microestrutura e a hidratação desempenham papéis críticos no comportamento mecânico da camada híbrida.

De acordo com Tjäderhane et al. (2013), 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.

A literatura científica frequentemente mostra que a ligação resina-dentina obtida com sistemas adesivos atuais é propensa à degradação por MMPs ao longo do tempo (Tjäderhane et al., 2013; Yiu et al., 2012), incentivando o desenvolvimento de novos estudos nesse campo.

Por esse motivo, Silva et al. (2015), desenvolveram sistemas adesivos experimentais de condicionamento ácido total contendo inibidores de MMPs (GM1489, Galardin, Batimastat e diacetato de clorexidina) e avaliaram sua porcentagem de grau de conversão, sorção de água, solubilidade e estabilidade da união resina-dentina, por um período de doze meses. Os inibidores de MMP Galardin, Batimastat e GM1489, na concentração de 5 mM, e diacetato de clorexidina na concentração de 2% em peso foram incorporados em quatro adesivos experimentais, contendo HEMA, TEGDMA, 4-META, EDMAB e canforoquinona. O sistema adesivo

experimental sem qualquer inibidor de MMP foi utilizado como controle e o sistema adesivo, Adper Single Bond 2 foi utilizado como grupo controle comercial. Os autores concluíram que sistemas adesivos experimentais com GM1489 e diacetato de clorexidina apresentaram as melhores propriedades físico-químicas e preservaram a estabilidade resina-dentina após 12 meses de armazenamento de água. O GM1489 pode ser adequado para inclusão como um inibidor de MMP em sistemas adesivos de condicionamento ácido total, para manter a estabilidade da ligação resina-dentina ao longo do tempo.

Amaral et al. (2016) também desenvolveram adesivos experimentais de condicionamento ácido total, investigando a influência da concentração de 4-META e do tipo de solvente no grau de conversão e na estabilidade da ligação resina-dentina. Quatro concentrações diferentes de 4-META (12% em peso, 20% em peso, 30% em peso, 40% em peso) foram adicionadas a um sistema adesivo modelo consistindo em TEG-DMA (25% em peso), UDMA (20% em peso), HEMA. (30% em peso), água (4% em peso), canforoquinona (0,5% em peso) e amina terciária (0,5% em peso) dissolvidos em 20% de acetona ou 20% de etanol. A porcentagem de grau de conversão foi avaliada por espectroscopia de FTIR. A resistência à microtração foi avaliada após 24 h, 6 meses e 1 ano de armazenamento de água a 37 °C. Independentemente do tipo de solvente orgânico, a incorporação de concentrações elevadas de 4-META (40% em peso) melhorou a estabilidade da ligação resina-dentina dos sistemas adesivos de condicionamento ácido total experimentais durante um período de 1 ano.

Delaviz et al. (2019), investigaram oligômeros antimicrobianos sintetizados a partir de ciprofloxacina e metronidazol, quanto ao seu potencial uso em adesivos dentários. Adesivos experimentais foram preparados utilizando os monômeros comerciais bisfenol A diglicidilmetacrilato (BisGMA) e HEMA combinado com os oligômeros antimicrobianos. Eles foram caracterizados quanto à viscosidade e tenacidade à fratura interfacial. A suscetibilidade da bactéria cariogênica *Streptococcus mutans* à combinação foi avaliada. A estabilidade hidrolítica e a liberação do fármaco a partir dos oligômeros foram estudadas em condições de tampão e simuladores da saliva humana. A citotoxicidade de filmes com oligômeros de fármacos a 15% em peso co-polimerizados com monómeros comerciais foi avaliada utilizando fibroblastos gengivais humanos. Foi concluído que os oligômeros

antimicrobianos podem ser incorporados em sistemas adesivos odontológicos usando formulações que mostram resistência à fratura comparável a materiais comerciais, e podem oferecer um meio de fornecer a liberação de fármaco antimicrobiano local na interface marginal.

Recentemente Zhao et al. (2022) relataram que os sistemas adesivos dentinários sofrem com a falta de bioatividade e são propensas à hidrólise. Portanto, para superar essas limitações, fizeram um estudo, na qual um monômero natural ecologicamente correto, o urushiol (0,5, 0,7 e 1% em peso), foi adotado como *primer* na adesão à dentina devido à sua interação com o colágeno e atividade antibacteriana, impedindo o desenvolvimento de hidrólise adicional. Primeiro, o urushiol foi determinado para ser capaz de melhorar a estabilidade biológica do colágeno da dentina através do *cross-linking*. Usando técnicas de química analítica de alta fidelidade, como a Espectroscopia de Infravermelho Transformada de Fourier, foram quantificados os efeitos do urushiol nas moléculas de colágeno. Foi observado que o urushiol inibiu o crescimento de *Streptococcus mutans*, bem como a formação de biofilme. Por fim, foi concluído que o primer urushiol pode melhorar a resistência de união, principalmente após o envelhecimento. As funções de reticulação e antibacteriana do urushiol forneceram perspectivas de desenvolvimento promissoras para biomateriais na adesão à dentina.

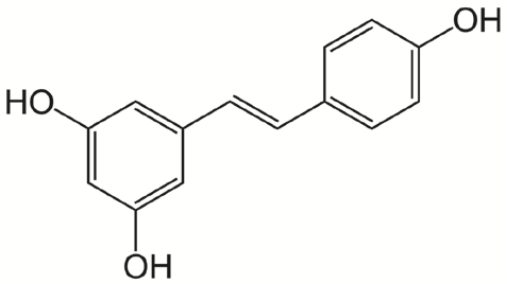
2.2 Resveratrol

O resveratrol (3,5,4′-trihidroxi-trans-estilbeno) consiste em um composto dietético natural de plantas encontrado principalmente na casca e nas sementes da uva, mas também em vinhos e vários outros tipos de alimentos vegetais, especialmente amendoim, frutas vermelhas e chá (Shrikanta et al., 2015). Considerado uma fitoalexina polifenólica pertencente à família do estilbeno, é sintetizado por mais de 70 espécies de plantas em resposta a infecções, estresse, lesões, infecções bacterianas ou fúngicas e radiação UV (Hasan, Bae, 2017).

Segundo Gambini et al. (2015) o resveratrol possui dois anéis fenólicos (monofenol e difenol) unidos por uma ligação dupla de estireno e existe nas formas

isoméricas cis e trans. O trans-resveratrol (Figura 1) tradicionalmente é a forma mais estudada devido ao fato de ser mais estável, além de ser biologicamente mais ativa que seu isômero cis. Esta molécula possui três grupos hidroxila que estão envolvidos na eliminação de radicais livres e na quelação de metais (Gülçin, 2010). A presença de grupos hidroxila também facilita a interação com macromoléculas.

Figura 1 - Estrutura do trans-resveratrol



Fonte: Galiniak et al., 2019.

A partir de 1992, o resveratrol passou a ser mais estudado em relação aos seus benefícios em doenças cardíacas. Os estudos revelaram ao logo do tempo que o resveratrol possui uma ampla gama de propriedades biológicas, incluindo atividade antiglicante, antioxidante, antiinflamatória, antibacteriana, neuroprotetora, anticancerígena e antienvelhecimento em vários modelos experimentais *in vitro* e *in vivo* (Öztürk et al., 2017; Rauf et al., 2017; Jardim et al., 2018; Li et al., 2018; Salehi et al., 2018).

Além disso, o resveratrol é de grande interesse na indústria de alimentos, pois apresenta um papel importante na redução da oxidação lipídica dos tecidos. Portanto, quando incorporado nos produtos alimentícios, ajuda a conservar a qualidade do alimento, além de reduzir o risco de desenvolvimento de algumas doenças quando incorporado na alimentação (la Porte et al., 2010)

Atualmente, a pesquisa do resveratrol abrange um amplo espectro de áreas e é objeto de considerável atenção científica, em particular, investigações de sua atividade biológica e os efeitos da administração de resveratrol em inúmeras doenças

em ensaios clínicos e não clínicos.

Atalayin et al. (2015) relataram que o resveratrol exibe alta biocompatibilidade e inativa a expressão de MMP-2 e MMP-9 em diferentes tecidos ou células. Foi avaliada a citotoxicidade de quatro agentes adesivos dentinários e os efeitos de uma adição antioxidante (resveratrol). Grupo A: G-aenial Bond, Grupo B: Optibond All in One, Grupo C: Gluma Self Etch e Grupo D: Clearfil S3 Bond foram adicionados ao meio usando o método de extração. As células foram cultivadas com ou sem adição de resveratrol (RES). Medições de MTT, espécies reativas de oxigênio (ROS), DCF, Cometa e 8-OHdG foram realizadas. Foi concluído que a adição de RES teve efeitos geralmente positivos na viabilidade celular e redução do estresse oxidativo, produção de ROS e danos ao DNA. Assim, a adição de RES pode contribuir para a biocompatibilidade dos agentes adesivos dentinários. No entanto, o efeito protetor do RES contra a citotoxicidade varia de acordo com o conteúdo do agente de união à dentina. Essa variação pode estar associada à interação entre o RES e os componentes estruturais dos adesivos dentinários. Portanto, também é necessário investigar as influências da adição de RES nas propriedades mecânicas (como resistência de união, microinfiltração etc.) dos agentes adesivos dentinários com mais estudos.

Um estudo de Li et al. (2020) certificou que a atividade de *S. mutans* pode ser restringida pelo resveratrol ao afetar a produção de ácido glicolítico. O estudo avaliou o efeito do resveratrol, nas propriedades de virulência de *S. mutans*. Foi relatado que o resveratrol em níveis sub-MIC diminuiu significativamente a produção de ácido e a tolerância a ácidos, inibiu a síntese de polissacarídeos solúveis em água e polissacarídeos insolúveis em água, comprometendo a formação de biofilme. A expressão gênica de virulência relacionada (ldh, relA, gtfC, comDE) foi regulada negativamente com concentrações crescentes de resveratrol. Foi concluído então que o resveratrol tem um efeito inibitório nas propriedades de virulência cariogênica de *S. mutans* e representa um promissor agente anticariogênico.

Recentemente um estudo de Guo et al. (2021) avaliou a influência do adesivo incorporado com resveratrol na durabilidade e na capacidade antibiofilme da união dentinária. Adesivos experimentais foram preparados incorporando resveratrol em um adesivo universal nas concentrações de 0 (controle), 0,1, 1 e 10 mg/mL. A resistência de união à microtração, modos de fratura e nanoinfiltração na interface adesivo-

dentina foram avaliados após 24 horas de armazenamento em água, 10.000 vezes de termociclagem ou 1 mês de envelhecimento com colagenase. A capacidade antibiofilme relevante em *S. mutans, zimografia in situ*, grau de conversão e citotoxicidade de adesivos incorporados com resveratrol também foram determinados. Os autores concluíram que aplicação de adesivo incorporado com resveratrol pode efetivamente preservar a força de união e reduzir a nanoinfiltração após termociclagem ou envelhecimento da colagenase. Além disso, a capacidade inibitória na formação de biofilme *S.mutans* e atividade de proteases endógenas com biocompatibilidade aceitável foram alcançadas. Esses achados demonstraram que o adesivo incorporado com resveratrol desenvolvido sugere potencial para melhorar a durabilidade da união e gerenciar cáries secundárias, implicando uma tática promissora para aumentar a vida útil das restaurações adesivas.

2.3 Teste de microtração

O teste de microtração foi introduzido por Sano et al. (1994) com o objetivo de analisar a resistência de união da interface adesiva, estudando o relacionamento entre a área de superfície adesiva e a resistência de união à tração. As dimensões dos espécimes foram reduzidas pelos autores, a fim de se obter pequenas áreas de dentina. Terceiros molares com porções de esmalte oclusal, mesial e distal removidas, para obtenção dos espécimes. Os grupos foram então divididos de acordo com o tipo de sistema adesivo aplicado: sistema adesivo convencional Scotchbond Multi-Purpose (3M ESPE) e sistema adesivo autocondicionante Clearfil Liner Bond 2 (Kuraray). Em seguida, restaurações foram realizadas com 3-5 mm de espessura, em resina composta ou ionômero de vidro e os espécimes foram armazenados em água destilada a 37 ºC por 24 h. Após este tempo, as raízes foram removidas e pequenos cortes variando de 0,5 mm a 3 mm de espessura foram realizados em direção ao longo eixo do dente. Amostras compostas por restauração, interface adesiva e dentina foram então obtidas. A espessura da interface foi reduzida com o auxílio de pontas diamantadas esféricas dando-lhe o formato de ampulheta. Os autores variaram a espessura e a largura da interface adesiva. Para a realização do teste de tração, os

espécimes foram fixados com cola de cianoacrilato a um dispositivo específico e encaixados em uma máquina de ensaios universal com velocidade de 1mm/min. De acordo com os resultados, a resistência de união para as interfaces com áreas menores do que 0,4 mm^2 foi de aproximadamente 55 MPa para o Clearfil Liner Bond, 2,38 MPa para o Scotchbond Multi-Purpose e 20 MPa para o Vitremer. Para essas áreas reduzidas, todas as falhas foram na interface adesiva. Os autores observaram que a resistência de união foi inversamente proporcional à área da superfície adesiva e que o teste de microtração promove naturalmente falhas adesivas. E concluíram que, o novo método permite medir altos valores de resistência adesiva, sem falhas coesivas em dentina, e possibilita múltiplas medidas a partir de um único dente.

Ao longo dos anos, foram propostas alterações ao método inicialmente descrito, em relação ao tamanho e formato dos espécimes, método de corte para obtê-los e dados considerados para análise estatística. Schreiner et al. (1998) confeccionaram espécimes em formato de ampulheta ao invés de palito. Os autores concluíram que com relação à resistência adesiva, espécimes em forma de palito apresentaram valores significantemente maiores que os obtidos em forma de ampulheta. Fatias foram obtidas a partir de cortes iniciais no dente a ser testado, logo após foram desgastadas na interface adesiva por meio de ponta diamantada esférica em alta rotação, onde se reduziu a área de união a ser testada. No entanto, uma maior incidência de fraturas prematuras, principalmente para materiais com resistência adesiva relativamente baixa, foi associada à metodologia de obtenção de espécimes em forma de ampulheta.

Pashley et al. (1995), relataram o processo de adesão nos diferentes substratos através de uma revisão de literatura sobre o ensaio de microtração. Foram estudadas as variáveis envolvidas durante o condicionamento ácido, aplicação do “primer” e do adesivo. Segundo os autores, para os sistemas adesivos atuais, este ensaio apresenta como vantagens valores de união entre 20-30 Mpa. Além dos elevados valores de união, o padrão de fratura encontrado é, predominantemente, adesivo, com poucas fraturas coesivas. O teste de microtração permite a mensuração de valores de união exclusivamente da interface adesiva, mesmo que estas sejam pequenas áreas, permitindo inclusive a análise de superfícies irregulares. A obtenção de corpos-de-prova com uma interface de união de 1 mm^2, facilita a avaliação em microscopia eletrônica de varredura. Os autores também relataram como uma

vantagem do ensaio, o cálculo da média e desvio-padrão utilizando apenas um dente. Como desvantagens, o método apresenta um período laboratorial intensivo, com uma técnica sofisticada, necessitando de equipamentos especiais. Também existe uma dificuldade da mensuração de valores abaixo de 5 MPa. Além disso, devido as pequenas dimensões dos corpos-de-prova a desidratação dos mesmos é outro fator a ser considerado.

Cardoso et al. (1998), avaliaram três sistemas adesivos, utilizando o teste de microtração, cisalhamento e tração. Para isso, foram utilizados 30 molares humanos embebidos em resina acrílica e 3 superfícies do mesmo dente foram expostas para a realização de cada tipo de teste. Os resultados do estudo demonstraram que todos os testes classificaram a mesma ordem para os sistemas adesivos. O teste de microtração não indicou diferenças estatísticas entre os sistemas adesivos. O teste de cisalhamento demonstrou que o sistema adesivo Single Bond 2 apresentou resultados significativamente superior do adesivo *Etch & Prime 3.0*. Porém, o adesivo *Scotchbond Multi-Purpose* não diferiu de nenhum dos outros dois sistemas adesivos. O teste de tração encontrou os mesmos resultados do teste de cisalhamento. Os autores relataram que ao comparar os diferentes testes, o teste de microtração demonstrou os valores mais altos de médias e o menor coeficiente de variação entre os testes. Com isso, os autores concluíram que dependendo do teste utilizado resultados diferentes podem ser encontrados.

Pashley et al. (1999), realizaram uma revisão de literatura com o objetivo de descrever as modificações propostas para o de ensaio de microtração, possibilitando que os pesquisadores adotem as modificações que melhor julgarem. Os corpos-de-prova do ensaio de microtração podem ser obtidos de 2 maneiras diferentes. Podendo ser confeccionados na forma de palito ou de fatia. As fatias apresentam de 0,5 a 1mm de espessura, posteriormente, as interfaces de união das fatias são desgastadas para a obtenção de áreas de união de 0,5 a 1mm^2 de maneira a concentrar as forças de tração na interface a ser testada. A principal vantagem do ensaio é a obtenção de múltiplos corpos-de-prova de apenas um único dente. O ensaio de microtração pode ser utilizado para medir valores de união de diferentes regiões dentinárias, como a região oclusal, coronária, cervical e intrapulpar. Assim fornece subsídios para comparar dentina normal versus dentina cariada ou dentina normal versus dentina cervical esclerótica. A técnica se mostra adequada para a avaliação da durabilidade

da interface de união da resina e tecidos dentais duros. Desta forma, os autores concluíram que o ensaio de microtração oferece uma maior versatilidade de técnica em relação aos ensaios convencionais. Entretanto, uma técnica mais refinada, proporcionando uma análise adequada da resistência de união de materiais adesivos e substratos.

Tanumiharja et al. (2000), avaliaram a resistência de união de sete sistemas adesivos e os respectivos padrões de fraturas. As superfícies oclusais dentinárias de vinte e oito molares humanos foram expostas e foram aplicados os diferentes sistemas adesivos: Solid Bond, EBS- Multi, PermaQuik, One Coat Bond, Gluma One Bond, Prime & Bond NT/NRC e Clearfil Liner Bond. Após a aplicação dos diferentes sistemas adesivos, blocos de resina composta, Silux Plus, foram confeccionados e cortados para a obtenção de fatias. Os resultados demonstraram que os sistemas Clearfil e PermaQuik não diferiram entre si, mas apresentaram os maiores valores de união quando comparados com os demais sistemas. Já os valores de união dos adesivos Solid Bond, EBS- Multi, One Coat Bond e Gluma One Bond não diferiram estatisticamente entre si.

Loguercio et al. (2005a) avaliaram a variabilidade intradentes e interdentes de resistência de união à microtração, utilizando dois diferentes tipos de sistemas adesivos aplicados à dentina. Vinte molares humanos tiveram o esmalte oclusal removido para a exposição da dentina. Foram então divididos de acordo com o tipo de sistema adesivo aplicado: sistema adesivo Single Bond (3M ESPE) e sistema adesivo One Step (Bisco). Em seguida, foram confeccionadas restaurações em resina composta Filtek Z250 (3M ESPE). O armazenamento dos espécimes se deu em água destilada à 37 ºC por 24 h. Logo após, os dentes foram seccionados para se obter palitos com uma interface de aproximadamente 0,8 mm^2. Para a realização do teste de microtração foi utilizada uma máquina de ensaios universal a uma velocidade de 0,5 mm/min. A análise de fratura foi feita em estereomicroscópio com um aumento de 400x. Para a análise estatística, os autores observaram a variância de efeito randomizado (interdentes) e a variância de erros (intradentes). A variabilidade intradentes foi maior do que a variabilidade interdentes. Assim os autores concluíram que os palitos de um mesmo dente não podem ser considerados como unidade experimental, pois não preenchem todos os requisitos para utilização do modelo estatístico ANOVA. Portanto, a unidade experimental a ser considerado nos testes de

microtração deve ser o dente.

Loguercio et al. (2005b) fizeram um estudo para avaliar a influência da região nos valores de união e a durabilidade da interface resina/dentina. Trinta terceiros molares humanos tiveram a dentina exposta e todo o esmalte periférico removido. Dois sistemas adesivos (Single Bond e *One-Step*) foram aplicados na dentina e camadas de resina composta (Z-250) foram aplicadas para a obtenção de um bloco de resina composta. Estes dentes foram divididos em 3 grupos (n=5). O grupo A apresentou palitos com uma área de união de 0,8mm^2, os quais foram submetidos ao ensaio imediatamente após a sua confecção. No grupo B os dentes restaurados foram armazenados, durante 6 meses, antes da realização dos cortes em palitos. No grupo C, as restaurações foram seccionadas em palitos, sendo estes armazenados durante 6 meses até a realização do ensaio mecânico. Nos grupos A e B, a localização dentinária dos palitos (periféricos e centrais) foi avaliada. Os valores de união foram expressos, utilizando-se um index que considera as falhas do tipo coesivas e estima os valores das falhas prematuras dos palitos. A Análise de Variância, um critério, e o teste de Tukey foram realizados (α=0,05) para a comparação entre os grupos A, B e C. Para a avaliação tempo e região dentinária, para cada sistema adesivo, foi aplicada a ANOVA, dois critérios. Os resultados demonstraram que para o sistema adesivo Single Bond, os valores do grupo A foram significantemente maiores que para os grupos B e C. Já para o sistema *One Step*, o grupo A apresentou melhores resultados que o grupo B, o qual demonstrou maiores valores de união que o grupo C. Já para a análise da região dentinária, não houve diferença entre as regiões quando o ensaio de microtração foi realizado imediatamente após a confecção dos espécimes. Entretanto, após 6 meses de armazenagem, os palitos da região central dentinária demonstraram valores de união superiores dos palitos localizados na região periférica. Os autores concluíram que o corte e posterior armazenamento alteram os valores de união e que os valores de união são menores na periferia da dentina quando comparados com os palitos localizados na região central do dente.

Camargo et al. (2007) analisaram o teste de microtração e as variáveis relacionadas a ele, desde a obtenção dos corpos de prova até a análise de fraturas, através de uma revisão crítica da literatura. Algumas vantagens do teste desenvolvido por Sano et al. (1994) foram destacadas pelos autores: a análise de diferentes regiões de um mesmo dente (variando profundidade ou a mineralização tecidual) se tornou

possível; a análise da interface adesiva foi aperfeiçoada; houve a diminuição da ocorrência de falhas coesivas; a obtenção de um grande número de corpos de prova a partir de um mesmo dente; análise de fratura através de MEV ou MET. Contudo, de acordo com Camargo et al. (2007), quando o palito é considerado como unidade experimental incorre-se numa falha estatística, pois os dados são tratados de forma independente quando não o são, já que os palitos provenientes de um mesmo dente receberam o mesmo tipo de tratamento. Assim, para efeito de análise estatística, o dente deve ser tratado como unidade experimental e a média calculada a partir dos espécimes testados de cada dente deve ser considerada.

Armstrong et al. (2010) realizaram uma revisão crítica da literatura a respeito da mecânica, geometria, aplicação de carga e outros parâmetros dos testes de resistência adesiva, microcisalhamento e microtração, citando suas vantagens e limitações. De acordo com os autores uma das vantagens do design de pesquisa dos testes “micro” é a possibilidade de testar vários espécimes a partir de um único dente, isso não é possível com os métodos convencionais “macro”. A distribuição de forças, a resistência adesiva e o modo de falha são influenciados pelo modo de fabricação do espécime, dispositivo de fixação e pelo método de aplicação de carga, somados às propriedades dos materiais que compreendem a resina, o dente e a interface adesiva. Entre as vantagens desses testes de resistência adesiva estão: 1) possível avaliação da resistência de união localizada; 2) avaliação da variabilidade intra e interdente; 3) menor número de falhas coesivas no substrato; 4) avaliação da espessura de dentina remanescente; 5) possibilita estudos químicos, morfológicos e mecânicos de uma mesma amostra; entre outras. Os testes “micro” também apresentam certas limitações, entre elas: 1) são trabalhosos e exigem boa técnica; 2) oferecem dificuldade para avaliar resistência de união muito baixa (valores menores que 5 MPa); 3) as amostras podem ser facilmente danificadas ou perdidas; 4) falta de consenso para a realização dos testes; 5) falta de consenso para se reportar a ocorrência e falhas pré-teste; entre outras. Para os autores o uso da análise de elementos finitos e a compreensão dos relatórios de conduta do teste podem auxiliar na padronização dos procedimentos. E para um futuro próximo, tantos os testes “micro” quanto os “macro”, permanecem como importantes ferramentas para análise de resistência adesiva assim como, as técnicas investigativas morfológicas e espectroscópicas, a fim de aumentar a vida útil das restaurações de resina composta.

Raposo et al. (2012) realizaram um estudo com o intuito de avaliar o efeito do dispositivo de fixação de espécimes para testes, a geometria do espécime, o método de fixação no teste de microtração, o modo de fratura e a distribuição de forças, utilizando um sistema adesivo etch-and-rinse de 2 passos (Adper Single Bond II; 3M ESPE) na adesão a dentina humana. Foram utilizados 21 molares humanos que tiveram a superfície oclusal removida a fim de expor a dentina. As superfícies dentinárias receberam o sistema adesivo, que foi aplicado de acordo com as instruções do fabricante. Uma fina camada de resina composta (Filtek Z250, Cor A2; 3M ESPE), 0,5 mm, foi colocada sobre o adesivo fotopolimerizado, tendo suas margens totalmente localizadas em dentina. Após, restaurações com a mesma resina foram realizadas. Em seguida, os dentes foram estocados em saliva artificial por 24 h em temperatura ambiente. Passado o período de armazenamento, cada dente foi seccionado em duas metades sendo que, de uma das metades foram obtidos 4 espécimes em forma de palito com uma interface de 1 mm^2, e da outra metade foram obtidos dois espécimes de 2 mm^2 que foram desgastados até obterem a forma de um halter com uma interface de 1mm com um raio de curvatura de 0,6 mm. Os espécimes foram divididos de acordo com os seguintes grupos experimentais: Di – espécimes em forma de halter fixados no dispositivo Dircks (n = 42); GeS - espécimes em forma de palito fixados no dispositivo Geraldeli's com cola de cianoacrilato Superglue Gel (Loctite; Henkel Corp; Avon); GeZ - espécimes em forma de palito fixados no dispositivo Geraldeli's com cola de cianoacrilato Zapit (Dental Ventures of America Inc.; Corona). Os espécimes foram levados a uma máquina de ensaios universal a uma velocidade de 1 mm/ min. O modo de fratura foi analisado com o estereomicroscópio e a localização da fratura inicial por MEV e espectroscopia por energia dispersiva de Raio – X. Foram criados modelos tridimensionais para cada dispositivo/espécime para a análise de elementos finitos. De acordo com os resultados encontrados o efeito do tipo de dispositivo empregado não foi significante e o tipo de falha não foi influenciado pelo dispositivo; o uso do dispositivo *Dircks* foi menos sensível ao erro humano do que *Geraldeli's*, e proporcionou uma distribuição de forças mais uniforme na camada adesiva dos espécimes em forma de halter do que *Geraldeli's* na camada adesiva dos espécimes em forma de palito; os espécimes que receberam repetidas aplicações de cola apresentaram melhores médias de resistência adesiva do que aqueles que receberam apenas uma aplicação de cola. Os

autores concluíram que os parâmetros para o teste de microtração podem influenciar diretamente os resultados e consequentemente as comparações interestudos.

Campillo-Funollet et al. (2014) realizaram um estudo a fim de explicar a influência da singularidade do stress na interface periférica do espécime no teste de resistência adesiva levando em consideração o efeito tamanho dependente do espécime. Foram avaliadas as singularidades teoricamente previstas e o efeito do tamanho do espécime na medição da resistência adesiva. Para tanto, diferentes modelos (ampulheta, cilíndricos e em forma de halter) foram criados, como também, ambientes de estudo com aplicação de altos níveis de carga e diferentes situações por meio do ANSYS Meshing (v 14); os métodos de elementos finitos e de elementos de contorno foram utilizados para a análise de resistência de união dos espécimes; a presença de altas concentrações de forças e singularidades também foi analisada. O efeito do tamanho dos espécimes foi comparado com dados anteriormente publicados. Os resultados mostraram que a análise elementos finitos dos modelos de um único material em forma de ampulheta versus os de formato cilíndrico resultou diferentes distribuições de força; quando utilizado o formato cilíndrico ou de halter houve uma distribuição de carga mais homogênea no plano crítico simétrico. Para espécimes multimateriais, singularidades matemáticas na borda livre da interface adesiva se tornaram um desafio computacional, o que resultou em uma malha - dependência no padrão de análise de elementos finitos. Em uma análise ponderada do método de elementos de contorno, o design eliminou a malha - dependência pela captura do efeito da singularidade, mostrando então, que o efeito do tamanho do espécime corresponde aos dados já publicados anteriormente na literatura. Os autores concluíram que a atenção ao tamanho do espécime ampliou o uso empírico dos métodos de microtração. A análise dos métodos de elementos finitos e de elementos de contorno identifica as concentrações de forças e que, especialmente, as singularidades das forças marginais devem ser consideradas durante os testes de resistência de união, pois os tornam mais confiáveis. As variações de resistência tamanho – dependentes geralmente atribuídas aos efeitos da distribuição de falhas através da região interfacial não foram tão relevantes como a presença de singularidades nos limites de união. Além disso, o efeito tamanho dependente da amostra deve ser considerado na avaliação ou concepção de novos sistemas adesivos.

Armstrong et al. (2016) publicaram diretrizes com o objetivo de auxiliar o pesquisador na realização do teste de microtração. Segundo os autores, a adesão às estruturas dentárias deve fornecer força retentiva, vedação marginal, ser relativamente simples de executar e ter durabilidade clínica. Melhorias futuras na adesão à estrutura dentária requerem métodos de teste *in vitro* que fornecem dados confiáveis para o desenvolvimento de materiais e / ou avaliação de variáveis experimentais. O objetivo do projeto foi identificar um método de teste relativamente fácil de executar, reproduzível e útil para a previsão de resultados clínicos. O teste de resistência de união à microtração, especialmente após submeter as amostras a um desafio de durabilidade, é atualmente recomendado pelos autores como a melhor medida de avaliação da retenção da restauração do composto dental. As orientações publicadas destinaram-se a ajudar o pesquisador na realização do teste de microtração.

Cardoso et al. (2019) avaliaram a resistência de união à dentina imediata e por 6 meses de adesivos universais usados nas estratégias de união etch-and-rinse ou self-etch. Os adesivos testados foram Ambar Universal, G-Bond, Single Bond Universal, Tetric N-Bond Universal e Ybond Universal. Os adesivos padrão ouro (Scotchbond Multipurpose Plus e Clearfil SE Bond) foram utilizados como controles. Foram avaliadas a resistência da união à microtração (n = 5 dentes), pH e conversão C = C (n = 3). Os dados foram analisados em $\alpha = 0,05$. Segundo o estudo, todos os adesivos apresentaram diferenças no pH. A conversão C = C foi diferente na maioria dos adesivos. A maioria dos adesivos apresentou quedas discretas na resistência de união durante o envelhecimento quando usadas na estratégia de autocondicionamento. Os autores concluíram que o desempenho da adesão de adesivos universais à dentina depende do material. Em geral, parece que o uso de adesivos universais na dentina não deve ser precedido pelo condicionamento com ácido fosfórico.

2.4 Grau de conversão

Dentre as técnicas encontradas para medir a polimerização dos compósitos odontológicos, a espectrofotometria de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) tem sido amplamente utilizada. Através desta técnica consegue-se determinar diretamente o grau de conversão (DC) da resina (quantidade de duplas ligações entre carbonos que foi quebrada durante o processo de polimerização) e, consequentemente, avaliar a sua polimerização (Imazato et al., 2001; Calheiros et al., 2008; Finan et al., 2013).

Arrais et al. (2007) realizaram um estudo que avaliou o efeito do diodo emissor de luz azul (LED) e halogênio de quartzo tungstênio (QTH) sobre o grau de conversão (DC) de um sistema adesivo. Foi utilizado Single Bond (SB) do tipo *etch-and-rinse* e uma mistura composta de solução de *primer* e ligação de resina do sistema adesivo autocondicionante Clearfil SE Bond (CB). Foi realizada análise de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Os adesivos foram aplicados nas superfícies das pastilhas de brometo de potássio e as análises FTIR foram realizadas antes e depois da fotoativação por 10 s com unidades de fotoativação LED (Freelight 1 - 400 mw/cm²) ou QTH (XL 3000 - 630 mw/cm²) (n=8). Espectros FTIR adicionais foram obtidos de amostras fotoativadas armazenadas em água destilada por 1 semana. A DC foi calculada comparando os espectros obtidos das resinas adesivas antes e depois da fotoativação. Ambos os sistemas adesivos exibiram baixa DC (%) imediatamente após a fotoativação (SB/QTH: 18,7 ± 3,9; SB/LED: 13,5 ± 3,3; CF/QTH: 13,6 ± 1,9; CF/LED: 6,1 ± 1,0). A DC das amostras fotopolimerizadas com LED foi menor do que a DC das fotopolimerizadas com QTH, imediatamente após a fotopolimerização e após 1 semana (SB/QTH: 51,3 ± 6,6; SB/LED: 50,3 ± 4,8; CF/QTH: 56,5 ± 2,9; CF/LED: 49,2 ± 4,9). Os autores concluíram que a unidade de fotoativação LED usada para fotoativar os sistemas adesivos, promoveu menor DC do que a unidade de fotoativação QTH, imediatamente após a fotoativação e 1 semana após o armazenamento em água.

Yazdi et al. (2015) realizaram um estudo com o objetivo de investigar o efeito de diferentes concentrações de monômero de 10-metacrilo-iloxidecil di-hidrogeno fosfato (10-MDP) em adesivos autocondicionantes experimentais de um passo na resistência de união ao microcisalhamento dentinário (µSBS), seu grau de conversão e microestrutura ligada. Os autores utilizaram cilindros de resina composta (Clearfil

AP-X) que foram colados em superfícies dentinárias de molares humanos hígidos usando cinco adesivos autocondicionantes experimentais de um passo (1-SEAs) contendo 0% (E0), 5% (E5), 10% (E10), 15% (E15), 20% (E20) (em peso) monômero 10-MDP e Clearfil S3 Bond (CS3) como controle. Após 24 horas, a resistência de união ao microcisalhamento foi testada. O grau de conversão também foi medido usando espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier. A ultraestrutura interfacial foi observada ao microscópio eletrônico de varredura em todos os grupos. Foi concluído que a quantidade de monômero funcional em 1-SEAs influencia tanto o desempenho de união quanto o grau de conversão; 10% 10-MDP apresentou a melhor combinação de resistência de união e grau de conversão.

Recentemente Lankes et al. (2023) testaram o efeito de métodos de limpeza e adesivos na resistência à tração (TBS) de um compósito à base de resina ligado a uma resina temporária impressa em 3D. Os substratos (n= 360) foram impressos usando uma Rapidshape D20II e limpos com uma solução à base de butildiglicol, isopropanol ou por centrifugação. As amostras foram abrasivas a ar com Al2O3 (tamanho médio de partícula 50µm) a 0,1 MPa seguido de pré-tratamento (n = 30/subgrupo) com: (1) Clearfil Ceramic Primer (CCP); (2) Clearfil Universal Bond (CUB); (3) Scotchbond Universal Plus (SUP) ou 4. Visio.link (VL) e Lutedto PanaviaV5. O TBS (n= 15/subgrupo) foi medido inicialmente (24 h em água a 37◦C) ou após termociclagem (10.000×, 5/55 ºC). O grau de conversão (DC) para cada método de limpeza foi determinado antes e depois da abrasão a ar. A limpeza com isopropanol, mostrou uma maior taxa de conversão de carbono após a polimerização do que após o jateamento. Os autores concluíram que CUB, SUP e VL, independentemente da limpeza, podem aumentar a resistência de união entre a resina impressa em 3D e a resina de cimentação convencional.

2.5 Teste de mini-flexão

O teste de resistência flexural detecta alterações estruturais tênues das resinas compostas (Borges et al., 2012). De acordo com a ISO 4049, a resistência flexural é uma condição mecânica conceituada como a resistência a uma falha

provocada pela tensão do material resinoso, medida pela sua curvatura (ISO 4049, 1998). Fratura é uma das mais frequentes causas de falhas clínicas de restaurações em resina composta e decorre de trincas preexistentes que se propagam durante os esforços de tração oriundos da mastigação ou pela incorporação de bolhas na confecção da restauração (Lohbauer et al., 2003; Manhart et al., 2004).

Lohbauer et al. (2003) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar as propriedades mecânicas de restaurações dentais de resina composta sob carga quase-estática e cíclica. Foram confeccionadas barras de flexão de quatro pontos de 10 diferentes materiais de resina composta, fabricadas de acordo com o padrão ISO e armazenadas por duas semanas em água destilada. A resistência à fratura (FS) foi medida com o teste de flexão de quatro pontos em uma máquina de teste universal. Os limites de fadiga por flexão (FFL) para 105 ciclos foram determinados sob carga equivalente. Todos os espécimes foram testados e fatigados em água a 37 ºC. Os valores iniciais de resistência à flexão para os materiais de resina composta variaram de 55,4 MPa para *Solitaire* até 105,2 MPa para Filtekw Z250. O limite médio de fadiga à flexão para 105 ciclos variou entre 37 e 67% da resistência inicial. Os autores concluíram que o comportamento à fadiga de materiais de resina composta não se correlaciona com os valores iniciais de resistência. Os materiais que fornecem altas resistências iniciais obviamente não revelam a melhor resistência à fadiga. A medição da fadiga por flexão de materiais compósitos de resina deve ser vista como uma ferramenta útil para avaliar as propriedades mecânicas a longo prazo.

O estudo de Yap & Teoh (2003) teve como objetivo investigar as propriedades de flexão (resistência à flexão e módulo de flexão) de quatro restaurações compostas comerciais (Silux Plus, Z100, Ariston e Surefil) usando o teste de flexão ISO 4049 (IFT) e um teste de mini-flexão (MTF). Ambos os testes envolveram o uso de carga de três pontos e o mesmo dispositivo de fixação. A diferença entre os ensaios foi no comprimento dos corpos de prova dos compósitos e na distância entre os apoios [20 mm (IFT) e 10 mm (MFT)]. Seis corpos de prova foram confeccionados para cada material e teste de flexão. Corpos de prova [25 x 2 x 2 mm (IFT) e 12 x 2 x 2 mm (MFT)] foram fabricados de acordo com as recomendações dos fabricantes. Após a fotopolimerização, os espécimes foram armazenados em água destilada a 37 °C por 24 h. Para IFT e MFT, os resultados da análise estatística de resistência à flexão foram idênticos. Silux teve resistência à flexão significativamente menor em comparação

com os outros compósitos e a resistência à flexão de Ariston foi significativamente menor do que Z100 e Surefil. Para IFT, o módulo de flexão de Z100 foi significativamente maior do que Silux, Ariston e Surefil, enquanto para MFT, Silux teve módulo significativamente menor em comparação com Z100, Ariston e Surefil. Uma correlação significativa, forte e positiva foi observada para resistência à flexão entre IFT e MFT. Como o MFT tem a vantagem de facilitar a fabricação de espécimes e é mais clinicamente realista, é sugerido para o teste de restaurações compostas. Os autores concluíram que o teste de mini-flexão pode ser melhor do que o teste de flexão ISO para triagem de restaurações compostas para aplicações clínicas.

Borges et al. (2012) realizaram um estudo com o propósito de investigar as propriedades flexurais de seis marcas comerciais de resinas compostas indiretas e duas resinas compostas para uso direto. Dez espécimes (2 x 2 x 12 mm) de cada material foram confeccionados de acordo com as recomendações dos fabricantes: Grupo 1 – Signum (Heraeus Kulzer), Grupo 2 – Solidex (Shofu Inc.), Grupo 3 – Resilab (Wilcos), Grupo 4 – Adoro (Ivoclair Vivadent), Grupo 5 – Admira (Voco), Grupo 6 – Sinfony (3M/ESPE), Grupo 7 – Filtek Supreme (3M/ESPE) e Grupo 8 – Venus (Heraeus Kulzer). Os espécimes foram armazenados a 37 ºC por 24 horas. Em seguida, foram submetidos ao ensaio de mini-flexão na máquina de Ensaio Universal EMIC a uma velocidade de 0,75 mm/min, para determinar o módulo de elasticidade e resistência à flexão três pontos para cada compósito estudado. Concluiu-se que os sistemas de resinas compostas para uso indireto testados não apresentaram resistência flexural e módulo de elasticidade significantemente maiores do que a resina composta de nanoaglomerados para uso direto.

Giannini et al., (2012) realizaram um estudo que avaliou os efeitos da adição de partículas inorgânicas de *filler*, meio de armazenamento e tempo na resistência à flexão biaxial e módulo de flexão de seis sistemas adesivos. Os adesivos utilizados foram *Single Bond, Prime&Bond 2.1, One-Step, Single Bond Plus, Prime&Bond NT* e *One-Step Plus*. Discos de resina de cada produto (0,5 mm de espessura e 6,0 mm de diâmetro) foram preparados usando moldes de silicone (n = 10). Os discos foram armazenados secos, em água, óleo mineral ou etanol por 1 semana ou 3 meses antes do teste de flexão biaxial. Os espécimes foram testados em uma máquina de ensaio universal a 1,27 mm/min até que ocorresse a falha. O armazenamento em etanol levou a valores de resistência à flexão e módulo de flexão significativamente menores do

que as outras condições de armazenamento para todos os adesivos em ambos os períodos de armazenamento. Os resultados sugeriram que a adição de *filler* não aumenta a resistência à flexão e o módulo de flexão. Os estoques de etanol e óleo tendem a produzir efeitos opostos.

2.6 Atividade antibacteriana

Para avaliar a atividade antibacteriana o *Streptococcus mutans* tem sido utilizado. *S. mutans* é patógeno oral cariogênico associado à cárie secundária e foi usado para avaliar as propriedades antibacterianas de adesivos experimentais contendo metacriloxi silano de amônio quaternário (QAMS) (Gou et al., 2018).

No estudo de Gou et al. (2018) um novo metacriloxi silano de amônio quaternário (QAMS) preparado a partir da química sol-gel foi incorporado a adesivos experimentais para examinar seu efeito antimicrobiano e potencial antiproteolítico. Este monômero de resina de metacrilato funcional contém funcionalidades de metacriloxi polimerizáveis, bem como uma funcionalidade de amônio quaternário carregado positivamente com uma longa cadeia lipofílica -C18H37 alquil para perfurar a parede/membrana celular de organismos colonizadores de superfície. Os testes antibacterianos realizados usando o teste de difusão em ágar, coloração de bactérias vivas/mortas e contagens de unidades formadoras de colônia indicaram que os adesivos contendo QAMS mataram *Streptococcus mutans* de maneira dependente da dose por meio de um mecanismo predominante de morte por contato. A atividade gelatinolítica dentro das camadas híbridas criadas por esses adesivos foi examinada usando *zimografia in-situ*. Os autores concluíram que a incorporação de 5% de QAMS no adesivo experimental fornece atividades antimicrobianas e antiproteolíticas simultâneas que são cruciais para a manutenção da integridade da união resina-dentina a longo prazo.

Peng et al. (2020) realizaram um estudo para determinar os efeitos da solução de resveratrol/etanol na durabilidade das interfaces de união resina-dentina. Sessenta e quatro terceiros molares não cariados foram divididos aleatoriamente em quatro grupos (n = 16) após a secção e, em seguida, pré-tratados com uma das seguintes

concentrações de soluções de resveratrol/etanol: 0 (grupo controle), 1, 10 e 20 mg/mL, seguido de um adesivo universal e resinas compostas. Todas as amostras de microtração foram divididas em três subgrupos: grupo imediato, grupo de envelhecimento com colagenase e grupo termociclado. A resistência de união à microtração (MTBS), modos de falha, nanoinfiltração interfacial e *zimografia in situ* foram medidos, enquanto os efeitos inibitórios de fatias de dentina pré-tratadas em biofilmes de *S. mutans* foram determinados por microscopia confocal de varredura a laser e avaliação antibacteriana pelo ensaio de MTT. Os resultados indicaram que a resistência de união não foi influenciada apenas pelos fatores de pré-tratamento ($P < 0,05$), mas também pelos fatores de envelhecimento ($P < 0,05$). Independentemente do envelhecimento da colagenase ou termociclagem, o grupo de pré-tratamento com 10 mg/mL de resveratrol/etanol apresentou significativamente maior ($P < 0,05$) MTBS e menor ($P < 0,05$) expressão de nanoinfiltração do que o grupo controle, mostrou melhor efeito inibitório das metaloproteinases de matriz e atividade de *S. mutans* com citotoxicidade aceitável. Enquanto isso, a falha coesiva na dentina diminuiu gradualmente com o aumento da concentração de resveratrol. Portanto, a solução de resveratrol/etanol tem o potencial de servir como um versátil primer dentinário, que pode efetivamente melhorar a durabilidade da união dentinária e prevenir cáries secundárias.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo desse estudo foi avaliar as propriedades físico-químicas e mecânicas da incorporação do resveratrol em um sistema adesivo comercial, onde foi avaliada a resistência de união da interface adesiva, o grau de conversão, resistência mini-flexural e propriedades antibacterianas. Adicionalmente, foi feita a análise por meio do Estereomicroscópio.

3.1 Hipóteses nulas testadas

A adição do resveratrol no sistema adesivo em diferentes concentrações (0,5, 1 e 2%):

H01 – Não interfere na resistência de união da interface adesiva;
H02 – Não altera o grau de conversão do adesivo;
H03 – Não interfere na resistência mini-flexural do adesivo;
H04 – Não possui atividade antibacteriana.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Comitê de ética

Esta pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética e Pesquisa do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP, através da Plataforma Brasil do Ministério da Saúde, CAAE: 02035118.1.0000.0077, conforme anexo.

4.2 Delineamento experimental

4.2.1 Unidade experimental

a) Amostras do adesivo;
b) Discos e palitos de adesivos polimerizados;
c) Espécimes de dentina obtidos de dentes humanos.

4.2.2 Fatores de estudo

a) Adesivo Comercial;
b) Adesivo Comercial + Resveratrol 0,5%;
c) Adesivo Comercial + Resveratrol 1%;
d) Adesivo Comercial + Resveratrol 2%.

4.2.3 Variáveis de resposta

a) Resistência de união;
b) Grau de conversão;
c) Resistência mini-flexural;
d) Atividade antibacteriana (Difusão em ágar e Unidade formadora de colônia).

4.3 Materiais utilizados

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

Quadro 1 - Materiais utilizados no estudo: material, marca comercial, fabricante e composição

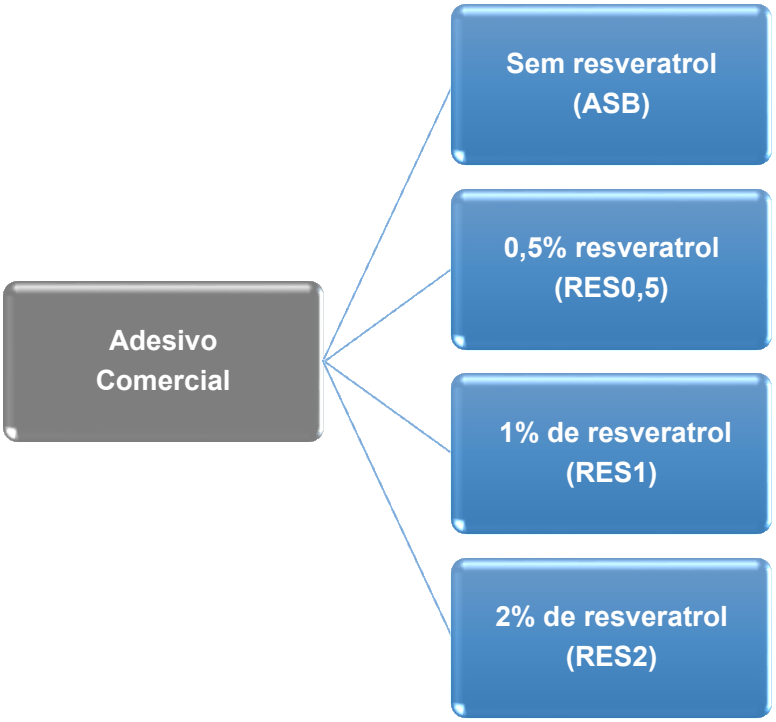
Material	Marca Comercial	Fabricante	Composição
Ácido fosfórico	Etch-37%	Bisco Inc., Schaumburg, IL, USA	Ácido fosfórico 37%
Sistema Adesivo	Adper Single Bond 2	3M ESPE, St. Paul, MN, EUA	Bis-GMA, HEMA, dimetacrilato, água, etanol, fotoiniciador, nanopartículas de sílica, copolímero funcional de metacrilato de ácidos poliacrílico e polialcenóico
Resina Composta	Filtek-Z 350XT	3M ESPE, St. Paul, MN, EUA	Bis-GMA, UDMA, TEGDMA, Bis-EMA, nanosílica filler, zircônia/ partículas de sílica.
Resveratrol	Resveratrol	Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA	3,4 ', 5-Tri-hidroxi-trans-estilbeno 5 - [(1E) -2- (4-hidroxifenil) etenil] -1,3-benzenodiol

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4 Divisão dos grupos experimentais

Para realização dos testes, os adesivos foram divididos em quatro grupos de acordo com a concentração de utilização do resveratrol (Sigma-Aldrich) incorporado ao sistema adesivo em cada grupo: ASB – Adesivo Adper Single Bond 2 (3M-ESPE) sem a incorporação do resveratrol, RES0,5 – incorporação de 0,5% de resveratrol, RES1 – incorporação de 1% resveratrol, RES2 – incorporação de 2% de resveratrol. O adesivo comercial Adper Single Bond 2 (3M-ESPE) sem a adição do resveratrol, foi utilizado como controle positivo. A Figura 2 mostra a divisão experimental dos grupos.

Figura 2 - Delineamento dos grupos de pesquisa

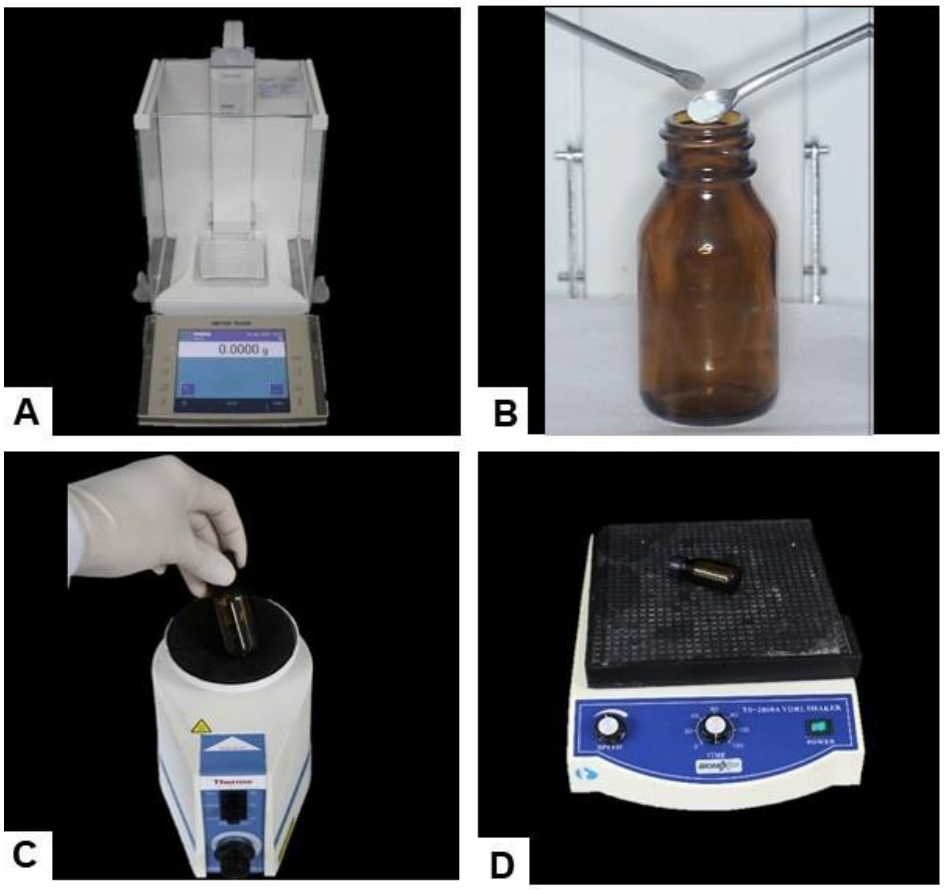


Fonte: Elaborado pelo autor.

4.5 Incorporação do resveratrol no adesivo

O resveratrol em pó foi pesado em balança de precisão (Mettler, Toledo, Suíça) nas concentrações 0,5, 1 e 2% em peso e foi então misturado ao adesivo Adper Single Bond 2 (3M-ESPE) em vidro fechado âmbar em ambiente escuro para evitar exposição precoce à luz. A mistura foi feita em agitador (Vortex Maxi Mix II, Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA) até a obtenção de uma solução homogênea e clara (transparente), com as partículas inteiramente incorporadas. Em seguida, os frascos foram mantidos sob agitação constante (Orbit 300, LabNET International Inc., Woodbridge, NJ, EUA), por 48 horas (Figura 3). Após o preparo, os adesivos foram armazenados em frascos escuros sob refrigeração (4 ºC). No momento do uso foram levados para agitação novamente.

Figura 3 - Incorporação do resveratrol no adesivo



Legenda: a) balança analítica de precisão; b) representação da pesagem do resveratrol em vidro âmbar; c) representação do adesivo no frasco no agitador; d) representação do frasco sob agitação constante por 48 h.
Fonte: Elaborada pelo autor.

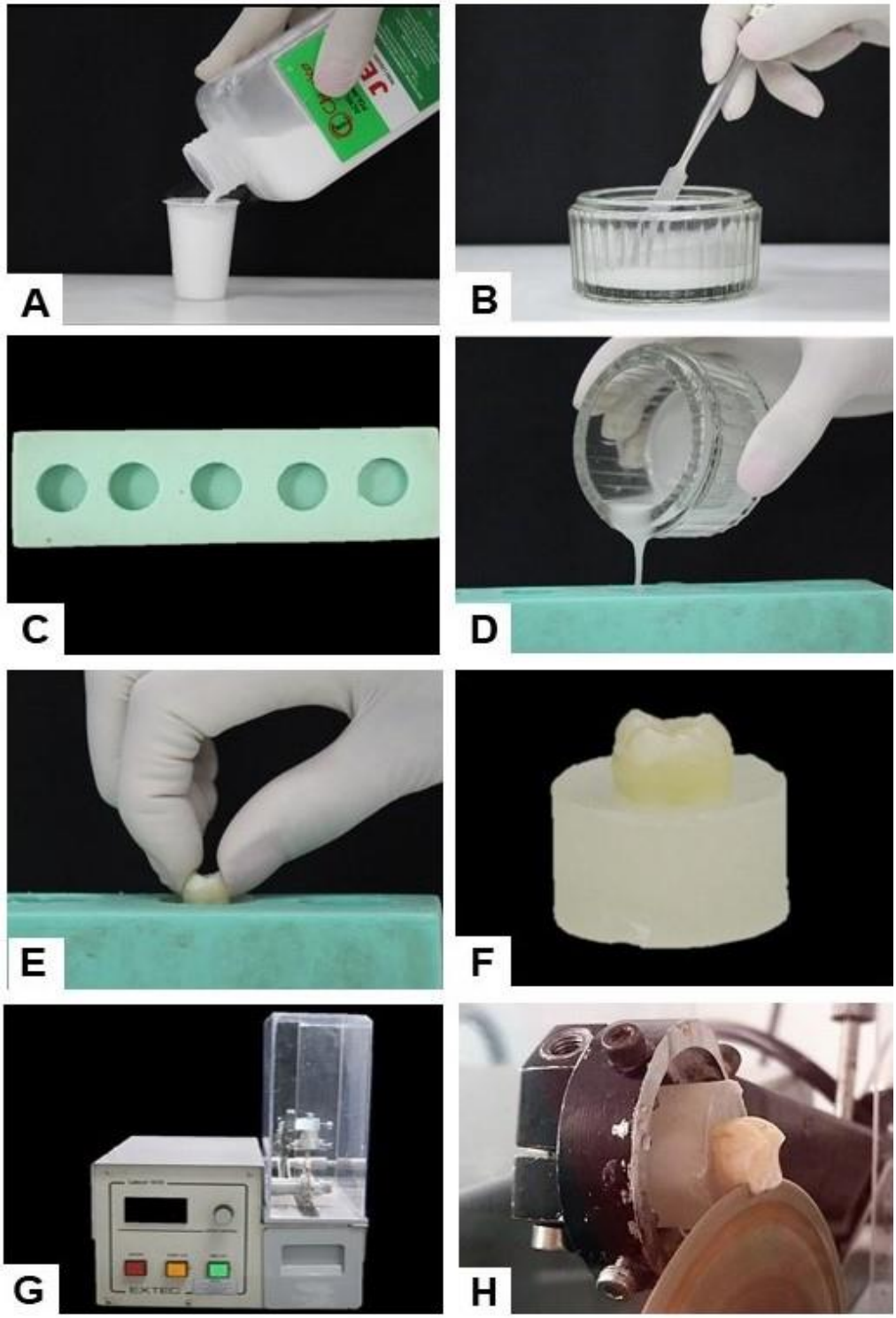
4.6 Seleção das amostras para o teste de resistência de união

Os espécimes foram obtidos de 40 molares humanos (n=10) extraídos e doados por consentimento livre e esclarecido dos pacientes, seguindo os seguintes critérios: hígidos e livres de alterações em esmalte e dentina. Os dentes foram armazenados em água destilada a 4 ºC até o momento do uso.

4.7 Preparo das amostras para o teste de resistência de união

Os dentes foram fixados em resina acrílica autopolimerizável (Jet-Artigos Odontológicos, Clássico, São Paulo, SP, Brasil) (Figura 4A e 4B) com o auxílio de um molde de silicone Rhodorsil (Artigos Odontológicos Clássico, Campo Limpo Paulista, SP, Brasil) (Figura 4C e 4D), onde toda a coroa permaneceu exposta e a superfície oclusal paralela à base da resina acrílica (Figura 4E e 4F), logo em seguida o esmalte oclusal foi removido na máquina de cortes seriados Labcut 1010 (Extec Technologies Inc., Enfield, CT, EUA) (Figura 4G) em um corte paralelo aproximadamente 4 mm acima da junção amelo-cementária para expor a dentina (Figura 4H).

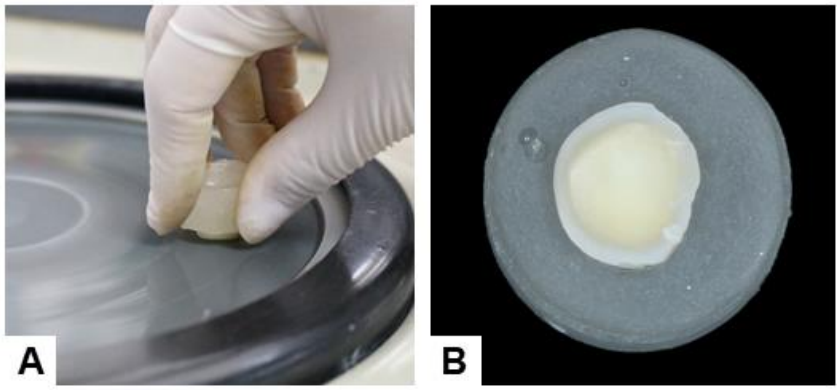
Figura 4 - Preparo das amostras



Legenda: a) resina acrílica autopolimerizável; b) representação do preparo da resina acrílica autopolimerizável; c) molde de silicone; d) representação do preenchimento do molde com a resina acrílica; e) fixação do dente na resina acrílica; f) dente fixado na resina acrílica com a coroa exposta e a superfície oclusal paralela à base da resina acrílica; g) máquina de cortes seriados; h) representação do corte paralelo aproximadamente 4 mm acima da junção amelo-cementária para expor a dentina.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Na sequência, os espécimes foram levados a uma politriz circular (DP-10, Panambra, São Paulo, SP, Brasil), para desgaste do esmalte remanescente sobre a dentina oclusal, e para padronização da dentina. O desgaste foi feito com discos de lixas de carboneto de silício (Extec Corp., Enfield, CT, EUA) de granulação 600, a 300 rpm, sob refrigeração com água. Os espécimes ficaram em contato com a superfície da lixa por 30 s (Figura 5A e 5B).

Figura 5 - Finalização do preparo das amostras



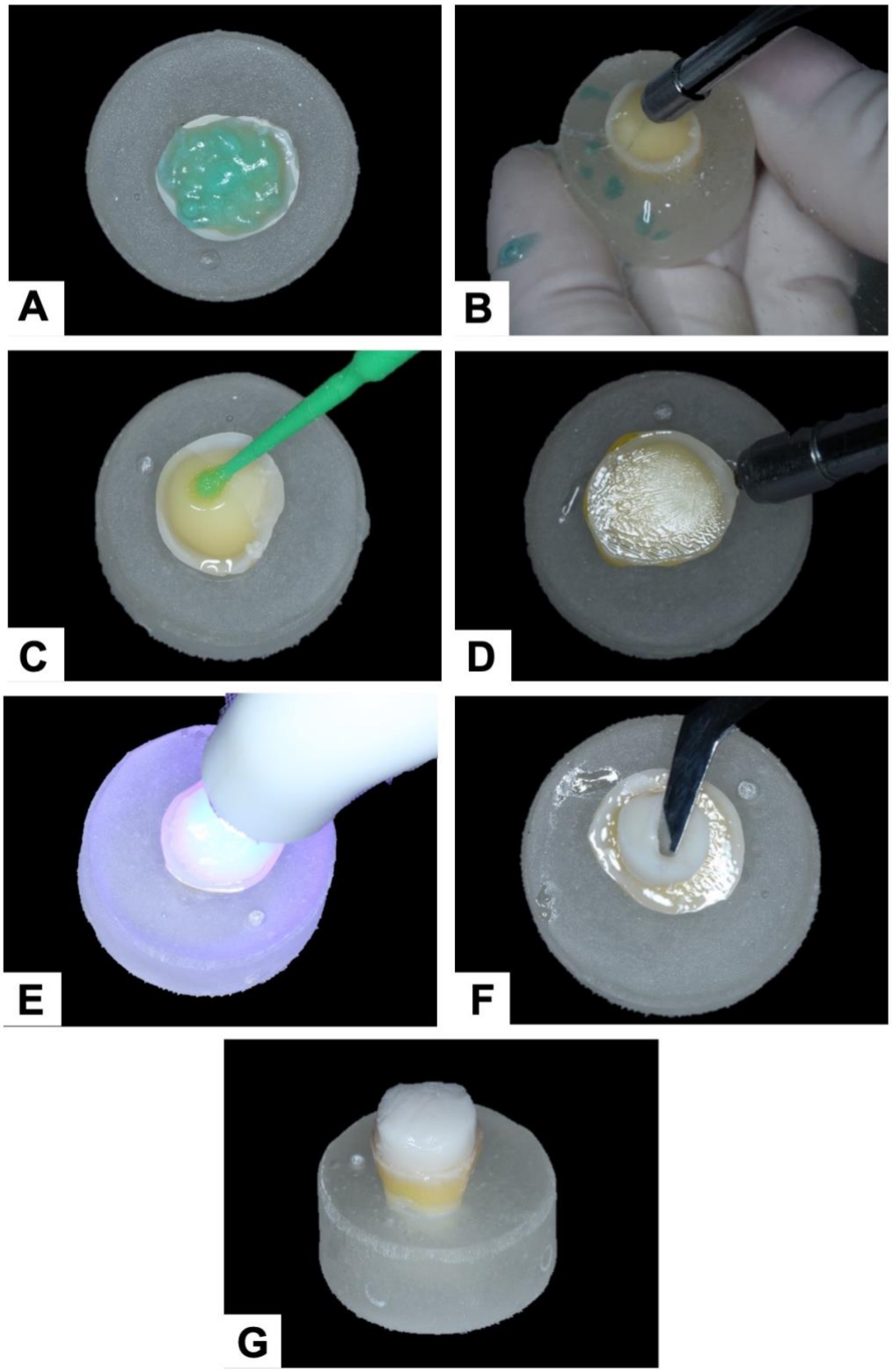
Legenda: a) espécime em contato com a superfície da lixa; b) espécime pronto.
Fonte: Elaborada pelo autor.

4.8 Aplicação do adesivo e técnica restauradora

Foi realizado o condicionamento ácido da dentina com a aplicação de ácido fosfórico a 32% (Uni-Etch, Bisco Inc., Schaumburg, IL, EUA) por 15 s (Figura 6A), lavagem com água deionizada por 15 s (Figura 6B) e secagem com papel absorvente para manter a dentina condicionada visivelmente úmida. A aplicação do sistema adesivo comercial foi realizada sobre a dentina exposta (Figura 6C), com o resveratrol incorporado nas diferentes concentrações, de acordo com a divisão dos grupos. Os grupos do sistema adesivo experimental serão feitos posteriormente. A aplicação foi feita de forma ativa durante 20 s, em seguida foi utilizado jato de ar para remoção do solvente (Figura 6D) e a fotopolimerização por 20 s (Figura 6E). Após a aplicação do

sistema adesivo, foram adicionados 3 incrementos de 1,5 mm de espessura da resina composta nanoparticulada (Filtek Z 350 XT - 3M-ESPE - Cor A2) (Figura 6F). Estes foram fotoativados, um de cada vez, por 20 s, a uma distância padronizada, com o aparelho fotopolimerizador de LED (Radii-cal, SDI, Victoria, Austrália). A restauração finalizada pode ser observada na Figura 6G.

Figura 6 - Técnica restauradora



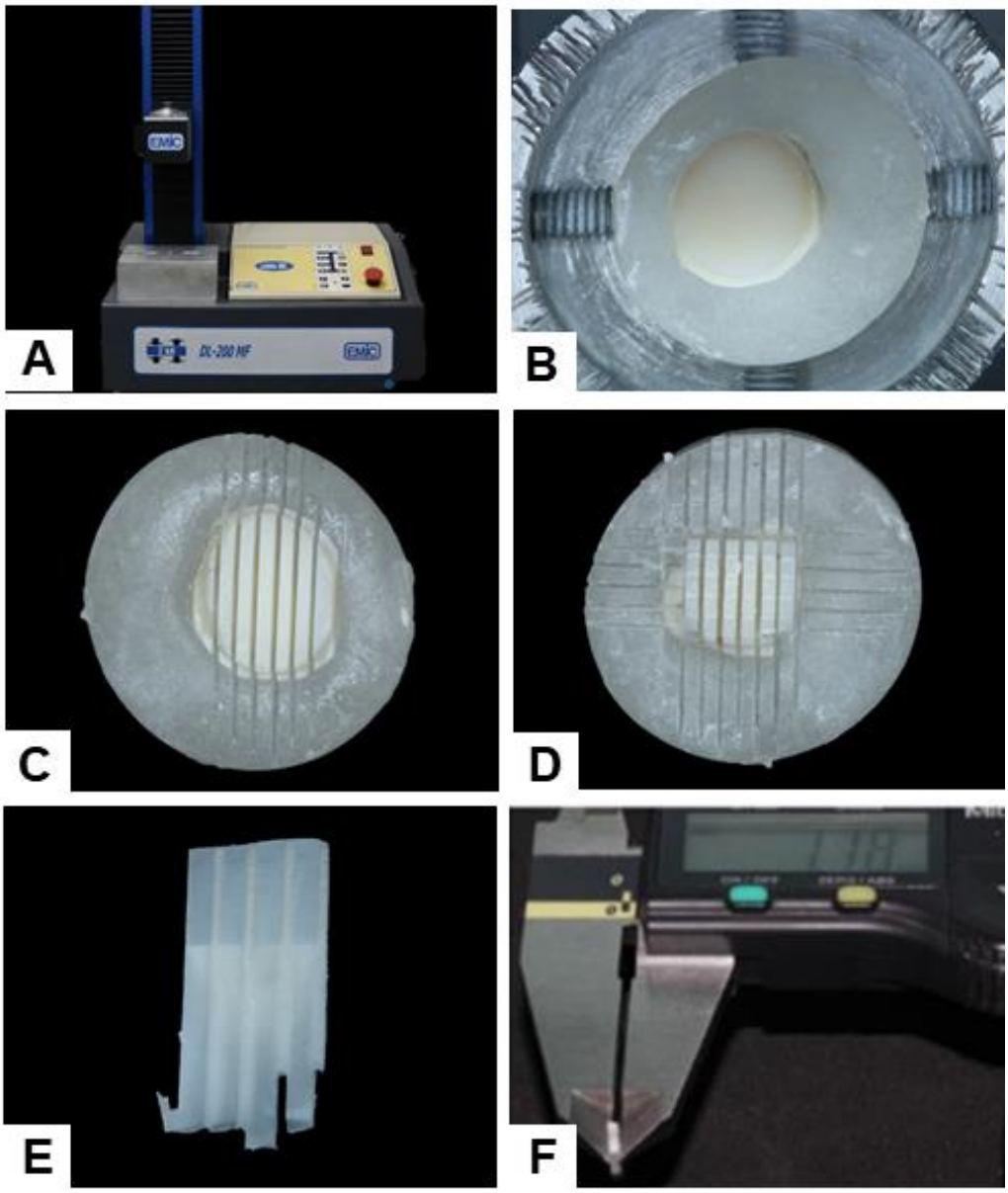
Legenda: a) condicionamento ácido; b) lavagem; c) aplicação do adesivo; d) jato de ar para evaporação do solvente; e) fotopolimerização; f) aplicação de um incremento de resina composta; g) restauração finalizada.
Fonte: Elaborada pelo autor.

4.9 Teste de resistência de união

O conjunto resina acrílica-amostra foi seccionado paralelo ao longo eixo do dente com o auxílio de uma cortadeira de precisão Isomet (Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA) sob irrigação com água, originando palitos (resina - adesivo - dentina), com aproximadamente 1 x 1 mm de largura, sendo realizada a mensuração da área de adesão antes do teste de microtração com paquímetro digital (Starret Indústria e Comércio Ltda., Itu, SP, Brasil) (Figura 7).

Os dez espécimes de cada grupo foram então submetidos ao teste de resistência da união às tensões de microtração. Este teste foi realizado em uma máquina universal de ensaios EMIC DL2000 (EMIC, São José dos Pinhais, PR, Brasil) com uma célula de carga de 10 kg à velocidade de 0,5 mm/min para avaliar a força adesiva na interface material restaurador/dentina.

Figura 7 - Confecção dos palitos para o teste de resistência de união



Legenda: a) máquina universal de ensaios EMIC DL2000; b) conjunto resina acrílica-amostra sendo posicionado na Labcut 1010; c) secções de 1 mm de espessura no sentido mesiodistal; d) secções de 1 mm de espessura no sentido vestíbulo-lingual; e) palitos de resina composta e dentina com aproximadamente 1 x 1 mm de largura; f) mensuração da área de adesão dos palitos.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Os palitos foram fixados individualmente pelas suas extremidades com adesivo cianoacrilato em gel (Zapit, Dental Ventures of American, Corona, CA, EUA) no dispositivo de microtração metálico, de modo a posicionar a área adesiva

perpendicularmente ao longo eixo da força de tração, para realização do ensaio de microtração na máquina de testes, no momento da fratura, o teste é automaticamente interrompido (Figura 8). A resistência de união será calculada em MPa pela fórmula:

δ **=F/A**

Onde, δ é à força de união a microtração, F é a força aplicada e A é a área de união entre resina – adesivo – dentina. Ao final do ensaio as partes fraturadas foram limpas e secas e então analisadas quanto ao padrão de fratura em estereomicroscopio ótico com aumento de 40x (Zeis, steREO Discovery V20, Göttingen, Germany), e classificadas quanto ao tipo de fratura. As falhas pré-teste e fraturas coesivas em resina e dentina não foram consideradas.

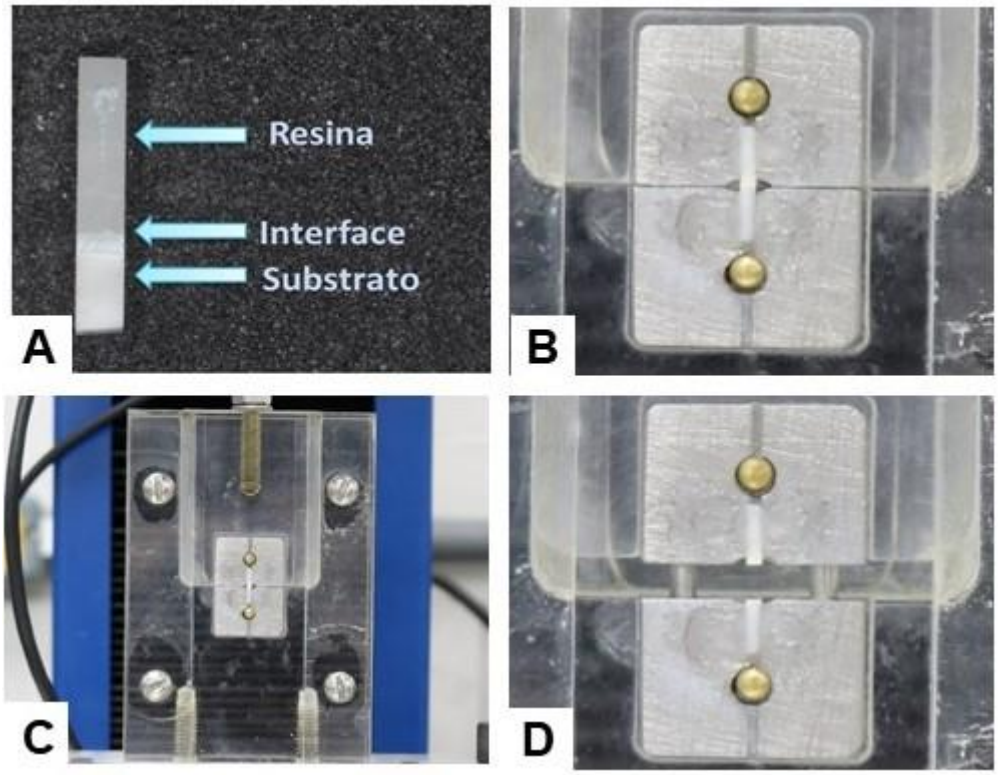
Adesiva - Para fraturas em que a falha ocorre na interface adesivo-estrutura dental ou na interface entre o adesivo e a resina composta, em mais de 75% da área analisada.

Coesiva em resina - Para fraturas em que a falha ocorre predominantemente no interior da resina composta, cerca de 75%.

Coesivas na estrutura dental - Para fratura em que a falha ocorre predominantemente no interior da estrutura dental, cerca de 75%.

Mista - Para fraturas nas quais não existiu uma predominância maior que 75% de qualquer tipo de falha.

Figura 8 - Teste de resistência de união



Legenda: a) palito pronto; b) palito fixado no dispositivo de microtração metálico; c) máquina EMIC com a carga de célula; d) palito fraturado após o teste de microtração.
Fonte: Elaborada pelo autor.

4.10 Grau de conversão

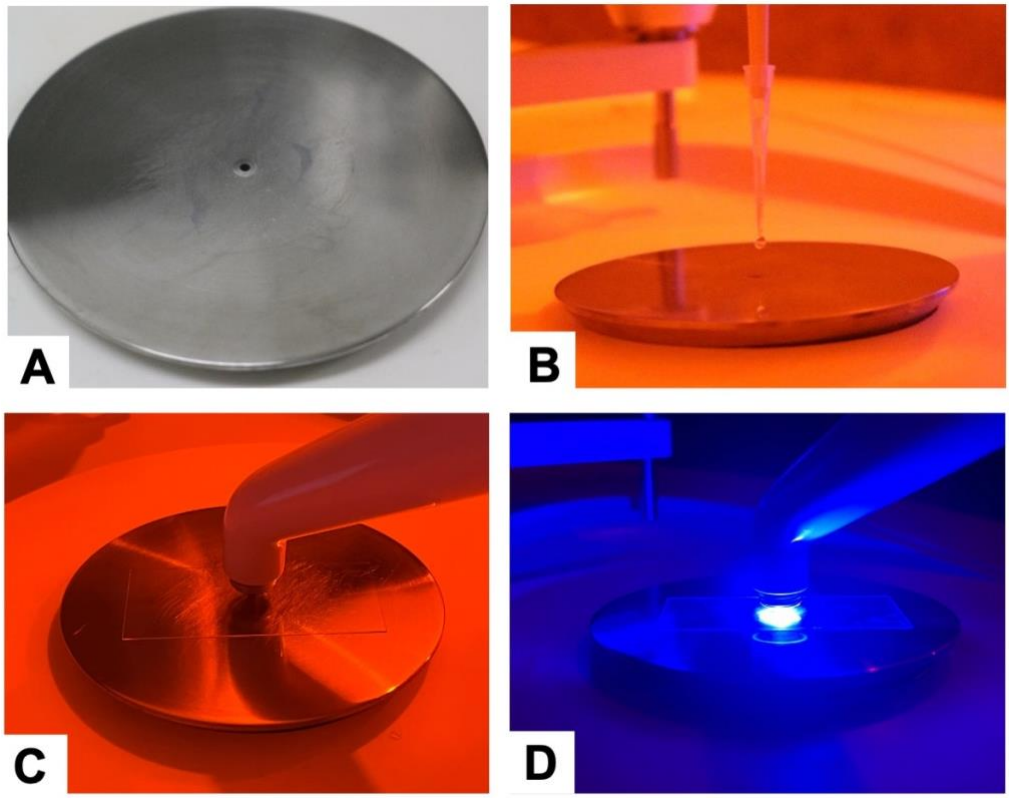
O grau de conversão (GC) foi medido por meio de Espectroscopia de Infravermelho Transformada de Fourier (FTIR) (FT-IR, PerkinElmer Spectrum, MA, EUA). As amostras dos sistemas adesivos foram analisadas por meio de absorbância com o dispositivo de refletância total atenuada (ATR) MIRacle com placa de cristal de diamante de ZnSe (PIKE Technologies, Madison, WI, EUA) com uma resolução de 4 cm^{-1} e faixa de transmissão entre 650 - 4000 cm^{-1}. O software utilizado foi o Spectrum TimeBase (Perkin Elmer, MA, EUA). Inicialmente, foi colocado sobre o cristal do ATR uma amostra de 3 µL o adesivo com auxílio de uma pipeta (LambdaTM Plus, Corning Co., Corning, NY, EUA), quantidade necessária para o adesivo molhar toda a

superfície do cristal em ambiente de luz âmbar. A amostra do adesivo foi selada com lamínula para microscópio e fita adesiva a fim de evitar a evaporação dos componentes. Imediatamente, foram coletados os dados de absorbância pelo software utilizando os parâmetros de intervalo de onda de 1560 cm^{-1} a 1760 cm^{-1}, resolução de 4 cm^{-1} e 32 capturas. Em seguida, essa mesma amostra de adesivo foi fotoativada com o fotopolimerizador (Aparelho LED; Radii-cal, SDI, Victoria, Austrália) com potência de 1200 mW/cm^2, por um período de 20 segundos, a uma distância de 5 mm aproximadamente. Após 5 minutos, os dados foram coletados novamente, gerando os espectros de antes e depois de polimerizados (Figura 9). O processo foi repetido 3 vezes para cada grupo, de onde foi obtida a média do grau de conversão.

Para gerar o valor de GC, os espectros foram comparados e analisados na mudança do espectro nas bandas de absorção próximas a 1637cm^{-1}, onde se encontra a ligação dupla de carbono presente nos grupos metacrilatos polimerizáveis do adesivo. As bandas de absorção associadas ao anel benzênico aromático do BisGMA, que não sofreram grandes alterações antes e depois da polimerização, foram usadas como referência interna de proporcionalidade da matéria (bandas próximas a 1608 cm^{-1}). Por fim, os valores de cada amostra foram calculados através da fórmula:

$$GC = 100\ x\ \left(1 - \sqrt{\frac{Absorbância\ antes}{Absorbância\ depois}}\right)$$

Figura 9 - Grau de conversão



Legenda: a) placa de cristal de diamante de ZnSe da Espectroscopia de Infravermelho Transformada de Fourier (FTIR) b) o adesivo sendo colocado sobre o cristal com auxílio de uma pipeta em luz âmbar; c) lamínula de vidro sendo posicionada sobre a amostra do adesivo; d) amostra do adesivo sendo fotoativada.
Fonte: Elaborada pelo autor.

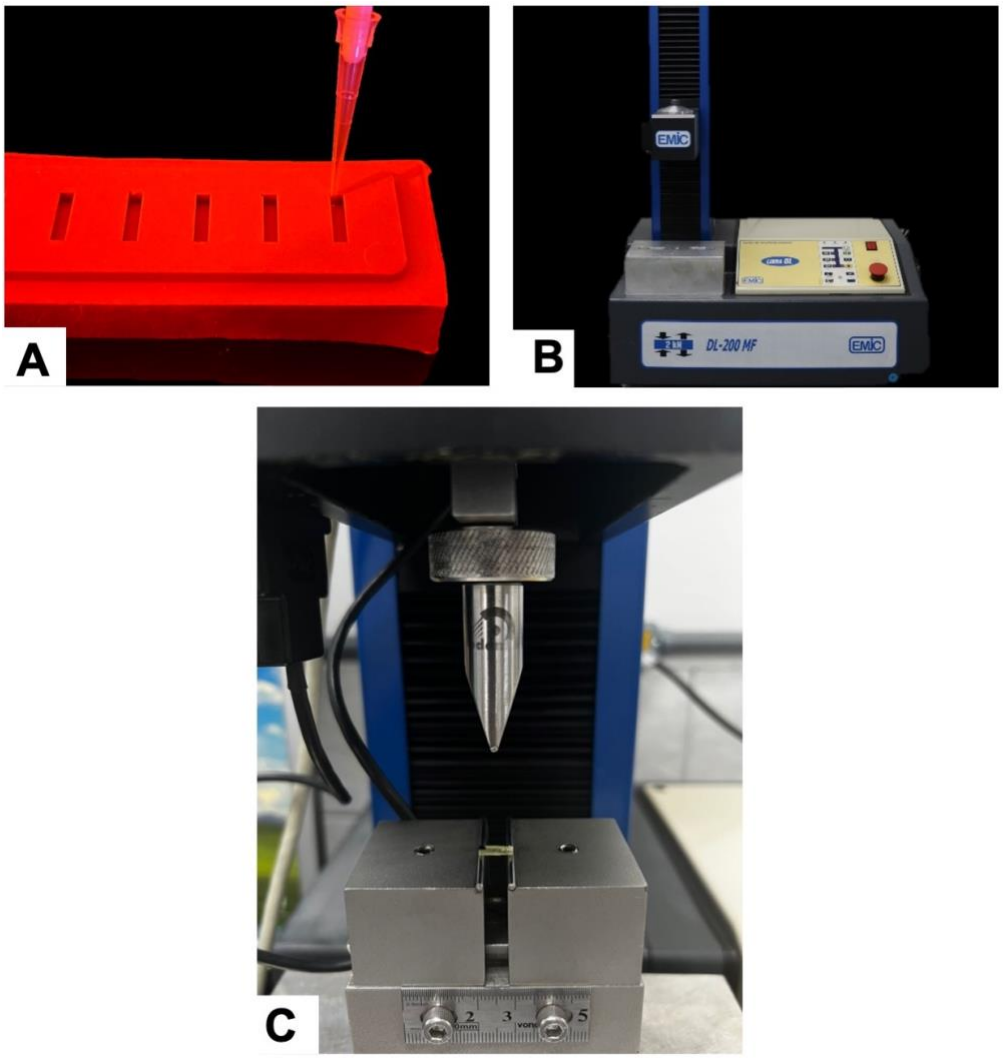
4.11 Resistência mini-flexural

Foram confeccionadas 10 amostras para cada grupo a partir de uma matriz de silicone (Odeme Equipamentos Médicos e Odontológicos Ltda, Luzerna, SC), com dimensões de 12 mm x 2 mm x 2 mm. Para obtenção das amostras rígidas, o adesivo foi vertido na matriz com auxílio de uma micropipeta, e uma tira de poliéster transparente foi posicionada sobre a amostra e fotopolimerizado (Radii-cal, SDI, Victoria, Austrália) por 40 segundos. As amostras foram armazenadas em frascos individuais na cor âmbar até o momento da realização dos testes.

Para a realização do teste mecânico de resistência mini-flexural, as amostras foram posicionadas sobre dispositivo metálico fixado na base da máquina universal de ensaios (EMIC DL-2000, Equipamentos e Sistemas Ltda., PR, BR). Esse suporte contém duas superfícies paralelas distantes entre si por 9,0 mm, proporcionando dois apoios nas extremidades (Figura 10). Foi utilizada uma célula de carga de 10 kg, um pino metálico fixado na parte superior da EMIC, com uma força de 0,5 Nm/s, sobre a porção central da amostra a uma velocidade de 0,5 mm/min, equidistante aos pontos de apoio, gerando a força de flexão até o momento da fratura.

Os resultados da análise da resistência mini-flexural em três pontos foram computados automaticamente por um computador acoplado para mapeamento de ensaio, obtidos em N e convertidos em MPa, utilizando a fórmula 4049: $\sigma = 3Fl/ 2bh^2$. Onde σ é a resistência flexural (MPa), F é carga máxima suportada (N), l é o comprimento entre os pontos de apoio (9,0 mm), b é a largura do prisma (2 mm) e h é a espessura do prisma (2 mm).

Figura 10 - Resistência mini-flexural



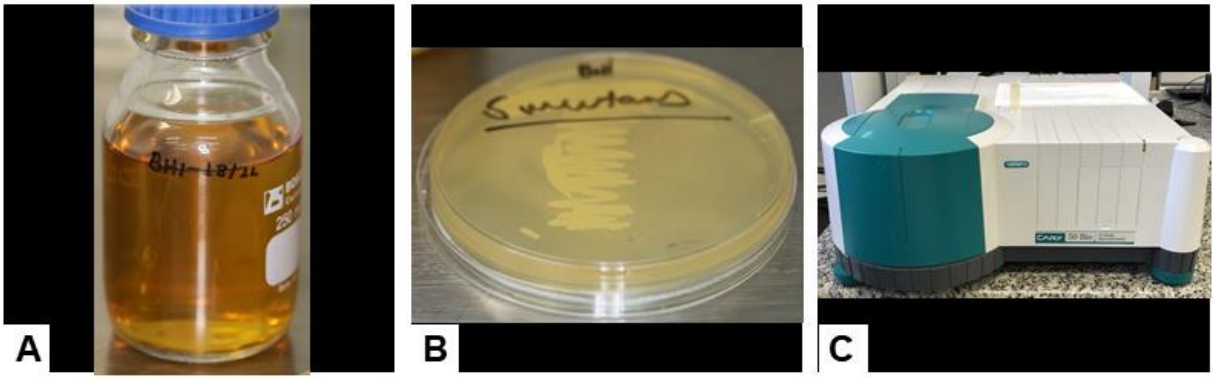
Legenda: a) adesivo sendo vertido na matriz de silicone em luz amarela; b) máquina universal de ensaios EMIC DL2000; c) amostra do adesivo sendo posicionada sobre dispositivo metálico fixado na base da máquina universal de ensaios.
Fonte: Elaborada pelo autor.

4.12 Atividade antibacteriana

Os testes para avaliar a atividade antibacteriana foram realizados no Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D), da Universidade do Vale do Paraíba (Univap) em São José dos Campos, com a supervisão da bióloga Priscila Maria Sarmeiro Correa Marciano Leite.

O *Streptococcus mutans* (ATCC 700610) foi cultivado em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI; Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA) e foi utilizado para avaliação das atividades antibacterianas dos adesivos contendo o resveratrol (Figura 11A). O caldo foi aquecido até a diluição completa e esterilizado em autoclave por 15 minutos a 121 ºC e mantido durante 24 h em estufa bacteriológica (Marconi MA32) à 37 °C, recolhidas por centrifugação e lavadas três vezes com solução salina estéril tamponada com fosfato (PBS). As bactérias foram ressuspensas em BHI e diluídas para uma concentração final de 1,0 x 10^7 unidades formadoras de colônia (UFC) / mL (Figura 11B). A densidade bacteriana foi determinada usando um espectrofotômetro (Cary 50 Bio UV-Vis Spectrophotometer, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA) a uma densidade óptica de 600 nm (Figura 11C).

Figura 11 - Avaliação das atividades antibacterianas



Legenda: a) caldo BHI; b) *Streptococcus mutans*; c) espectrofotômetro.
Fonte: Elaborada pelo autor.

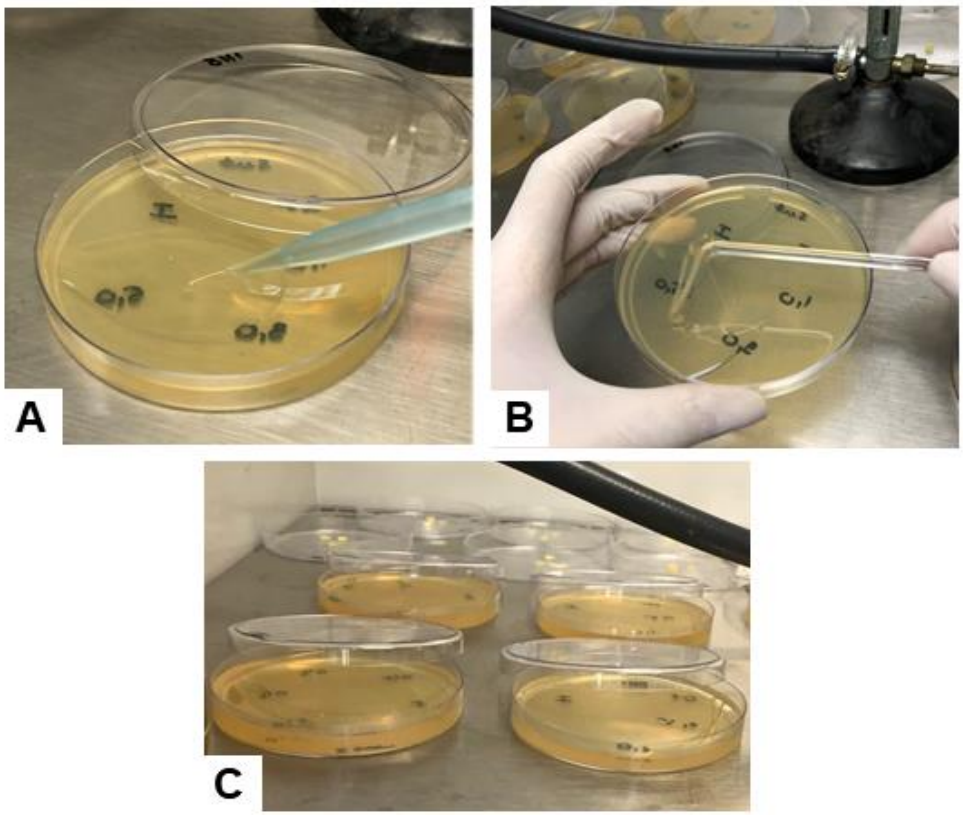
4.12.1 Teste de difusão em ágar

As suspensões bacterianas (1,0 x 10^7 UFC / mL; 100 mL) foram colocadas nas placas de ágar BHI por meio de uma pipeta (Figura 12A) e foi feito o espalhamento na placa com uma alça de Drigalski (Figura 12B e 12C). Discos do adesivo fotopolimerizados (6,5 mm de diâmetro; 1,5 mm de espessura) foram preparados

através de uma matriz de silicone e colocados numa placa de ágar inoculada com bactérias e incubados a 37 °C durante 24 h (Figura 13). Os discos foram feitos com amostras dos adesivos de cada grupo em triplicata. Além disso, foi feito um grupo controle positivo com uma amostra de clorexidina 2% gotejada na placa com o auxílio de uma pipeta.

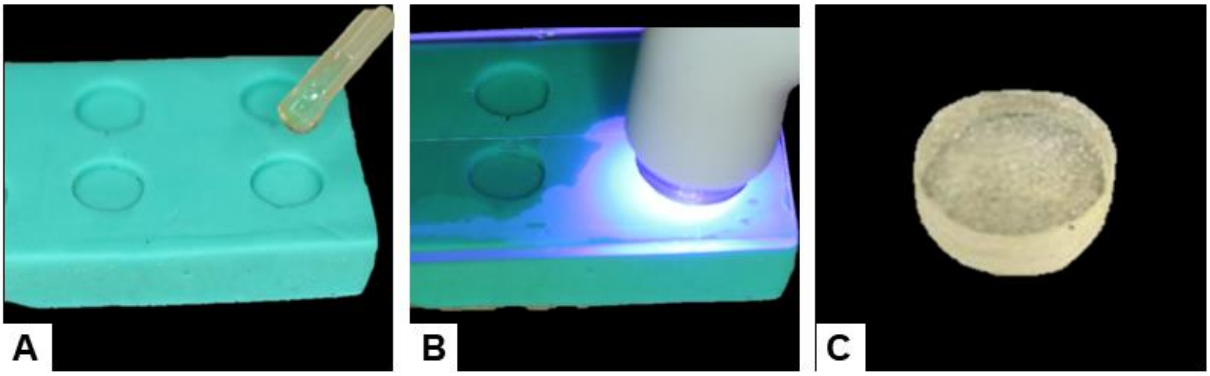
Depois o período de 24 h, o diâmetro dos halos de inibição foi medido. A zona de inibição foi considerada como a menor distância entre a superfície externa das amostras de adesivo até o ponto inicial do crescimento microbiano. Os resultados foram analisados de acordo com o preconizado pelo NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards Institute*, 2005), onde a formação de halo indica que o microorganismo é sensível ao agente testado e a não formação de halo indica que o microorganismo é resistente ao agente testado.

Figura 12 - Teste de difusão em ágar



Legenda: a) suspensões bacterianas sendo colocadas na placa de ágar BHI; b) espalhamento com a alça de Drigalski; c) placas prontas para receberem os discos.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 13 - Preparação dos discos de adesivo

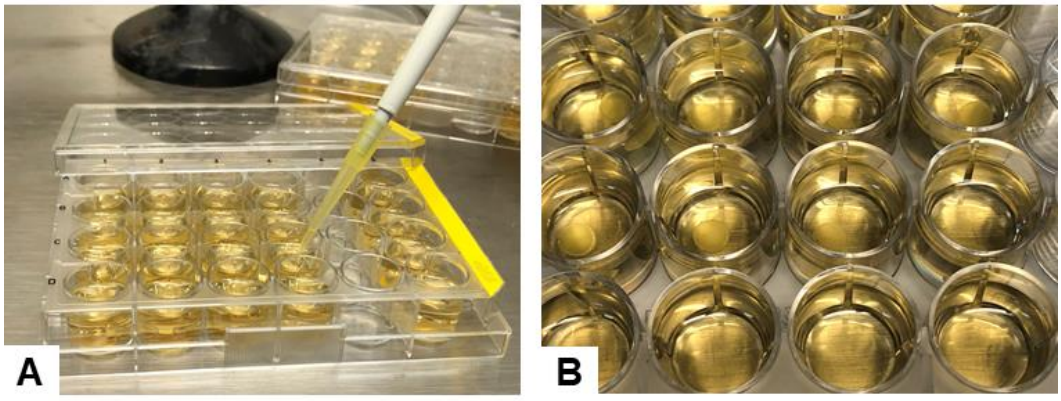


Legenda: a) gota do adesivo na matriz de silicone; b) fotopolimerização do adesivo; c) disco de adesivo fotopolimerizado.
Fonte: Elaborada pelo autor.

4.12.2 Contagem de unidades formadoras de colônias (UFC)

Novamente os discos foram preparados e colocados em placas de poços contendo ágar BHI na forma líquida, juntamente com as suspensões bacterianas (1,0 x 10^7 UFC / mL; 100 mL). Após o período de incubação, uma alíquota de 150 µL do sobrenadante de cada poço foi retirada e levada para leitura de densidade óptica das amostras utilizando o espectrofotômetro (Spectra Count, Packard, USA) no comprimento de onde de 380 nm. A viabilidade bacteriana foi determinada por contagem de unidades formadoras de colônias e o processo foi feito por três vezes para cada grupo (Figura 14).

Figura 14 - Preparação das placas para UFC



Legenda: a) preparação das placas com ágar BHI; b) placas contendo os discos com as bactérias.
Fonte: Elaborada pelo autor.

4.13 Análise estatística

Foram realizados os testes de normalidade e de distribuição normal das amostras para a escolha do correto teste estatístico.

Os dados foram inicialmente submetidos ao teste de normalidade e depois foram submetidos ao teste ANOVA a um fator, seguido de Teste de Tukey, com nível de significância de 0,05.

4.14 Cálculo amostral

Foi utilizado o programa G*Power 3.1, para fazer o cálculo amostral. Os dados foram obtidos através de um estudo piloto que envolveu dois grupos, sendo um grupo controle e o outro composto por adesivo com o resveratrol. Este estudo foi executado no sentido de se obter o cálculo amostral. Os resultados foram inseridos no programa G*Power 3.1 onde foram obtidos os efeitos de F de 1,25; α de 0,05 e o β de 0,8 e o número de grupos 2. O valor crítico de F foi de 5,98 e o total do número de exemplares foi de 8 e o poder de 0,83. Dessa forma como o número total de exemplares foi de 8

pelo cálculo, isso justifica o número de exemplares que será utilizado por grupo no presente estudo (n=10).

5 RESULTADO

5.1 Estatística para resistência de união

Para efeito de análise estatística, foi realizada uma média calculada com os espécimes (palitos) testados para cada dente humano preparado. As médias em MPa foram submetidas à análise estatística por meio dos programas computacionais: MINITAB (Minitab, version 14.12, 2004) e STATISTIX (Analytical Software, version 8.0, 2007).

Os dados de resistência de união (MPa) foram analisados estatisticamente, sendo avaliados quanto à sua normalidade. Como estes apresentaram distribuição normal, realizou-se o teste de análise de variância (ANOVA) paramétrica um fator (sistema adesivo) e o teste de Tukey, sendo adotado o nível de significância de 5% para a tomada de decisões**.**

Dessa forma, de acordo com os resultados obtidos, a maior média foi observada no grupo ASB – 41,01 ± 2,64; seguido do grupo RES0,5 – 42,93 ± 15,49 e do grupo RES1 – 42,61 ± 13,97, sendo que a menor média foi observada no grupo RES2 – 39,43 ± 9,14, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Na Tabela 1 encontram-se os valores da estatística descritiva, contendo os valores de média e desvio-padrão de resistência de união (MPa) obtidos nos 4 grupos estudados.

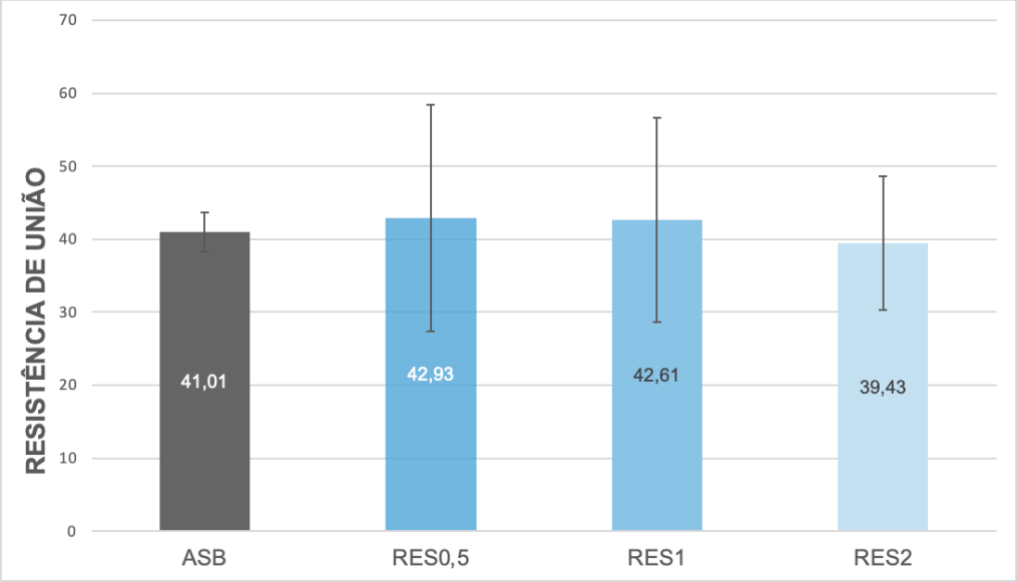
Tabela 1 - Análise descritiva para os diferentes grupos quanto à resistência de união (MPa)

Adesivo Comercial	**Valores em MPa±Dp**
Sem resveratrol (ASB)	41,01±2,64[A]
0,5% resveratrol (RES0,5)	42,93±15,49[A]
1% resveratrol (RES1)	42,61±13,97[A]
2% resveratrol (RES2)	39,43±9,14[A]

Legenda: (Dp): desvio-padrão.
Fonte: Elaborada pelo autor.

A Figura 15 apresenta o gráfico da análise descritiva das médias de resistência de união (MPa) e desvio padrão dos diferentes grupos de adesivos utilizados.

Figura 15 - Análise descritiva das médias de resistência de união (MPa) e desvio padrão



Legenda: gráfico das médias e desvio padrão dos diferentes grupos evidenciando as diferenças obtidas entre os sistemas adesivos utilizados.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a um fator. Dessa forma não foram observadas diferenças estatisticamente significantes para o fator Adesivo, considerando um nível de significância de 5% (Tabela 2).

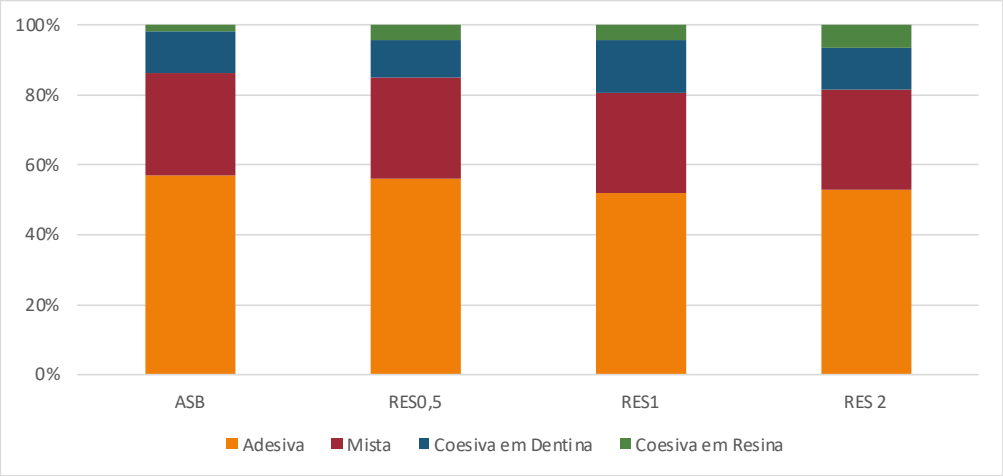
Tabela 2 - Teste análise de variância (ANOVA) a um fator para a resistência de união

Fatores	SQ	GL	QM	F	P
Adesivo	68883,36	1	68883,36	1347,711	0,000000*
Interação	78,04	3	26,01	0,509	0,678603*
Resíduo	1840,01	36	51,11	---	---

Legenda: (GL): grau de liberdade; (SQ): soma dos quadrados; (QM): quadrado médio; (F): razão; (P): valor. *p > 0,05
Fonte: Elaborada pelo autor.

A Figura 16 mostra a porcentagem de tipos de fratura dos palitos após o teste de microtração para cada grupo. Observa-se que houve predominância dos tipos de fratura adesiva e mista, sobre os tipos coesivas.

Figura 16 - Porcentagem de tipos de fraturas após teste de microtração



Fonte: Elaborada pelo autor.

5.2 Estatística do grau de conversão

Na tabela 3 apresentam-se os valores de média e desvio padrão do grau de conversão dos sistemas adesivos dos diferentes grupos deste estudo. De acordo com os resultados obtidos, a maior média foi observada no grupo RES0,5 – 81,02 ± 1,95; seguido do grupo ASB – 77,75 ± 3,22; do grupo RES1 – 76,02 ± 9,00 e do grupo ASB2 – 58,86 ± 15,94 não havendo diferença estatisticamente significativa entre eles.

A presença do resveratrol nas concentrações de 0,5, 1 e 2%, não influenciou no grau de conversão do sistema adesivo.

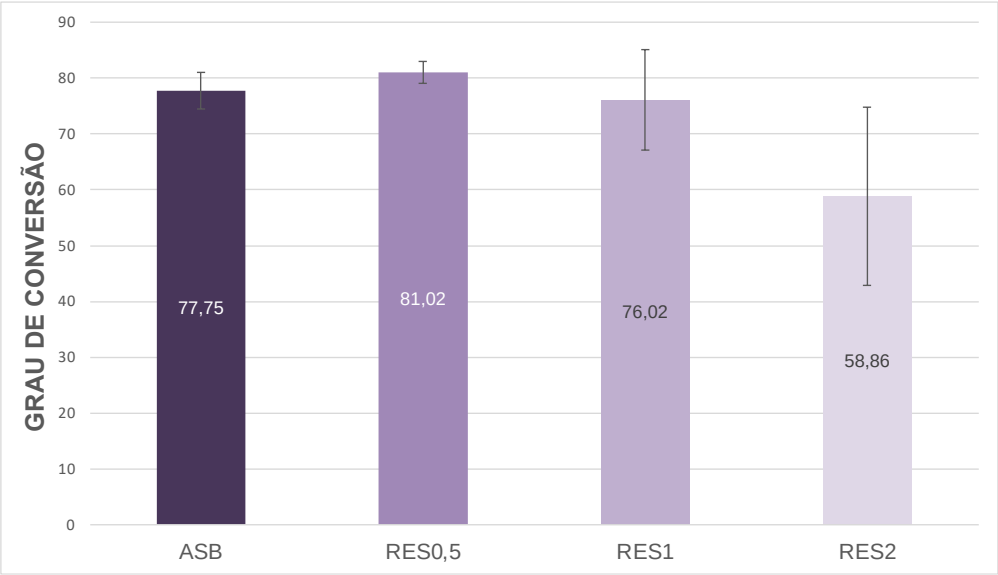
Tabela 3 - Análise descritiva para os diferentes grupos em ordem decrescente quanto ao grau de conversão

Adesivo Comercial	**Valores em Média±Dp**
Sem partículas (ASB)	77,75±3,22[A]
0,5% partículas (RES0,5)	81,02±1,95[A]
1% partículas (RES1)	76,02±9,00[A]
2% partículas (RES2)	58,86±15,94[A]

Legenda: (Dp): desvio-padrão.
Fonte: Elaborada pelo autor.

A Figura 17 apresenta o gráfico da análise descritiva das médias e desvio padrão dos diferentes grupos de adesivos para o grau de conversão.

Figura 17 - Análise descritiva das médias de grau de conversão e desvio padrão



Legenda: gráfico das médias e desvio padrão dos diferentes grupos evidenciando as diferenças obtidas entre os sistemas adesivos utilizados.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a um fator. Dessa forma não foram observadas diferenças estatisticamente significantes para o fator Adesivo, considerando um nível de significância de 5% (Tabela 4).

Tabela 4 - Teste de análise de variância (ANOVA) a um fator para o grau de conversão

Fatores	SQ	GL	QM	F	P
Adesivo	64672,74	1	64672,74	743,7112	0,000000*
Interação	885,51	3	295,17	3,3943	0,074123*
Resíduo	695,68	8	86,96	---	---

Legenda: (GL): grau de liberdade; (SQ): soma dos quadrados; (QM): quadrado médio; (F): razão; (P): valor. *p > 0,05
Fonte: Elaborada pelo autor.

5.3 Estatística para resistência mini-flexural

Na tabela 5 apresentam-se os valores de média e desvio padrão da resistência mini-flexural dos sistemas adesivos dos diferentes grupos deste estudo. De acordo com os resultados obtidos, a maior média foi observada no grupo RES0,5 – 33,14 ± 13,83; seguido do grupo RES1 – 31,1 ± 12,21 e grupo ASB – 29,72 ± 11,95 não havendo diferença estatisticamente significativa entre eles. A menor média foi observada no grupo RES2 – 19,72 ± 5,43, havendo diferença estatisticamente significativas em relação aos demais grupos.

A presença do resveratrol nas concentrações de 0,5 e 1%, não influenciou na resistência mini-flexural do sistema adesivo.

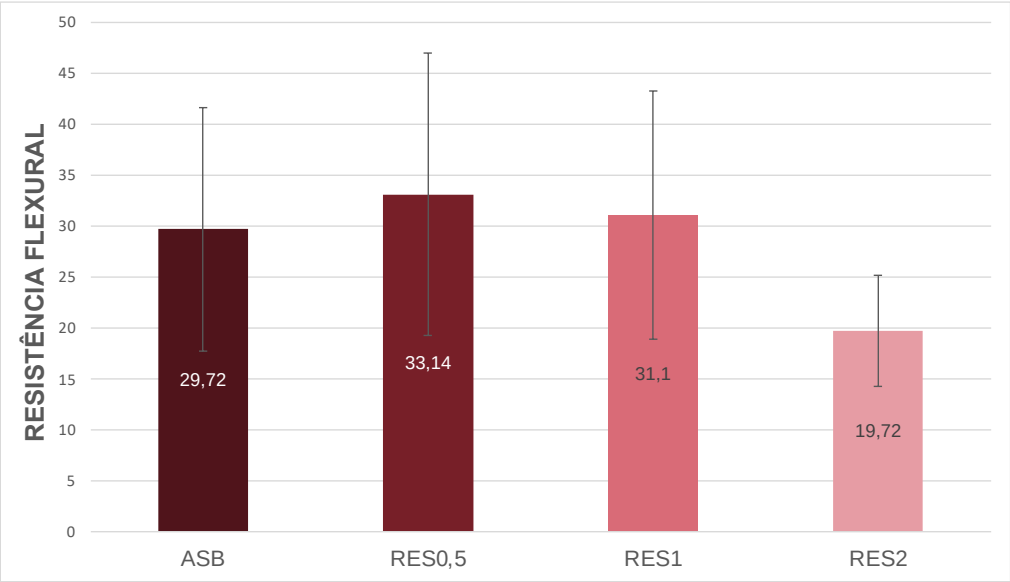
Tabela 5 - Análise descritiva para os diferentes grupos quanto à resistência mini-flexural

Adesivo Comercial	**Valores em Média±Dp**
Sem resveratrol (ASB)	29,72±11,95^{A}
0,5% resveratrol (RES0,5)	33,14±13,83^{A}
1% resveratrol (RES1)	31,1±12,21^{A}
2% resveratrol (RES2)	19,72±5,43^{B}

Legenda: (Dp): desvio-padrão.
Fonte: Elaborada pelo autor.

A Figura 18 apresenta o gráfico da análise descritiva das médias e desvio padrão dos diferentes grupos de adesivos para a resistência mini-flexural.

Figura 18 - Análise descritiva das médias de resistência mini-flexural e desvio padrão



Legenda: gráfico das médias e desvio padrão dos diferentes grupos evidenciando as diferenças obtidas entre os sistemas adesivos utilizados.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a um fator. Dessa forma foram observadas diferenças estatisticamente significantes para o fator Adesivo, considerando um nível de significância de 5% (Tabela 6).

Tabela 6 - Teste de análise de variância (ANOVA) a um fator para a resistência mini-flexural

Fatores	SQ	GL	QM	F	P
Adesivo	32308,99	1	32308,99	378,0990	0,000000*
Interação	1069,17	3	356,39	4,1707	0,012380*
Resíduo	3076,24	36	85,45	---	---

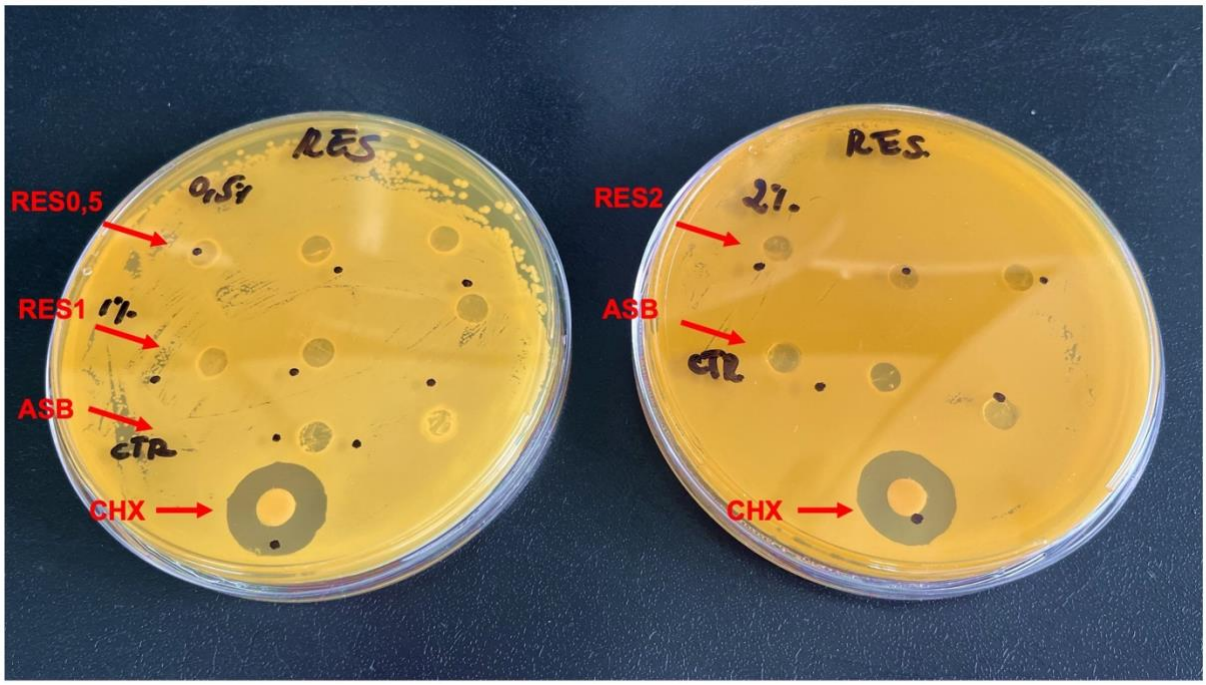
Legenda: (GL): grau de liberdade; (SQ): soma dos quadrados; (QM): quadrado médio; (F): razão; (P): valor. *p < 0,05
Fonte: Elaborada pelo autor.

5.4 Estatística para atividade antibacteriana

5.4.1 Difusão em ágar

A figura 19 apresenta a análise ilustrativa do teste de difusão em ágar, não foi observada a formação de áreas de inibição bacteriana nos diferentes grupos, somente no grupo controle de clorexidina 2%.

Figura 19 - Análise ilustrativa do teste de difusão em ágar



Fonte: Elaborada pelo autor.

5.4.2 Unidade Formadora de colônia (UFC)

Na tabela 7 apresentam-se os valores de média e desvio padrão da atividade antibacteriana quanto a unidade formadora de colônia (UFC) dos sistemas adesivos com resveratrol em diferentes concentrações empregados neste estudo.

De acordo com os resultados obtidos, a maior média foi observada no grupo ASB – 0,75 ± 0,03. O grupo RES1 – 0,68 ± 0,34 e o grupo RES0,5 – 0,67 ± 0,37, não apresentaram diferenças estatísticas entre eles. A menor média foi observada no grupo RES2 – 0,6 ± 0,02, havendo diferença estatisticamente significativas em relação aos demais grupos.

O grupo RES2 – 0,6 ± 0,02, apresentou menor média em relação aos outros grupos, demonstrando que a presença de 2% de resveratrol, diminuiu a quantidade de unidades formadoras de colônia no adesivo.

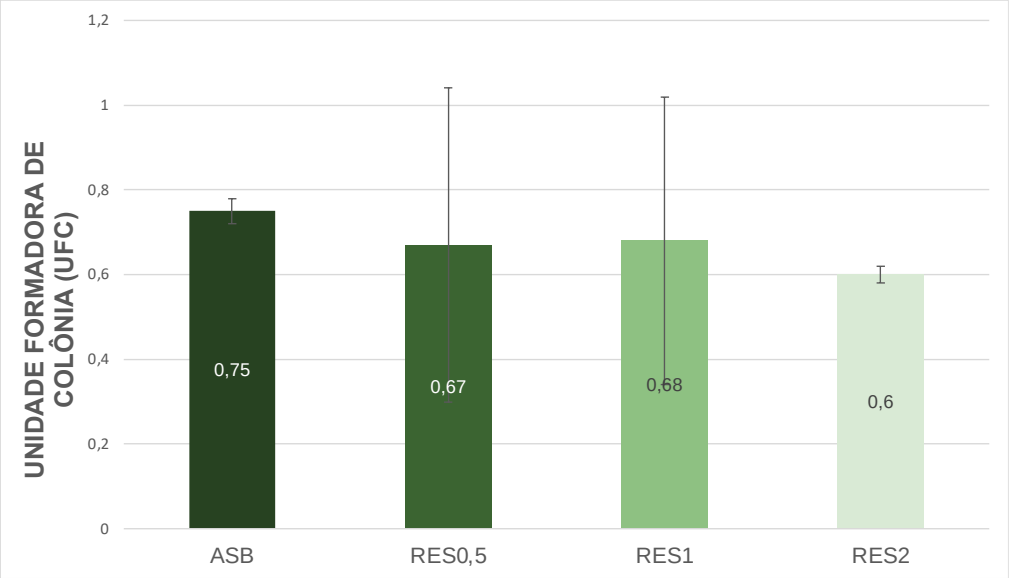
Tabela 7 - Análise descritiva para os diferentes grupos quanto à atividade antibacteriana (UFC)

Adesivo Comercial	**Valores em Média±Dp**
Sem resveratrol (ASB)	0,75±0,03^{A}
0,5% resveratrol (RES0,5)	0,67±0,37^{B}
1% resveratrol (RES1)	0,68±0,34^{B}
2% resveratrol (RES2)	0,60±0,02^{C}

Legenda: (Dp): desvio-padrão.
Fonte: Elaborada pelo autor.

A Figura 20 apresenta o gráfico da análise descritiva das médias e desvio padrão dos diferentes sistemas adesivos.

Figura 20 - Análise descritiva das médias de UFC e desvio padrão



Legenda: gráfico das médias e desvio padrão dos diferentes grupos evidenciando as diferenças obtidas entre os sistemas adesivos utilizados.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a um fator. Dessa forma foram observadas diferenças estatisticamente significantes para o fator Adesivo, considerando um nível de significância de 5% (Tabela 8).

Tabela 8 - Teste de análise de variância (ANOVA) a um fator para UFC

Fatores	SQ	GL	QM	F	P
Adesivo	5,504011	1	5,504011	2867,543	0,000000*
Interação	0,033269	3	0,011090	5,778	0,021147*
Resíduo	0,015355	8	0,001919	---	---

Legenda: (GL): grau de liberdade; (SQ): soma dos quadrados; (QM): quadrado médio; (F): razão; (P): valor. *p < 0,05
Fonte: Elaborada pelo autor.

6 DISCUSSÃO

Este estudo teve como objetivo avaliar as propriedades físico-químicas e mecânicas da incorporação do resveratrol em um sistema adesivo comercial, onde foi avaliada a resistência de união da interface adesiva, o grau de conversão, resistência mini-flexural e propriedades antibacterianas. Adicionalmente, foi feita a análise do padrão de fratura por meio do Estereomicroscópio. A incorporação do resveratrol foi realizada em três diferentes concentrações (0,5, 1 e 2%).

Considerando como hipóstese nulas testadas, H01 – a incorporação do resveratrol ao sistema adesivo não interfere na resistência de união da interface adesiva, H02 – não altera o grau de conversão do adesivo, H03 – não interfere na resistência mini-flexural do adesivo e H04 – não possui atividade antibacteriana.

No teste de microtração, no presente estudo, foram utilizados terceiros molares humanos hígidos, com a finalidade de se obter resultados mais próximos da realidade (Schmalz et al., 2001). Porém a grande desvantagem de se utilizar dentes humanos hígidos, é a dificuldade em obtê-los, o que torna inviável a formação de grupos experimentais maiores. Cada grupo experimental do presente estudo, foi constituído por dez molares humanos hígidos, no entanto, grupos com a mesma quantidade de dentes são comumente encontrados em outros estudos (Ayar e Erdermir, 2018; Pereira et al., 2005).

Os dentes foram armazenados em água destilada a 4 ºC, que foi trocada uma vez por semana, até o momento da utilização, não excedendo o período de 6 meses (ISO 11405). Neste estudo optou-se pela estocagem em freezer como método eficiente de armazenamento para dentes que serão submetidos a testes de resistência de união (Tonami et al., 1996).

No que se refere à escolha da água destilada como meio de armazenamento em estufa, os trabalhos de revisão de literatura realizados por De Munck et al. (2005) e Mair e Padipatvuthikul (2010), afirmam que a água é o meio mais comumente utilizado pelos pesquisadores para a realização do armazenamento em estufa em estudos que avaliam a resistência de união dos materiais. A troca semanal dessa água evita a estabilização do meio e acelera a hidrolise entre as interfaces camada hibrida-dentina e camada hibrida-resina (Kitasako et al., 2000; Poptani et al., 2012).

As revisões de literatura realizadas por De Munck et al. (2005) e Breschi et al. (2008), mostraram que os sistemas adesivos possuem uma boa resistência de união imediata. Foi utilizado no presente estudo, o adesivo convencional Adper Single Bond 2 (3M ESPE), por ser um produto amplamente estudado, com propriedades bem conhecidas, muito utilizado clinicamente e além de ser um adesivo de escolha de diversos estudos (Monteiro et al., 2013; Ou et al., 2018; Perote et al., 2015; Silva et al., 2015). O sistema Adper Single Bond 2 requer o condicionamento total prévio da dentina. Diante do mecanismo pela qual é conseguida a hibridização deste sistema adesivo, a presença de água após a lavagem para remoção do ácido, é importante para que o arcabouço colágeno seja mantido em expansão, o que facilita a penetração dos monômeros (Burey et al., 2018). Por isso, optou-se pela remoção do excesso de água, por meio de secagem com papel absorvente e não jato de ar.

O teste de microtração, foi o escolhido para a avaliação da resistência de união por ter sido utilizado em uma série de estudos anteriores (Armstrong et al., 2016; Campos et al., 2018; Komori et al., 2009; Rechmann et al., 2017), sendo Sano et al. (1994) o primeiro em empregar este método. Segundo a revisão de literatura realizada por De Munck et al. (2005) é o teste mais utilizado para avaliação da resistência de união. Para realizar o teste foram utilizados espécimes em forma de palito com uma área de aproximadamente de $1mm^2$. Essa característica permite a obtenção de um maior número de amostras, maior resistência e menor número de falhas (Armstrong et al., 2016; Pashley et al., 1999; Sano et al., 1994).

Os resultados em relação ao teste de microtração, demonstraram que a incorporação nas três diferentes concentrações (0,5, 1 e 2%), não interferiu na resistência de união da interface adesiva, aceitando a hipótese H01 testada.

Dessa forma, o estudo de Guo et al. (2021) corrobora com os resultados encontrados no presente estudo, pois avaliaram da mesma forma, a influência do resveratrol incorporado ao sistema adesivo na resistência de união. Os autores concluíram que não houve influência do resveratrol na resistência de união à dentina na quantidade de 0,1 e 1 mg/ml de resveratrol. No entanto, na quantidade de 10 mg/ml, a resistência de união diminuiu.

As características biológicas do resveratrol, podem fornecer algumas informações que explicam esse resultado. Como um polifenol de extrato vegetal, a função antiinflamatória e antioxidante do resveratrol é originada principalmente da

presença de grupos hidroxila fenólicos (Leopoldini et al. 2011). A literatura relatou que extratos naturais polifenólicos, como proantocianidina e epigalocatequina-3-galato, podem exercer efeitos de reticulação de colágeno devido à ligação de hidrogênio entre grupos hidroxila fenólicos e proteína amida carbonil (Castellan et al., 2011). No entanto, os efeitos negativos dos polifenóis como sequestradores de radicais podem afetar a polimerização dos adesivos (Souza et al. 2020). No estudo de Guo et al. (2021), a resistência de união à dentina diminuiu no grupo de 10 mg/mL de resveratrol, independentemente do envelhecimento. Esse fenômeno indica que o desempenho de adesão dos adesivos pode ser afetado negativamente pela aplicação de concentração excessiva de resveratrol.

Por esta razão, no presente estudo, foi decidido por meio de um estudo piloto, a utilização das concentrações de 0,5, 1 e 2% de resveratrol, devido aos resultados desfavoráveis com concentrações maiores. Além disso, a incorporação de concentrações maiores (5 e 10%) ficaram inviáveis, pois alteraram a consistência e as características do adesivo pelo método que foi utilizado de mistura do mesmo, através do vibrador Vortex e com agitação por 48 h. Concentrações apropriadas de resveratrol devem ser cuidadosamente determinadas para garantir que sua inclusão em adesivos influencie minimamente a polimerização do adesivo e a durabilidade da união (Guo et al., 2021).

Atalayin et al. (2018) avaliaram os efeitos da adição de resveratrol na citotoxicidade e resistência de união à microtração de diferentes adesivos. Foram utilizados cinco adesivos autocondicionantes e a quantidade de resveratrol testada foi de 0,5 μM. Os autores concluíram que a adição de RES a adesivos aumenta a viabilidade celular e não afeta a força união da dentina, corroborando com os resultados encontrados no presente estudo.

No entanto, Atalayin et al. (2018) relataram que houve diferenças entre os grupos considerando o tipo de adesivo como variável. Os valores notavelmente mais baixos de μTBS foram descritos em G-aenial Bond incluindo formulação sem HEMA e Gluma Self Etch incluindo uretano dimetacrilato (UDMA). Esses achados sustentam que a ausência de HEMA leva ao contato da água com grupos hidrofóbicos e cria condições desfavoráveis, causando a separação da água (Poptani et al., 2012). Por outro lado, o potencial de ligação do ácido 4-metacriloxietiltrimelítico (4-MET) foi menor. O G-aenial Bond incluindo 4-MET apresentou valores de μTBS mais baixos.

Além disso, o potencial de conversão rápida de 4-META para 4-MET foi observado. Assim, os valores mais baixos de µTBS do Gluma Self Etch também podem estar relacionados com o conteúdo de 4-META.

Estes achados sugerem que a interação do resveratrol com diferentes combinações de monômeros pode causar diversos efeitos. A difusão dos monômeros na dentina e a polimerização do monômero difundido são os pontos-chave para a adesão (Gotti et al., 2015). Os adesivos incluídos no estudo de Atalayin et al. (2018) possuem diferentes monômeros com diferentes propriedades de difusão. A força de união dos adesivos pode depender, portanto, da composição química dos adesivos.

No presente estudo, optou-se por utilizar adesivo de condicionamento ácido total, pois além dos outros motivos apresentados anteriormente, não apresenta monômeros ácidos, como o 4-META, além de possuírem HEMA em sua composição. Favorecendo os resultados obtidos, diferentemente do que aconteceu com os grupos que possuíam esses componentes no estudo de Atalayin et al. (2018), descrito anteriormente.

O teste de grau de conversão foi realizado para avaliar uma das propriedades físico-químicas mais importantes dos materiais resinosos. O grau de conversão é crucial para se determinar desempenho mecânico e as propriedades de degradação do polímero, bem como sua biocompatibilidade (Souza et al., 2015; Pirmoradian et al., 2019). Seu comportamento longitudinal frente às agressões drásticas oferecidas pelo meio bucal, reflete constantemente na prática clínica.

O grau de conversão representa a quantidade de monômeros que foram convertidos em polímeros durante e após a fotoativação. Uma polimerização deficiente, consequentemente irá proporcionar uma menor longevidade da restauração, uma vez que estará mais susceptível aos fatores que levam à degradação (Wang et al., 2006; Silva et al., 2008). A intensidade de luz da unidade fotoativadora e o tempo de exposição podem afetar diretamente a polimerização do material, por esse motivo, no presente estudo, a quantidade de amostra, o aparelho fotopolimerizador e o tempo de exposição à luz, foram padronizados (Arrais et al., 2007).

No presente estudo, o grau de conversão foi medido através de um dispositivo auxiliar do FTIR de reflexão total atenuada (ATR). Esse dispositivo possui um cristal, onde é despejada a forma fluida do adesivo, após a leitura do espécime, o mesmo é

polimerizado diretamente sobre o cristal e em seguida faz-se a leitura da forma polimerizada. Essa metodologia utilizada no presente estudo é frequentemente observada em trabalhos anteriores (Arrais et al., 2007; Pirmoradian et al., 2019)

Os resultados em relação ao grau de conversão, demonstraram que a incorporação do resveratrol nas concentrações de 0,5, 1 e 2%, não interferiram nos valores de grau de conversão, aceitando a hipótese H02 testada.

No estudo de Guo et al. (2021), os valores médios de grau de conversão dos grupos adesivos de 0,1 e 1 mg/mL não diminuíram significativamente em comparação com o grupo controle, corroborando com os achados no presente estudo. Já o valor de grau de conversão diminuiu significativamente quando a quantidade incorporada de resveratrol atingiu 10% (Guo et al., 2021).

Essa tendência acontece principalmente porque a formação de cadeias poliméricas lineares pode ser prejudicada pela incorporação de resveratrol em concentrações relativamente altas. Como resultado, a polimerização radical livre do adesivo dentinário não foi concluída. Assim, podemos relatar novamente que as concentrações de resveratrol utilizadas no presente estudo, foram ideais para que não houvesse influência no grau de conversão do adesivo. Assim, a concentração de aditivos incorporados em adesivos não deve ser tão alta quanto possível e deve ser deliberadamente selecionada para garantir a obtenção de resistência de união eficiente (Gou et al., 2021).

A propriedade mecânica de resistência mini-flexural é uma propriedade importante de ser avaliada. Isso porque o material deve ser o mais resistente possível às cargas mecânicas às quais ficam expostas durante o ato mastigatório. Este teste é indicativo da capacidade do material de resistir às altas forças mastigatórias, prevenindo a micro infiltração (Barcellos et al., 2016).

As concentrações de resveratrol de 0,5 e 1%, do presente estudo, não influenciaram na resistência mini-flexural do sistema adesivo. No entanto, a concentração de 2% de resveratrol, diminuiu significativamente, rejeitando a hipótese H03 testada. O resveratrol, portanto, na concentração de 2% interferiu diminuindo a resistência mini-flexural do adesivo.

Os sistemas adesivos dentais são misturas complexas cujas propriedades podem ser influenciadas pela presença e quantidade de qualquer componente (Dressano et al., 2020). A não interferência na resistência mini-flexural, de

concentrações mais baixas de resveratrol, pode representar um resultado favorável, uma vez que, foram incluídos elementos que poderiam comprometer a resistência e talvez futuramente prejudicar a longevidade. Como não houve interferência, pode se cogitar a possibilidade da adição das concentrações 0,5 e 1% serem promissoras na longevidade das restaurações.

Quanto aos testes antibacterianos, o *Streptococcus mutans* foi utilizado para avaliação das atividades antibacterianas, como pode ser observado no estudo de Guo et al. (2021). Foi utilizado para avaliação antibacteriana, o teste de difusão em ágar e unidades formadoras de colônia, conforme foi feito no estudo citado.

No teste de difusão em ágar a morte do *Streptococcus mutans* ocorre por meio de um mecanismo predominante de morte por contato. O agente antimicrobiano atinge a morte por contato ao alterar a membrana nas paredes celulares de bactérias aderentes (Gong et al., 2012). Quando as bactérias com parede celular carregada negativamente entram em contato com a superfície carregada positivamente (N^+) do adesivo contendo um agente antimicrobiano por meio de atração eletrostática, elas são perfuradas pelas longas cadeias de alquil, causando vazamento de componentes citoplasmáticos e subsequente morte celular (Guo et al., 2021).

No presente estudo não foi observado halo de inibição no teste de difusão em ágar, isto é, o resveratrol não matou por contato o *Streptococcus mutans* nas concentrações utilizadas no presente estudo em discos de adesivos polimerizados. No entanto, reduziu significativamente as bactérias presentes no meio no teste de unidades formadoras de colônias (UFC), demonstrando que pode haver ocorrido a lixiviação do resveratrol no meio.

Com isso, a hipótese H04 testada foi rejeitada, pois a incorporação das diferentes concentrações de resveratrol adesivo (0,5, 1 e 2%), reduziu significativamente as bactérias viáveis, em comparação com o grupo controle, por meio do teste de UFC. Sendo que, a concentração de 2% demonstrou o menor resultado em relação aos outros grupos.

Segundo o estudo de Yu et al. (2021) a progressão da cárie secundária ao longo da interface resina-dentina é considerada como outro fator de risco considerável, levando ao declínio da durabilidade da união. A colonização, crescimento e formação de biofilme de bactérias cariogênicas, especialmente *S.*

mutans, pode desmineralizar e degradar a matriz dentinária, produzindo produção de ácido metabólico para induzir a falha da restauração adesiva.

Adesivos com propriedades antibacterianas são altamente exigidos para inibir a formação de biofilme. No presente estudo, resultados consistentes do ensaio de UFC mostraram que a formação de biofilme de *Streptococcus mutans* nos grupos de 0,5, 1 e 2% foram significativamente menores do que no grupo controle, ilustrando a capacidade inibitória efetiva para prevenção de cárie secundária. Investigações anteriores corroboram com esse resultado (Porto et al., 2018; Peng et al., 2020).

A atuação antibacteriana do resveratrol na formação do biofilme de *Streptococcus mutans* foi comprovada por diferentes pesquisadores e pode ser atribuída a vários mecanismos. Primeiro, a atividade de fatores de virulência, como a glucosiltransferase, pode ser atenuada pelo resveratrol de inibir a produção de ácido para combater a cariogenicidade de *Streptococcus mutans* (Vestergaard e Ingmer, 2019). Além disso, os efeitos antimicrobianos do resveratrol são susceptíveis de cortar as vias do metabolismo bacteriano que são necessárias para a sobrevivência anaeróbica. Os polifenóis podem alterar a membrana bacteriana aumentando o efluxo de trifosfato de adenosina do citoplasma e desestabilizando o lipopolissacarídeo (O'Connor et al., 2011).

Estudos futuros são necessários para avaliar a incorporação de resveratrol no sistema adesivo, bem como sua concentração ideal. No entanto, o presente estudo deixa claro que a incorporação de resveratrol no sistema adesivo em baixas concentrações (0,5 e 1%), não altera a resistência de união da interface adesiva, bem como o grau de conversão e a resistência flexural, além de apresentar propriedades antibacterianas.

Embora os resultados obtidos por este estudo não possam ser diretamente utilizados em uma situação clínica, podemos sugeri-lo para o desenvolvimento de novas estratégias a fim de manter a resistência de união da interface adesiva ao longo do tempo, aumentando assim a durabilidade das restaurações adesivas, além de contribuir com a atividade antibacteriana, sendo um indicador para novas pesquisas sobre o assunto.

7 CONCLUSÃO

Considerando os resultados obtidos nesse estudo, com relação a incorporação de resveratrol no sistema adesivo, pôde-se concluir que:

• A incorporação do resveratrol nas diferentes concentrações (0,5,1 e 2%) não influenciou na resistência de união da interface adesiva;

• As diferentes concentrações do resveratrol incorporadas no sistema adesivo, não influenciaram no grau de conversão;

• A incorporação do resveratrol na concentração de 2% diminuiu a resistência mini-flexural do adesivo;

• A presença de resveratrol nas diferentes concentrações, apresentou atividade antibacteriana, diminuindo a quantidade de unidades formadoras de colônia de *Streptococcus mutans*.

REFERÊNCIAS*

Al-Ammar A, Drummond JL, Bedran-Russo AK. The use of collagen cross-linking agents to enhance dentin bond strength. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2009 Oct;91(1):419-24. doi: 10.1002/jbm.b.31417. PMID: 19507140; PMCID: PMC2771399.

Amaral CM, Diniz AM, Arantes EBR, Dos Santos GB, Noronha-Filho JD, da Silva EM. Resin-dentin bond stability of experimental 4-META-based etch-and-rinse adhesives solvated by ethanol or acetone. J Adhes Dent. 2016;18(6):513–20. doi: 10.3290/j.jad.a37200. PMID: 27869252.

Armstrong S, Breschi L, Özcan M, Pfefferkorn F, Ferrari M, Meerbeek B Van. Academy of dental materials guidance on in vitro testing of dental composite bonding effectiveness to dentin / enamel using micro-tensile bond strength (TBS) approach. Dent Mater. 2016;33(2):133–43. doi: 10.1016/j.dental.2016.11.015.

Armstrong S, Geraldeli S, Maia R, Raposo LHA, Soares CJ, Yamagawa J. Adhesion to tooth structure: a critical review of “micro” bond strength test methods. Dent Mater. 2010;26(2):e50-62. doi: 10.1016/j.dental.2009.11.155. PMID: 20045179.

Arrais CAG, Pontes FM, dos Santos LPS, Leite ER, Giannini M. Degree of conversion of adhesive systems light-cured by LED and halogen light. Braz Dent J. 2007;18(1):54–9. doi: 10.1590/s0103-64402007000100012. PMID: 17639202.

Atalayin C, Armagan G, Konyalioglu S, Kemaloglu H, Tezel H, Ergucu Z, et al. The protective effect of resveratrol against dentin bonding agents-induced cytotoxicity. Dent Mater J. 2015;34(6):766-73. doi: 10.4012/dmj.2015-079. Epub 2015 Oct 27. PMID: 26510940.

Atalayin C, Tezel H, Ergucu Z, Unlu N, Armagan G, Dagci T, et al. The improvement of biocompatibility of adhesives. Clin Oral Investig. 2019;23(8):3213–8. doi: 10.1007/s00784-018-2745-y.

Ayar MK, Erdermir F. Bonding strength of universal adhesives to Er,Cr:YSGG laser-irradiated dentin. Niger J Clin Pract. 2018;21(1):93–8. doi: 10.4103/1119-3077.224792. PMID: 27878896.

* Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [atualizado 04 nov 2015; acesso em 25 jun 2017]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Barcellos DC, Fonseca BM, Pucci CR, Cavalcanti Bd, Persici Ede S, Gonçalves SE. Zn-doped etch-and-rinse model dentin adhesives: Dentin bond integrity, biocompatibility, and properties. Dent Mater. 2016 Jul;32(7):940-50. doi: 10.1016/j.dental.2016.04.003. Epub 2016 May 9. PMID: 27174214.

Bedran-Russo AK, Pashley DH, Agee K, Drummond JL, Miescke KJ. Changes in stiffness of demineralized dentin following application of collagen crosslinkers. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2008 Aug;86(2):330-4. doi: 10.1002/jbm.b.31022. PMID: 18161815.

Bedran-Russo AK, Pereira PN, Duarte WR, Drummond JL, Yamauchi M. Application of crosslinkers to dentin collagen enhances the ultimate tensile strength. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2007 Jan;80(1):268-72. doi: 10.1002/jbm.b.30593. PMID: 16767722.

Borges ALS, Borges AB, Barcellos DC, Saavedra GSFA, Paes Jr. TJA, Rode SM. Avaliação da resistência flexural e módulo de elasticidade de diferentes resinas compostas indiretas. RPG Rev Pos-Grad. 2012;19(2):50-6.

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;24(1):90–101. doi: 10.1016/j.dental.2007.02.009. PMID: 17442386.

Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. J Dent Res. 1955;34(6):849–53. doi: 10.1177/00220345550340060801.

Burey A, dos Reis PJ, Santana Vicentin BL, Dezan Garbelini CC, Grama Hoeppner M, Appoloni CR. Polymerization shrinkage and porosity profile of dual cure dental resin cements with different adhesion to dentin mechanisms. Microsc Res Tech. 2018;81(1):88–96. doi: 10.1002/jemt.22960.

Calheiros FC, Daronch M, Rueggeberg FA, Braga RR. Degree of conversion and mechanical properties of a BisGMA:TEGDMA composite as a function of the applied radiant exposure. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2008 Feb;84(2):503-9. doi: 10.1002/jbm.b.30897. PMID: 17635039.

Camargo MA, Silveira BL, Delfino CS, Zaroni WCS, Matos AB. Microtensile bond test: a literature overview. J Healt Sci Inst. 2007;25(3):313-8.

Campillo-Funollet M, Dargush GF, VanSlooten RA, Mollendorf JC, Kim H, Makowka SR. Size-dependent strength of dental adhesive systems. Dent Mater. 2014;30(8):e216-28. doi: 10.1016/j.dental.2014.03.010. PMID: 24786647.

Campos RE, Santos Filho PCF, Júnior OB, Ambrosano GMB, Pereira CA. Comparative evaluation of 3 microbond strength tests using 4 adhesive systems: Mechanical, finite element, and failure analysis. J Prosthet Dent. 2018;119(1):166–74. doi: 10.1016/j.prosdent.2017.02.024.

Cardoso G, Nakanishi L, Pereira Isolan C, Dos P, Jardim S, Ratto De Moraes R. Bond stability of universal adhesives applied to dentin using etch-and- rinse or self-etch strategies. Braz Dent J. 2019;30(5):467–75. doi: 10.1590/0103-6440201902578.

Cardoso PEC, Braga RR, Carrilho MRO. Evaluation of micro-tensile, shear and tensile tests determining the bond strength of three adhesive systems. Dent Mater. 1998;14(6):394–8. doi: 10.1016/S0300-5712(99)00012-3.

Carrilho MR, Tay FR, Donnelly AM, Agee KA, Tjäderhane L, Mazzoni A, et al. Host-derived Loss of Dentin Matrix Stiffness Associated with Solubilization of Collagen. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2009;90(1):373–80. doi: 10.1002/jbmr.548.Cell.

Castellan CS, Bedran-Russo AK, Karol S, Pereira PN. Long-term stability of dentin matrix following treatment with various natural collagen cross-linkers. J Mech Behav Biomed Mater. 2011 Oct;4(7):1343-50. doi: 10.1016/j.jmbbm.2011.05.003. Epub 2011 May 8. PMID: 21783144; PMCID: PMC3143368.

Castellan CS, Pereira PN, Grande RH, Bedran-Russo AK. Mechanical characterization of proanthocyanidin-dentin matrix interaction. Dent Mater. 2010a Oct;26(10):968-73. doi: 10.1016/j.dental.2010.06.001. Epub 2010 Jul 21. PMID: 20650510; PMCID: PMC2935332.

Castellan CS, Pereira PN, Viana G, Chen SN, Pauli GF, Bedran-Russo AK. Solubility study of phytochemical cross-linking agents on dentin stiffness. J Dent. 2010b May;38(5):431-6. doi: 10.1016/j.jdent.2010.02.002. Epub 2010 Feb 18. PMID: 20171257; PMCID: PMC2882861.

Cheng L, Weir MD, Xu HHK, Kraigsley AM, Lin NJ, Lin-Gibson S, et al. Antibacterial and physical properties of calcium-phosphate and calcium-fluoride nanocomposites with chlorhexidine. Dent Mater. 2012;28(5):573–83. doi: 10.1016/j.dental.2012.01.006. Epub 2012 Feb 6. PMID: 22317794; PMCID: PMC3322264

De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, et al. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: Methods and results. J Dent Res. 2005;84(2):118–32. doi: 10.1177/154405910508400204. PMID: 15668328.

Delaviz Y, Liu TW, Deonarain AR, Finer Y, Shokati B, Santerre JP. Physical properties and cytotoxicity of antimicrobial dental resin adhesives containing dimethacrylate oligomers of Ciprofloxacin and Metronidazole. Dent Mater. 2019;35(2):229–43. doi: 10.1016/J.DENTAL.2018.11.016.

Dressano D, Salvador MV, Oliveira MT, Marchi GM, Fronza BM, Hadis M, Palin WM, Lima AF. Chemistry of novel and contemporary resin-based dental adhesives. J Mech Behav Biomed Mater. 2020;110:103875. doi: 10.1016/j.jmbbm.2020.103875.

Drummond JL. Degradation, fatigue, and failure of resin dental composite materials. J Dent Res. 2008 Aug;87(8):710-9. doi: 10.1177/154405910808700802. PMID: 18650540; PMCID: PMC2561305.

Erhardt MCG, Osorio R, Viseras C, Toledano M. Adjunctive use of an anti-oxidant agent to improve resistance of hybrid layers to degradation. J Dent. 2011;39(1):80–7. doi: 10.1016/j.jdent.2010.10.013.

Ferreira S, Domingues F. The antimicrobial action of resveratrol against Listeria monocytogenes in food-based models and its antibiofilm properties. J Sci Food Agric. 2016;96(13):4531–5. doi: 10.1002/jsfa.7669.

Finan L, Palin WM, Moskwa N, McGinley EL, Fleming GJ. The influence of irradiation potential on the degree of conversion and mechanical properties of two bulk-fill flowable RBC base materials. Dent Mater. 2013 Aug;29(8):906-12. doi: 10.1016/j.dental.2013.05.008. Epub 2013 Jun 17. PMID: 23787035.

Galiniak S, Aebisher D, Bartusik-Aebisher D. Health benefits of resveratrol administration. Acta Biochim Pol. 2019 Feb 28;66(1):13-21. doi: 10.18388/abp.2018_2749. PMID: 30816367.

Gambini J, Inglés M, Olaso G, Lopez-Grueso R, Bonet-Costa V, Gimeno-Mallench L, et al. Properties of Resveratrol: In Vitro and In Vivo Studies about Metabolism, Bioavailability, and Biological Effects in Animal Models and Humans. Oxid Med Cell Longev. 2015;2015:837042. doi: 10.1155/2015/837042. Epub 2015 Jun 28. PMID: 26221416; PMCID: PMC4499410.

Giannini M, Liberti MS, Arrais CA, Reis AF, Mettenburg D, Rueggeberg FA. Influence of filler addition, storage medium and evaluation time on biaxial flexure strength and modulus of adhesive systems. Acta Odontol Scand. 2012 Dec;70(6):478-84. doi: 10.3109/00016357.2011.639308. Epub 2011 Dec 12. PMID: 22150012.

Goh KL, Meakin JR, Aspden RM, Hukins DW. Stress transfer in collagen fibrils reinforcing connective tissues: effects of collagen fibril slenderness and relative stiffness. J Theor Biol. 2007 Mar 21;245(2):305-11. doi: 10.1016/j.jtbi.2006.10.008. Epub 2006 Oct 14. PMID: 17123548.

Gong SQ, Epasinghe J, Rueggeberg FA, Niu LN, Mettenberg D, Yiu CK, et al. An ORMOSIL-containing orthodontic acrylic resin with concomitant improvements in antimicrobial and fracture toughness properties. PLoS One. 2012;7(8):e42355. doi: 10.1371/journal.pone.0042355. Epub 2012 Aug 1. PMID: 22870322; PMCID: PMC3411672.

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

Gou Y, Meghil MM, Pucci CR, Breschi L, Pashley DH, Cutler CW, et al. Optimizing resin-dentin bond stability using a bioactive adhesive with concomitant antibacterial properties and anti-proteolytic activities. Acta Biomater. 2018;75:171–82. doi: 10.1016/j.actbio.2018.06.008.

Gülçin I. Antioxidant properties of resveratrol: A structure–ac- tivity insight. Innov Food Sci Emerg Technol. 2010;11:210–218. doi: 10.1016/j.ifset.2009.07.002.

Guo R, Peng W, Yang H, Yao C, Yu J, Huang C. Evaluation of resveratrol-doped adhesive with advanced dentin bond durability. J Dent. 2021;114:103817. doi: doi.org/10.1016/j.jdent.2021.103817.

Han B, Jaurequi J, Tang BW, Nimni ME. Proanthocyanidin: a natural crosslinking reagent for stabilizing collagen matrices. J Biomed Mater Res A. 2003 Apr 1;65(1):118-24. doi: 10.1002/jbm.a.10460. PMID: 12635161.

Hanabusa M, Mine A, Kuboki T, Momoi Y, Van Ende A, Van Meerbeek B, et al. Bonding effectiveness of a new “multi-mode” adhesive to enamel and dentine. J Dent. 2012;40(6):475–84. doi: 10.1016/j.jdent.2012.02.012. PMID: 22381614.

Hasan M, Bae H. An Overview of Stress-Induced Resveratrol Synthesis in Grapes: Perspectives for Resveratrol-Enriched Grape Products. Molecules. 2017 Feb 14;22(2):294. doi: 10.3390/molecules22020294. PMID: 28216605; PMCID: PMC6155908.

Hashimoto M, Nagano F, Endo K, Ohno H. A review: Biodegradation of resin-dentin bonds. Jpn Dent Sci Rev. 2011;47(1):5–12. doi: 10.1016/j.jdsr.2010.02.001. PMID: 6441.

Huang B, Cvitkovitch DG, Santerre JP, Finer Y. Biodegradation of Resin-Dentin Interfaces is Dependent on the Restorative Material, Mode of Adhesion and a Combined Effects of Esterase and MMP Inhibition. Dent Mater. 2018:1–10. doi: 10.1016/j.dental.2018.05.008.

Imazato S, McCabe JF, Tarumi H, Ehara A, Ebisu S. Degree of conversion of composites measured by DTA and FTIR. Dent Mater. 2001 Mar;17(2):178-83. doi: 10.1016/s0109-5641(00)00066-x. PMID: 11163389.

International Organization for Standardization - ISO. ISO 4049:1998: Dentistry – Resin-based filling materials. Geneva: ISO; 1998.

Jardim FR, de Rossi FT, Nascimento MX, da Silva Barros RG, Borg- es PA, Prescilio IC, de Oliveira. Resveratrol and brain mitochondria: a review. Mol Neurobiol. 2018;55:2085–2101. doi: 10.1007/s12035-017-0448-z.

Kitasako Y, Burrow MF, Nikaido T, Tagami J. The influence of storage solution on dentin bond durability of resin cement. Dent Mater. 2000;16(1):1–6. doi: 10.1016/S0109-5641(99)00061-5.

Kolouchová I, Maťátková O, Paldrychová M, Kodeš Z, Kvasničková E, Sigler K, et al. Resveratrol, pterostilbene, and baicalein: plant-derived anti-biofilm agents. Folia Microbiol (Praha). 2018;63(3):261–72. doi: 10.1007/s12223-017-0549-0.

Komori PCP, Pashley DH, Tjäderhane L, Breschi L, Mazzoni A, de Goes MF, et al. Effect of 2% chlorhexidine digluconate on the bond strength to normal versus caries-affected dentin. Oper Dent. 2009;34(2):157–65. doi: 10.2341/08-55.

la Porte C, Voduc N, Zhang G, Seguin I, Tardiff D, Singhal N, et al. Steady-State pharmacokinetics and tolerability of trans-resveratrol 2000 mg twice daily with food, quercetin and alcohol (ethanol) in healthy human subjects. Clin Pharmacokinet. 2010 Jul;49(7):449-54. doi: 10.2165/11531820-000000000-00000. PMID: 20528005.

Lankes V, Reymus M, Mayinger F, Coldea A, Liebermann A, Hoffmann M, et al. Three-Dimensional Printed Resin: Impact of Different Cleaning Protocols on Degree of Conversion and Tensile Bond Strength to a Composite Resin Using Various Adhesive Systems. Materials (Basel). 2023 May 7;16(9):3580. doi: 10.3390/ma16093580. PMID: 37176461; PMCID: PMC10179867.

Leopoldini M, Russo N, Toscano M. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. Food Chem. 2011 Mar;125(2):288-306. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.08.012

Li J, Wu T, Peng W, Zhu Y. Effects of resveratrol on cariogenic virulence properties of Streptococcus mutans. BMC Microbiol. 2020;20(1):1–11. doi: 10.1186/s12866-020-01761-3. PMID: 32303183.

Li YR, Li S, Lin CC. Effect of resveratrol and pterostilbene on aging and longevity. Biofactors. 2018 Jan;44(1):69-82. doi: 10.1002/biof.1400. Epub 2017 Dec 6. PMID: 29210129.

Lin FY, Hsieh YH, Yang SF, Chen CT, Tang CH, Chou MY, et al. Resveratrol suppresses TPA-induced matrix metalloproteinase-9 expression through the inhibition of MAPK pathways in oral cancer cells. J Oral Pathol Med. 2015 Oct;44(9):699-706. doi: 10.1111/jop.12288. Epub 2014 Nov 17. PMID: 25401496.

Loguercio Alessandro D, Uceda-Gomez N, Carrilho MR de O, Reis A. Influence of specimen size and regional variation on long-term resin-dentin bond strength. Dent Mater. 2005b;21(3):224–31. doi: 10.1016/j.dental.2004.03.012. PMID: 15705429.

Loguercio Alessandro Dourado, Barroso LP, Grande RHM, Reis A. Comparison of intra- and intertooth resin-dentin bond strength variability. J Adhes Dent. 2005a;7(2):151–8. PMID: 16052764.

Lohbauer U, von der Horst T, Frankenberger R, Krämer N, Petschelt A. Flexural fatigue behavior of resin composite dental restoratives. Dent Mater. 2003 Jul;19(5):435-40. doi: 10.1016/s0109-5641(02)00088-x. PMID: 12742440.

Mair L, Padipatvuthikul P. Variables related to materials and preparing for bond strength testing irrespective of the test protocol. Dent Mater. 2010;26(2):e17-23. doi: 10.1016/j.dental.2009.11.154. PMID: 20074788.

Manhart J, Chen HY, Hamm G, Hickel R. Review of the clinical survival of direct and indirect restorations in posterior teeth of the permanent dentition. Oper Dent 2004;29(5):481-508.

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. doi: 10.1016/j.ijadhadh.2013.09.020.

Nakabayashi N, Takeyama M, Kojima K, Masuhara E. [Studies on dental self-curing resins (19) - adhesion of 4-META/MMA-TBB resin to pretreated dentine. Shika Rikogaku Zasshi. 1982;23(61):29–33. PMID: 7042864.

Nedeljkovic I, Teughels W, De Munck J, Van Meerbeek B, Van Landuyt KL. Is secondary caries with composites a material-based problem? Dent Mater. 2015;31(11):e247–77. doi: 10.1016/j.dental.2015.09.001. PMID: 26410151.

O'Connor DJ, Wong RW, Rabie AB. Resveratrol inhibits periodontal pathogens in vitro. Phytother Res. 2011 Nov;25(11):1727-31. doi: 10.1002/ptr.3501. Epub 2011 Apr 25. PMID: 21520308.

Ou Q, Hu Y, Yao S, Wang Y, Lin X. Effect of matrix metalloproteinase 8 inhibitor on resin-dentin bonds. Dent Mater. 2018 May;34(5):756-763. doi: 10.1016/j.dental.2018.01.027. Epub 2018 Feb 12. PMID: 29449021.

Öztürk E, Arslan AKK, Yerer MB, Bishayee A. Resveratrol and diabetes: A critical review of clinical studies. Biomed Pharmacother. 2017 Nov;95:230-234. doi: 10.1016/j.biopha.2017.08.070. Epub 2017 Sep 12. PMID: 28843911.

Pashley DH, Carvalho RM, Sano H, Nakajima M, Yoshiyama M, Shono Y, et al. The microtensile bond test: a review. J Adhes Dent. 1999;1(4):299–309. PMID: 11725659.

Pashley DH, Carvalho RM, Sano H, Nakajima M, Yoshiyama M, Shono Y, et al. The microtensile bond test: a review. J Adhes Dent. 1999;1(4):299–309. PMID: 11725659.

Pashley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: A review. Dent Mater. 1995;11(2):117–25. doi: 10.1016/0109-5641(95)80046-8.

Pashley DH, Tao L, Boyd L, King GE, Horner JA. Scanning electron microscopy of the substructure of smear layers in human dentine. Arch Oral Biol. 1988;33(4):265–70. doi: 10.1016/0003-9969(88)90188-4. PMID: 3165261.

Pashley DH. The effects of acid etching on the pulpodentin complex. Oper Dent. 1992;17(6):229–42. PMID: 1303516.

Peng W, Yi L, Wang Z, Yang H, Huang C. Effects of resveratrol/ethanol pretreatment on dentin bonding durability. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2020 Sep;114:111000. doi: 10.1016/j.msec.2020.111000. Epub 2020 Apr 23. PMID: 32994020.

Perdigão J, Reis A, Loguercio AD. Dentin adhesion and MMPs: A comprehensive review. J Esthet Restor Dent. 2013;25(4):219–41. doi: 10.1111/jerd.12016. PMID: 23910180.

Perdigão J. Dentin bonding-Variables related to the clinical situation and the substrate treatment. Dent Mater. 2010;26(2):24–37. doi: 10.1016/j.dental.2009.11.149. PMID: 20005565.

Pereira JC, Segala AD, Gillam DG. Effect of desensitizing agents on the hydraulic conductance of human dentin subjected to different surface pre-treatments-an in vitro study. Dent Mater. 2005;21(2):129–38. doi: 10.1016/j.dental.2004.02.007.

Perote LCCC, Kamozaki MBB, Gutierrez NC, Tay FR, Pucci CR. Effect of matrix metalloproteinase-inhibiting solutions and aging methods on dentin bond strength. J Adhes Dent. 2015;17(4):347–52. doi: 10.3290/j.jad.a34594. PMID: 26295068.

Pirmoradian M, Hooshmand T, Jafari-Semnani S, Fadavi F. Degree of conversion and microhardness of bulk-fill dental composites polymerized by LED and QTH light curing units. J Oral Biosci. 2019. doi: 10.1016/j.job.2019.12.004.

Poptani B, Gohil KS, Ganjiwale J, Shukla M. Microtensile dentin bond strength of fifth with five seventh-generation dentin bonding agents after thermocycling: an in vitro study. Contemp Clin Dent. 2012; 3(2):167–171. doi: 10.4103/0976-237X. 101079.

Porto ICCM, Nascimento TG, Oliveira JMS, Freitas PH, Haimeur A, França R. Use of polyphenols as a strategy to prevent bond degradation in the dentin-resin interface. Eur J Oral Sci. 2018 Apr;126(2):146-158. doi: 10.1111/eos.12403. Epub 2018 Jan 30. PMID: 29380895.

Raposo LHA, Armstrong SR, Maia RR, Qian F, Geraldeli S, Soares CJ. Effect of specimen gripping device, geometry and fixation method on microtensile bond strength, failure mode and stress distribution: laboratory and finite element analyses. Dent Mater. 2012;28(5). doi: 10.1016/j.dental.2012.02.010.

Rauf A, Imran M, Suleria HAR, Ahmad B, Peters DG, Mubarak MS. A comprehensive review of the health perspectives of resveratrol. Food Funct. 2017 Dec 13;8(12):4284-4305. doi: 10.1039/c7fo01300k. PMID: 29044265.

Rechmann P, Bartolome N, Kinsel R, Vaderhobli R, Rechmann BMT. Bond strength of etch-and-rinse and self-etch adhesive systems to enamel and dentin irradiated with a novel CO29.3 µm short-pulsed laser for dental restorative procedures. Lasers Med Sci. 2017;32(9):1981–93. doi: 10.1007/s10103-017-2302-y. PMID: 28812169.

Ryou H, Pashley DH, Tay FR, Arola D. A characterization of the mechanical behavior of resin-infiltrated dentin using nanoscopic dynamic mechanical analysis. Dent Mater. 2013;29(7):719–28. doi: 10.1016/j.dental.2013.03.022. PMID: 23639453.

Sadek FT, Braga RR, Muench A, Liu Y, Pashley DH, Tay FR. Ethanol wet-bonding challenges current anti-degradation strategy. J Dent Res. 2010;89(12):1499–504. doi: 10.1177/0022034510385240. PMID: 20940353.

Salehi B, Mishra AP, Nigam M, Sener B, Kilic M, Sharifi-Rad M, et al. Resveratrol: A Double-Edged Sword in Health Benefits. Biomedicines. 2018 Sep 9;6(3):91. doi: 10.3390/biomedicines6030091. PMID: 30205595; PMCID: PMC6164842.

San Miguel SM, Opperman LA, Allen EP, Zielinski J, Svoboda KKH. Bioactive polyphenol antioxidants protect oral fibroblasts from ROS-inducing agents. Arch Oral Biol. 2012;57(12):1657–67. doi: 10.1016/j.archoralbio.2012.04.021.

Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R, et al. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength - evaluation of a micro-tensile bond test. Dent Mater. 1994;10(4):236–40. doi: 10.1016/0109-5641(94)90067-1. PMID: 7664990.

Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R, et al. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength - evaluation of a micro-tensile bond test. Dent Mater. 1994;10(4):236–40. doi: 10.1016/0109-5641(94)90067-1. PMID: 7664990.

Schmalz, G., Hiller, K.A., Nunez LJ, Stoll J, Weis K. Permeability characteristics of bovine and human dentin under different pretreatment conditions. J Endod. 2001;27(1):23–30. doi: 10.1097/00004770-200101000-00007. PMID: 11487159.

Schreiner RF, Chappell RP, Glaros AG, Eick JD. Microtensile testing of dentin adhesives. Dent Mater. 1998;14(3):194–201. doi: 10.1016/S0109-5641(98)00030-X.

Shrikanta A, Kumar A, Govindaswamy V. Resveratrol content and antioxidant properties of underutilized fruits. J Food Sci Technol. 2015 Jan;52(1):383-90. doi: 10.1007/s13197-013-0993-z. Epub 2013 May 4. PMID: 25593373; PMCID: PMC4288802.

Silva EM da, Sá Rodrigues CUF de, Oliveira Matos MP de, Carvalho TR de, Santos GB dos, Amaral CM. Experimental etch-and-rinse adhesive systems containing MMP-inhibitors: physicochemical characterization and resin-dentin bonding stability. J Dent. 2015;43(12):1491–7. doi: 10.1016/J.JDENT.2015.10.004.

Silva EM, Almeida GS, Poskus LT, Guimarães JG. Relationship between the degree of conversion, solubility and salivary sorption of a hybrid and a nanofilled resin composite. J Appl Oral Sci. 2008 Mar-Apr;16(2):161-6. doi: 10.1590/s1678-77572008000200015. PMID: 19089210; PMCID: PMC4327638.

Souza G, Braga RR, Cesar PF, Lopes GC. Correlation between clinical performance and degree of conversion of resin cements: a literature review. J Appl Oral Sci. 2015 Jul-Aug;23(4):358-68. doi: 10.1590/1678-775720140524. PMID: 26398507; PMCID: PMC4560495.

Souza LC, Rodrigues NS, Cunha DA, Feitosa VP, Santiago SL, Reis A, et al Two-year clinical evaluation of a proanthocyanidins-based primer in non-carious cervical lesions: A double-blind randomized clinical trial. J Dent. 2020 May;96:103325. doi: 10.1016/j.jdent.2020.103325. Epub 2020 Mar 20. PMID: 32205201.

Spencer P, Ye Q, Park J, Topp EM, Misra A, Marangos O, et al. Adhesive/dentin interface: The weak link in the composite restoration. Ann Biomed Eng. 2010;38(6):1989–2003. doi: 10.1007/s10439-010-9969-6. PMID: 20195761.

Stenzel KH, Miyata T, Rubin AL. Collagen as a biomaterial. Annu Rev Biophys Bioeng. 1974;3(0):231-53. doi: 10.1146/annurev.bb.03.060174.001311. PMID: 4607533.

Tanumiharja M, Burrowa MF, Tyasa MJ. Microtensile bond strengths of seven dentin adhesive systems. Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. 2000;16(6):180–7. doi: 10.1016/s0109-5641(00)00007-5.

Tay FR, Gwinnett JA, Wei SH. Micromorphological spectrum from overdrying to overwetting acid-conditioned dentin in water-free acetone-based, single-bottle primer/adhesives. Dent Mater. 1996 Jul;12(4):236-44. doi: 10.1016/s0109-5641(96)80029-7. PMID: 9002841.

Tay FR, Gwinnett JA, Wei SHY. Relation between water content in acetone/alcohol-based primer and interfacial ultrastructure. J Dent. 1998;26(2):147–56. doi: 10.1016/S0300-5712(96)00090-5. PMID: 9540312.

Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Hoshika T, Uchiyama T, Tjäderhane L, Breschi L, et al. Inhibition of MMPs by alcohols. Dent Mater. 2011;27(9):926–33. doi: 10.1016/j.dental.2011.05.004. PMID: 21676453.

Tjäderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol ILS, Geraldeli S, et al. Strategies to prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer - a review. Dent Mater. 2013;29(10):999–1011. doi: 10.1016/j.dental.2013.07.016. PMID: 23953737.

Tonami K, Takahashi H, Nishimura F. Effect of frozen storage and boiling on tensile strength of bovine dentin. Dent Mater J. 1996;15(2):205–11. doi: 10.4012/dmj.15.205. PMID: 9550019.

Veis A, Schlueter RJ. The macromolecular organization of dentine matrix collagen. I. Characterization of dentine collagen. Biochemistry. 1964 Nov;3:1650-7. doi: 10.1021/bi00899a009. PMID: 14235325.

Vestergaard M, Ingmer H. Antibacterial and antifungal properties of resveratrol. Int J Antimicrob Agents. 2019 Jun;53(6):716-723. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2019.02.015. Epub 2019 Feb 27. PMID: 30825504.

Wang Y, Spencer P, Yao X, Ye Q. Effect of coinitiator and water on the photoreactivity and photopolymerization of HEMA/camphoquinone-based reactant mixtures. J Biomed Mater Res A. 2006;78(4):721–8. doi: 10.1002/jbm.a.30733. PMID: 16739171.

Yamauchi M. Collagen biochemistry: an overview In: Phillips GO. Advances in Tissue Banking. World Scientific Publishing. 2002; Vol 6: p 55. ISBN 978-9812380883

Yap AU, Teoh SH. Comparison of flexural properties of composite restoratives using the ISO and mini-flexural tests. J Oral Rehabil. 2003 Feb;30(2):171-7. doi: 10.1046/j.1365-2842.2003.01004.x. PMID: 12535144.

Yazdi FM, Moosavi H, Atai M, Zeynali M. Dentin bond strength and degree of conversion evaluation of experimental self-etch adhesive systems. J Clin Exp Dent. 2015;7(2):e243-9. doi:10.4317/jced.51842.

Yiu CK, Hiraishi N, Tay FR, King NM. Effect of chlorhexidine incorporation into dental adhesive resin on durability of resin-dentin bond. J Adhes Dent. 2012;14(4):355–62. doi: 10.3290/j.jad.a25674. PMID: 22518385.

Yu J, Zhang Z, Guo R, Peng W, Yang H, Huang C. Epigallocatechin-3-gallate/nanohydroxyapatite platform delivery approach to adhesive-dentin interface stability. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2021 Mar;122:111918. doi: 10.1016/j.msec.2021.111918. Epub 2021 Jan 29. PMID: 33641911.

Zhao Y, He X, Wang H, Wang H, Shi Z, Zhu S, Cui Z. Polyphenol-Enriched Extract of Lacquer Sap Used as a Dentine Primer with Benefits of Improving Collagen Cross-Linking and Antibacterial Functions. ACS Biomater. Sci. Eng. 2022;8:3741−3753. doi: doi.org/10.1021/acsbiomaterials.1c01287.

ANEXO – Certificado do Comitê de Ética

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

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeitos do resveratrol no pH, grau de conversão, propriedades antibacterianas e resistência de união da interface adesiva

Pesquisador: AMANDA GUEDES NOGUEIRA MATUDA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 32339520.2.0000.0077

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

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.098.623

Apresentação do Projeto:

Título: "Efeitos do resveratrol no pH, grau de conversao, propriedades antibacterianas e resistencia de uniao da interface adesiva".

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo desse estudo sera verificar os efeitos da adicao do resveratrol em sistemas adesivos, onde serao avaliados: pH, grau de conversao, propriedades antibacterianas e resistencia de uniao da interface adesiva.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Como serao utilizados dentes ja extraidos, nao havera riscos diretos aos pacientes, podendo ocorrer a perda o quebra dos mesmos quando de sua manipulacao.

Benefícios:Os resultados deste estudo inicial podem trazer inovacoes que terao relevancia clinica, com a possibilidade de patentear esse novo material.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O Projeto de Pesquisa apresenta boa fundamentação científica que dá embasamento para o desenvolvimento da Metodologia proposta. O Projeto está muito bem escrito e as informações estão bem claras e elucidadas.

Endereço: Av.Engº Francisco José Longo 777
Bairro: Jardim São Dimas **CEP:** 12.245-000
UF: SP **Município:** SAO JOSE DOS CAMPOS
Telefone: (12)3947-9078 **Fax:** (12)3947-9010 **E-mail:** ceph.ict@unesp.br