

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

MARCELO TOTTI

AVALIAÇÃO QUANTITATIVA E QUALITATIVA DA RESISTÊNCIA DE UNIÃO DE
INTERFACES ADESIVAS EM DENTINA HÍGIDA: ESTUDO *IN VITRO* SOBRE O
EFEITO DO TRATAMENTO SUPERFICIAL COM INIBIDORES DE
METALOPROTEINASES.

Porto Alegre

2012

MARCELO TOTTI

AVALIAÇÃO QUANTITATIVA E QUALITATIVA DA RESISTÊNCIA DE UNIÃO DE
INTERFACES ADESIVAS EM DENTINA HÍGIDA: ESTUDO *IN VITRO* SOBRE O
EFEITO DO TRATAMENTO SUPERFICIAL COM INIBIDORES DE
METALOPROTEINASES.

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia Da Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Cirurgião-Dentista.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Carolina
Guilherme Erhardt

Porto Alegre

2012

CIP- Catalogação na Publicação

Totti, Marcelo

Avaliação quantitativa e qualitativa da resistência de união de interfaces adesivas em dentina hígida : estudo in vitro sobre o efeito do tratamento superficial com inibidores de metaloproteinase / Marcelo Totti. – 2012.

44 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Curso de Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS, 2012.

Orientadora: Maria Carolina Guilherme Erhardt

1. Dentística operatória. 2. Adesivos dentinários. 3. Clorexidina. 4. EDTA. I. Erhardt, Maria Carolina Guilherme. II. Título.

Elaborada por Ida Rossi - CRB-10/771

A minha família pela total dedicação ao longo de toda minha vida escolar e acadêmica,

A todos demais que, com palavras de apoio e incentivo, me auxiliaram a chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

A todos aqueles professores que souberam, ao longo desses anos, ser mais do que apenas professores; aqueles que não se limitaram a ensinar a técnica, pura e simplesmente, mas sim a pensá-la e aplicá-la de maneira correta e ética; aqueles que muito mais do que mestres, tornaram-se grandes amigos, especialmente as professoras Maria Carolina Guilherme Erhardt e Thaís Thomé Feldens, pela compreensão, dedicação e amizade.

Aos pacientes sempre compreensivos e colaboradores que permitiram o aprendizado da técnica odontológica.

O único lugar aonde o sucesso vem antes do trabalho é no dicionário.

Albert Einstein

RESUMO

TOTTI, Marcelo **Avaliação quantitativa e qualitativa da resistência de união de interfaces adesivas em dentina hígida:** estudo *in vitro* sobre o efeito do tratamento superficial com inibidores de metaloproteínas. 2012. 44f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

Atualmente, as pesquisas focadas em procedimentos de união à estrutura dental estão centradas no desenvolvimento de técnicas que possam melhorar substancialmente a longevidade da interface dente-restauração através da redução da ação das metaloproteínas (MMPs). Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da utilização de substâncias inibidoras de MMPs (clorexidina e EDTA) na resistência de união e na qualidade da camada híbrida de restaurações adesivas realizadas em dentina normal, utilizando dois sistemas adesivos de condicionamento ácido total (3 e 2 passos) a base de etanol. Trinta e dois molares humanos extraídos tiveram sua porção coronária cortada e posteriormente foram divididos de maneira aleatória, em 8 grupos, cada um com 4 dentes, dependendo do pré-tratamento de superfície e do sistema adesivo utilizado. Os sistemas adesivos de condicionamento total de 2 passos Adper Single Bond 2 e de 3 passos Adper Scotchbond Multi-Usado Plus foram utilizados da seguinte maneira: 1) conforme instruções do fabricante (condicionamento com ácido fosfórico (H_3PO_4) à 37% por 15s); 2) condicionamento com H_3PO_4 por 15s, seguido de clorexidina 2% por 120 s; 3) condicionamento com EDTA 0,1 M por 60 s; 4) condicionamento com EDTA 0,1 M de seguido por clorexidina 2% por 120 s. Os dentes foram restaurados com incrementos de resina composta nanoparticulada (Filtek Z350XT). Após o armazenamento em água durante 24 h, um dente de cada grupo experimental foi seccionado em fatias de 1,0 mm, que foram individualmente polidas e desmineralizadas com H_3PO_4 por 15 s, seguido por desproteinização com hipoclorito de sódio a 2,5% por 120 s e secagem durante 24 h. As fatias foram metalizadas com uma fina película de ouro para avaliação em microscópio eletrônico de varredura (MEV). O restante dos dentes foram seccionados nos eixos x e y, originando espécimes em forma de palitos com 1,0 mm² de área adesiva. Após armazenagem em água destilada por 24 h, os mesmos foram individualmente submetidos ao teste de microtração em máquina de ensaio universal (0,5 mm/min). Os dados (em Mega Pascal) foram tabulados e submetidos aos testes estatísticos de Dunn e Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). O processo de condicionamento ácido interferiu na formação de camada híbrida, na penetração de monômeros no interior da dentina e nas forças de união. *Tags* de resina em forma de funil foram observados quando a dentina foi condicionada com ácido fosfórico a 37%. Nesses espécimes a resistência de união também foi maior. O condicionamento com EDTA produziu finas camadas híbridas e menores forças de união, independentemente do sistema adesivo utilizado. A aplicação de clorexidina após o condicionamento (ácido fosfórico a 37% ou EDTA) não resultou em diferenças evidentes entre as técnicas estudadas. A utilização de clorexidina como inibidor das MMPs não altera os valores de força de união imediatas, tampouco interfere no padrão de formação da camada híbrida.

Palavras Chave: Dentística operatória. Adesivos dentinários. Clorexidina. EDTA.

ABSTRACT

TOTTI, Marcelo **Quantitative and qualitative evaluation of the bond strength of adhesive interfaces in healthy dentine:** an in vitro study on the effect of surface treatment with inhibitors of metalloproteinases. 2012. 44f. Final paper (Graduation in Dentistry) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

Currently, the research focused on bond strengths to tooth structure are focused on developing techniques that can substantially improve the longevity of tooth-restoration interface by reducing the action of metalloproteinases (MMPs). Therefore, the objective of this study was to evaluate the use of MMPs inhibitors (chlorhexidine and EDTA) in bond strength and quality of the hybrid layer of adhesive restorations performed in normal dentin using two ethanol-based total-etch adhesive systems (3 and 2-step). Thirty-two extracted human molars were sectioned in its coronal portion and randomly divided into 8 groups with 4 teeth each, depending on the surface pre-treatment and adhesive system used. The total-etch adhesive systems Single Bond 2 (2-step) and Adper Scotchbond Multi-Purpose Plus (3-step) were used as follows: 1) according to manufacturer's instructions (etching with 37% phosphoric acid (H_3PO_4) for 15 s); 2) etching with H_3PO_4 for 15 s, followed by 2% chlorhexidine for 120 s; 3) conditioning with 0.1 M EDTA for 60 s; 4) conditioning with 0.1 M EDTA followed by 2% chlorhexidine for 120 s. The teeth were restored with composite resin increments (Filtek Z350XT). After storage in water for 24 h, one tooth from each experimental group was cut into slices of 1.0 mm which were individually polished and demineralized with H_3PO_4 for 15 s, followed by deproteinization with sodium hypochlorite at 2.5% for 120 and drying for 24 h. The slices were gold-sputtered to be then analyzed under scanning electron microscopy (SEM). The remaining teeth were sectioned in the x and y axes, yielding stick specimens with 1.0 mm² adhesive area. After storage in water for 24 h, they were individually subjected to microtensile bond strength test in a universal testing machine (0.5 mm / min). Data (in Mega Pascal) were tabulated and subjected to Kruskal-Wallis and Dunn ($p < 0.05$) statistical tests. The etching protocol interfered with hybrid layer formation, monomer penetration within dentin and the bond strengths. Funnel shaped resin tags were observed when the dentin was etched with 37% phosphoric acid. In these specimens, the bond strengths were also higher. EDTA conditioning produced thin hybrid layers and smaller union forces, regardless the adhesive system used. The application of chlorhexidine after conditioning (37% phosphoric acid or EDTA) resulted in no apparent differences between both techniques studied. The use of chlorhexidine as a MMPs inhibitor does not alter immediate bond strength values and not interfere with hybrid layer formation.

Keywords: Operative Dentistry. Dentin-Bonding agents. Chlorhexidine. EDTA

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Materiais restauradores empregados no estudo.....	18
Figura 2: Sequência de corte e polimento da porção coronária.....	20
Figura 3: Sequência de restauração e corte da porção radicular	20
Figura 4: Sequência de corte para ensaio de microtração	21
Figura 5: Corte para Microscopia Eletrônica de Varredura	23
Figura 6 – MEV dos grupos 1, 2, 3 e 4.....	28
Figura 7 – MEV dos grupos 5, 6, 7 e 8.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição dos valores de resistência de união nos grupos experimentais avaliados (valores em MPa)	25
Tabela 2 - Distribuição da porcentagem das formas de fratura dos espécimes nos grupos experimentais.....	26

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Valores da mediana da força de resistência de união	24
Gráfico 2 - Forma de fratura nos grupos experimentais	26

LISTA DE ABREVIATURAS

MMPs	Metaloproteinases
EDTA	Ácido etileno-diamino-tetraacético
H ₃ PO ₄	Ácido Fosfórico
MPa	Mega Pascal
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
COMPESQ	Comitê de Pesquisa
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
NICDR	Instituto Nacional de Pesquisa Dentária e Crânio-Facial

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	15
3	MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	16
3.2	SELEÇÃO, ARMAZENAMENTO E PREPARO DOS DENTES.....	16
3.3	PROCEDIMENTOS ADESIVOS E RESTAURADORES	17
3.4	PREPARO DOS ESPÉCIMES PARA O TESTE DE MICROTRAÇÃO	20
3.5	PREPARO DOS ESPÉCIMES PARA AVALIAÇÃO MICRO ESTRUTURAL (MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA).....	21
4	RESULTADOS	234
4.1	TESTE DE MICROTRAÇÃO	24
4.2	AVALIAÇÃO MICROESTRUTURAL	26
5	DISCUSSÃO	280
6	CONCLUSÃO	34
	REFERÊNCIAS	35
	APÊNDICE A – TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES HUMANOS	37
	APÊNDICE B – TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES HUMANOS PARA O BANCO DE DENTES DA FO-UFRGS	38
	APÊNDICE C – VALORES DE RESISTÊNCIA DE UNIÃO DE TODOS OS GRUPOS EXPERIMENTAIS	39
	ANEXO – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITE DE ÉTICA E PESQUISA	44

1 INTRODUÇÃO

Avanços profundos na Odontologia Adesiva ocorreram de maneira significativa nas duas últimas décadas (PERDIGÃO et al., 2010; VAN MEERBEEK et al., 1998). Tais avanços estão essencialmente baseados na união entre dois substratos de diferente natureza: a substância dental e o material restaurador com base adesiva. Mediante este procedimento se busca um correto padrão de retenção micromecânica e química entre ambos os substratos, o histológico previamente desmineralizado e o adesivo, geralmente polímero, convertido ao estado sólido após um processo de polimerização (NAKABAYASHI; PASHLEY, 1998).

No entanto, consequências indesejáveis (tais como cáries recorrentes e descoloração marginal) são normalmente encontradas em restaurações de resina composta após algum tempo em função na cavidade bucal (ARMSTRONG et al., 2001). O componente histológico dental mais crítico dos processos de união é a dentina, devido às suas características específicas de heterogeneidade (colágeno e hidroxiapatita), umidade e histomorfologia (túbulos dentinários que possuem prolongamentos odontoblásticos). (BALOOCH et al., 2008).

Defeitos na infiltração de monômeros resinosos e/ou incompleta polimerização destes podem criar defeitos na camada adesiva que resultam no surgimento de zonas de dentina desmineralizada com colágeno exposto (HASHIMOTO et al., 2002). Esta zona é resultado de uma discrepância entre a profundidade de desmineralização promovida pelo condicionamento ácido e a profundidade de penetração dos monômeros resinosos (SANO et al., 1994). Teoricamente, esta zona existe no limite entre a camada híbrida e a dentina mineralizada, não condicionada. A manifestação morfológica desta zona consiste em fibrilas colágenas expostas, rodeadas de por nanoespaços interfibrilares preenchidos por água (SANO et al., 1994; DUNDAR et al., 2011).

A água que rodeia este colágeno não infiltrado favorece a ação de enzimas proteolíticas do tipo metaloproteinases (MMPs) da matriz dentinária, que hidrolisam ativamente o substrato protéico (BIRKEDAL-HANSEN et al., 1993). Estas colagenases estão presentes na matriz colágena, exercendo sua ação em presença de inibidores bacterianos, o que nos leva a concluir que a destruição do colágeno pode ser via endógena (PASHLEY et al 2004). A degradação *in situ* do colágeno dentro da camada híbrida insuficientemente infiltrada pode afetar adversamente o potencial remineralizador das fibras de colágeno expostas (BRESCHI et al., 2009).

Atualmente, as pesquisas focadas em procedimentos de união à estrutura dental estão centradas no desenvolvimento de técnicas que possam melhorar substancialmente a longevidade da interface dente-restauração através da redução da ação das MMPs (CARRILHO et al., 2007; BRESCHI et al., 2010; BRESCHI et al., 2009; ERHARDT et al., 2008; YIU et al., 2012). Estas enzimas pertencem à família das enzimas proteolíticas Zn/Ca-dependentes e são capazes de degradar a matriz orgânica dentinária após a desmineralização (TJÄDERHANE et al., 1998). As enzimas com capacidade gelatinolítica que fundamentalmente aparecem na matriz dentinária e nas lesões de cárie são as MMP-2, -8 -9 e -20 (GENDRON et al., 1998). Essas endoproteases têm a capacidade de degradar praticamente todos os componentes da matriz extracelular dos tecidos conectivos e, no interior da cavidade oral, têm um importante papel na progressão das doenças cárie e periodontal (BRESCHI et al., 2009). Estas podem ser ativadas em ambientes com pH baixo, e podem ser inibidas *in situ* por inibidores titulares das metaloproteinasas, como o TIM-1 e TIM-2 (GAULTIER et al., 2003; CARRILHO et al., 2007a, 2007b).

O ácido fosfórico a 37%, o mais comum dos condicionadores dentinários (pH= 0,17), diminui a atividade gelatinolítica da dentina, por isso especula-se que a degradação da matriz dentinária desmineralizada após o condicionamento ácido seja devido às enzimas presentes na matriz mineral subjacente à zona de interdifusão (PASHLEY et al., 2004). Por outra parte, os adesivos dentinários baseados na técnica de condicionamento total são capazes de reativar as MMPs endógenas presentes na dentina condicionada, submetendo as fibras de colágeno ao processo de degradação proteolítica após os primeiros meses da execução dos procedimentos adesivos (TOLEDANO et al., 2007).

Comprovou-se que valores de pH entre 2,3 e 5 são efetivos na ativação das gelatinas salivares em um processo descrito como ativação ácida (CARRILHO et al., 2007a, 2007b). Desta maneira, a existência de atividade proteolítica após a aplicação de um adesivo padrão (pH= 4,3) baseado na técnica de condicionamento ácido total, de dois passos, pode explicar-se pelo aumento da ativação destas MMPs, o que representa uma diminuição da eficácia adesiva destes biomateriais (BRESCHI et al., 2009). Não obstante, a capacidade proteolítica diminuída destas enzimas é capaz de reativar-se através de um processo de autoativação cíclica a partir de proenzimas adicionais. Sendo assim, os inibidores titulares das MMPs podem, de igual maneira, perder atividade com o tempo (NISHITANI et al., 2006).

Os inibidores de enzimas proteolíticas previnem a degradação das fibras expostas de colágeno. O ácido etileno-diamino-tetraacético (EDTA) é um potente inibidor das MMPs, pois é capaz de removê-las e neutralizá-las (PASHLEY et al., 2004). Além disso, este ácido

não desmineraliza a fibra de colágeno em profundidade, como normalmente observado para o ácido fosfórico, mas somente dissolve o cálcio extrafibrilar (respeitando o intrafibrilar e sua consequente função de suporte ou extensor da proteína) permitindo sua total infiltração pela resina adesiva, que ao recobri-la protege da ação colagenolítica das MMPs da matriz dentinária (MAZZONI et al., 2009).

Por outra parte, outros estudos comprovaram que a clorexidina também tem propriedades inibitórias das MMPs, mesmo em baixas concentrações (GENDRON et al., 1999). A clorexidina é um agente antimicrobiano de amplo espectro comumente utilizado no tratamento de doenças orais. As propriedades inibidoras de MMPs (principalmente as -2, -8 e -9) são possivelmente resultantes de sua propriedade quelante zinco-dependente (GENDRON et al., 1999). Em estudo *in vivo*, (CARRILHO et al., 2007), mostraram, através de 2 períodos de tempo (extração imediata e extração após 14 meses), que a clorexidina não interfere na formação da camada híbrida, quando aplicada após o condicionamento ácido, e que ao longo do tempo foi capaz de manter estável a força de união, sugerindo, assim, que possa ser utilizada para retardar a degradação da camada híbrida. A concentração mínima de clorexidina necessária para a completa inibição das MMPs parece ser de 0,002% (BIRKEDAL-HANSEN et al., 1993). Apesar de a clorexidina ter se tornado um dos mais populares inibidores de MMPs na prevenção da degradação das interfaces adesivas dentinárias (ERHARDT et al., 2008), pouco se sabe sobre sua interação com o EDTA quando usado como agente de condicionamento ácido da dentina.

Recentemente, tem-se discutido na literatura o efeito da incorporação de clorexidina na formulação do sistema adesivo. Yiu et al. (2012) testaram adesivos experimentais com clorexidina e observaram que a clorexidina foi capaz de aumentar o pH dos adesivos, sem alterar a força de união imediata entre resina composta e dentina. Após 12 meses de armazenamento, no entanto, o adesivo contendo clorexidina apresentou maior força de união do que aquele que não continha mostrando que a incorporação de 2% de clorexidina em adesivos hidrofílicos tem potencial de reduzir a degradação do colágeno presente no interior da camada híbrida.

2 OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da utilização de substâncias inibidoras de MMPs (clorexidina e EDTA) na resistência de união e na qualidade da camada híbrida de restaurações adesivas realizadas em dentina normal, utilizando dois sistemas adesivos de condicionamento ácido total (3 e 2 passos) a base de etanol.

A hipótese nula testada é a de que a utilização destes inibidores de MMPs não diminui as forças de união imediatas se comparadas àquelas obtidas com os sistemas adesivos aplicados de acordo com as normas dos fabricantes.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os fatores em estudo deste estudo *in vitro* foram o tratamento de superfície dentinária, em quatro níveis (Ácido Fosfórico (H_3PO_4); H_3PO_4 + clorexidina 2%; EDTA 0,1 M e EDTA 0,1M + clorexidina 2%), e sistema adesivo, em dois níveis (Adper Scotchbond Multi-Usso Plus (3M ESPE Dental Products Division St. Paul, MN, Estados Unidos) e Adper Single Bond 2 (3M ESPE Dental Products Division St. Paul, MN, Estados Unidos)).

As unidades experimentais foram constituídas por 32 molares humanos hígidos, totalizando oito grupos experimentais com média de 24 repetições (espécimes em forma de palito) por grupo, fornecendo 196 análises. A variável de resposta, resistência de união, em MPa (Mega Pascal) foi avaliada quantitativamente, através de ensaios de microtração e qualitativamente através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A análise estatística foi realizada através dos testes Kruskal Wallis e Dunn ($P \leq 0,05$).

3.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O presente foi devidamente aprovado pela COMPESQ (Comitê de Pesquisa) e CEP (Comitê de Ética e Pesquisa) da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) (Anexo).

No presente trabalho foram empregados materiais comercializados no mercado odontológico nacional e internacional, que mostraram bom desempenho em estudos laboratoriais, não havendo relatos na literatura de efeitos colaterais ou de comprometimento de áreas laboratoriais.

Os dentes utilizados neste projeto foram obtidos através do Banco de Dentes da UFRGS e através de doações realizadas por Cirurgiões-Dentistas, previamente à assinatura de termo de doação de dentes por parte do paciente (Apêndice A) e por parte do próprio Cirurgião-Dentista (Apêndice B).

3.2 SELEÇÃO, ARMAZENAMENTO E PREPARO DOS DENTES

Foram selecionados 32 molares humanos hígidos, recém-extraídos, que foram posteriormente armazenados em suspensão de timol a 0,1% (em peso) para desinfecção, a uma temperatura de 5 ± 1 °C, até o momento de sua utilização.

O tamanho da amostra necessária para o estudo foi calculado com base em uma tese realizada por Vanessa Gallego Arias para obtenção de Doutorado em Clínica Odontológica (Área de Dentística) pela FOP-UNICAMP em 2007, intitulada “Determinação do número de

dentes, palitos e influencia da localização dos palitos na dentina para o ensaio de microtração”. Os objetivos deste trabalho foram determinar o número ótimo de dentes (tamanho da amostra), número de palitos (tamanho da parcela) e a influência da localização dos palitos na dentina para o ensaio de microtração. Os resultados demonstraram que o número mínimo de dentes foi de 6 por grupo experimental com mínimo de 7 palitos por dente, utilizando os palitos centrais da área de união (ARIAS, 2007)

Os dentes foram limpos manualmente com curetas periodontais e, em seguida, polidos em baixa rotação (Kavo do Brasil S.A. Ind. e Com., Joinville, SC, Brasil) com taça de borracha embebida em mistura de pedra pomes (SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e água.

O esmalte oclusal foi removido, através de corte perpendicular ao longo eixo dental, com um disco diamantado de dupla face (Medical Burs Ind. e Com. de Pontas e Brocas Cirúrgicas Ltda.), na altura da junção amelo-dentinária. Após a exposição da superfície dentinária, a face oclusal de cada dente foi polida com lixas de carbetto de silício (Saint-Gobain Abrasivos LTDA.) acopladas em politriz mecânica (APL-4, AROTEC S.A.), sob constante irrigação à água. Foram utilizadas lixas de granulação decrescente, partindo da granulação 150, passando pelas granulações 320, 400 e 600.

3.3 PROCEDIMENTOS ADESIVOS E RESTAURADORES

As amostras foram inicialmente aleatorizadas em quatro grupos, de acordo com os seguintes tratamentos:

H₃PO₄ - A área de análise de cada amostra foi condicionada com ácido fosfórico a 37% durante 15 s, lavada por 15 s e secada com papel absorvente.

H₃PO₄ + clorexidina 2% - A área de análise de cada amostra foi condicionada com ácido fosfórico a 37% durante 15 s e lavada por 15 s. A solução de clorexidina a 2% foi aplicada por 120 s de maneira ativa, e posteriormente secada com papel absorvente por 15 s.

EDTA 0,1 M - A área de análise de cada amostra foi condicionada com EDTA 0,1 M durante 60 s, lavada por 15 s e secada com papel absorvente.

EDTA 0,1 M + clorexidina 2% - A área de análise de cada amostra foi condicionada com EDTA 0,1 M durante 60 s e lavada por 15 s. A solução de clorexidina a 2% foi aplicada por 120 s de maneira ativa, e posteriormente secada com papel absorvente por 15 s.

Os dentes tratados foram aleatoriamente formados (n=4), baseando-se nos dois sistemas adesivos (Quadro 1) – que foram aplicados segundo as recomendações do fabricante.

A resina composta Filtek Z350XT (3M Dental Products Division, St. Paul, MN, Estados Unidos) foi inserida em 3 incrementos de 2 mm sobre a superfície previamente tratada, sendo cada incremento fotoativado por 40 segundos com o aparelho Optilight Max, (Gnatus Equipamentos Médico-Odontológicos Ltda.) que teve sua potência aferida previamente a confecção das restaurações, formando uma restauração em platô na corção coronária. Os dentes tiveram então sua porção radicular seccionada com disco diamantado de dupla face (Medical Burs Ind. e Com. de Pontas e Brocas Cirúrgicas Ltda.) com a câmara pulpar sendo restaurada com resina composta Filtek Z350XT (3M Dental Products Division, St. Paul, MN, Estados Unidos).

Figura 1 – Materiais restauradores empregados no estudo



1- Solução de clorexidina a 2%; 2- Solução de EDTA 0,1M; 3A- Adesivo do Sistema Adesivo Scotchbond Multi-Use Plus; 3B - Primer do sistema adesivo Scotchbond Multi-Use Plus; 4- Sistema Adesivo Adper Single Bond 2; 5- Condac 37 (ácido fosfórico 37%); 6- Resina Composta Filtek Z350 XT

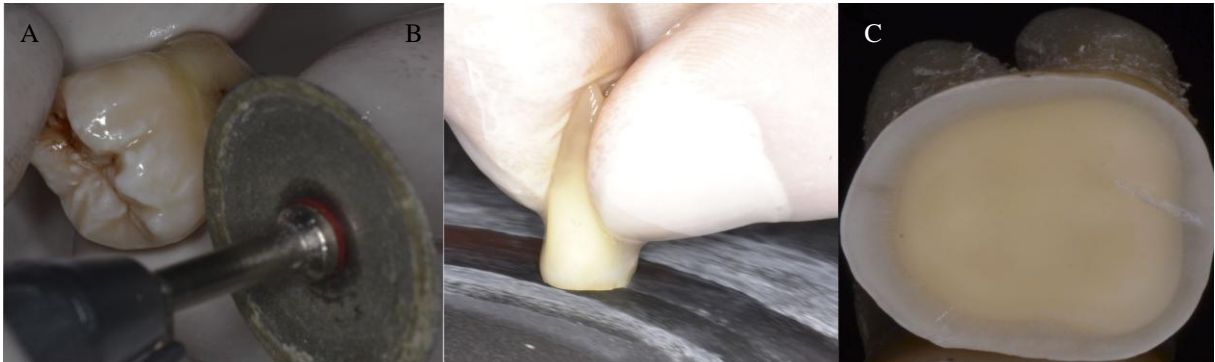
Fonte: do autor

Quadro 1. Materiais restauradores a serem utilizados no presente estudo

Material	Composição	Fabricante	Modo de aplicação
EDTA	Ácido etilenaminotetracético 0,1M	Demogral Farmácia de Manipulação, Porto Alegre, RS, Brasil	Fricção por 60 s e lavagem com água por 15 s
Clorexidina 2%	Solução de digluconato de clorexidina 2%	Demogral Farmácia de Manipulação, Porto Alegre, RS, Brasil	Aplicação por 120 s e secagem com papel absorvente
Condac 37% Lote: 200410 Validade: 04/2012	Ácido fosfórico 37%, espessante, corante, água deionizada	FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil	Condicionamento por 15 s, lavagem por 15 s e leve secagem com papel absorvente
Filtek Z350 Lote: N185671 Validade: 05/2013	BIS-GMA, BIS-EMA, UDMA,TEGDMA, sílica, zircônia/sílica	3M ESPE Dental Products Division St. Paul, MN, Estados Unidos	Aplicação de incrementos com 2 mm de espessura fotoativados por 40 s
Adper Scotchbond Multi-Usso Plus	Primer: HEMA, copolímero do ácido polialcenóico Lote: N239896 Validade: 01/2014	3M ESPE Dental Products Division St. Paul, MN, Estados Unidos	Aplicação do <i>Primer</i> por 10 s, evaporação do solvente com jato de ar por 2 s. Aplicação de duas camadas consecutivas do <i>Adesivo</i> , evaporação do solvente com jato de ar por 2 s, fotoativação por 20 s
	Adesivo: Bis-GMA, HEMA, canforoquinona Lote: N264448 Validade: 03/2013		
Adper Single Bond 2 Lote: N263397 Validade: 04/2014	Bis-GMA, copolímero polialcenóico, HEMA, álcool, água	3M ESPE Dental Products Division St. Paul, MN, Estados Unidos	Aplicação de duas camadas consecutivas do adesivo, evaporação do solvente com jato de ar por 2 s, fotoativação por 10s

Fonte: do autor

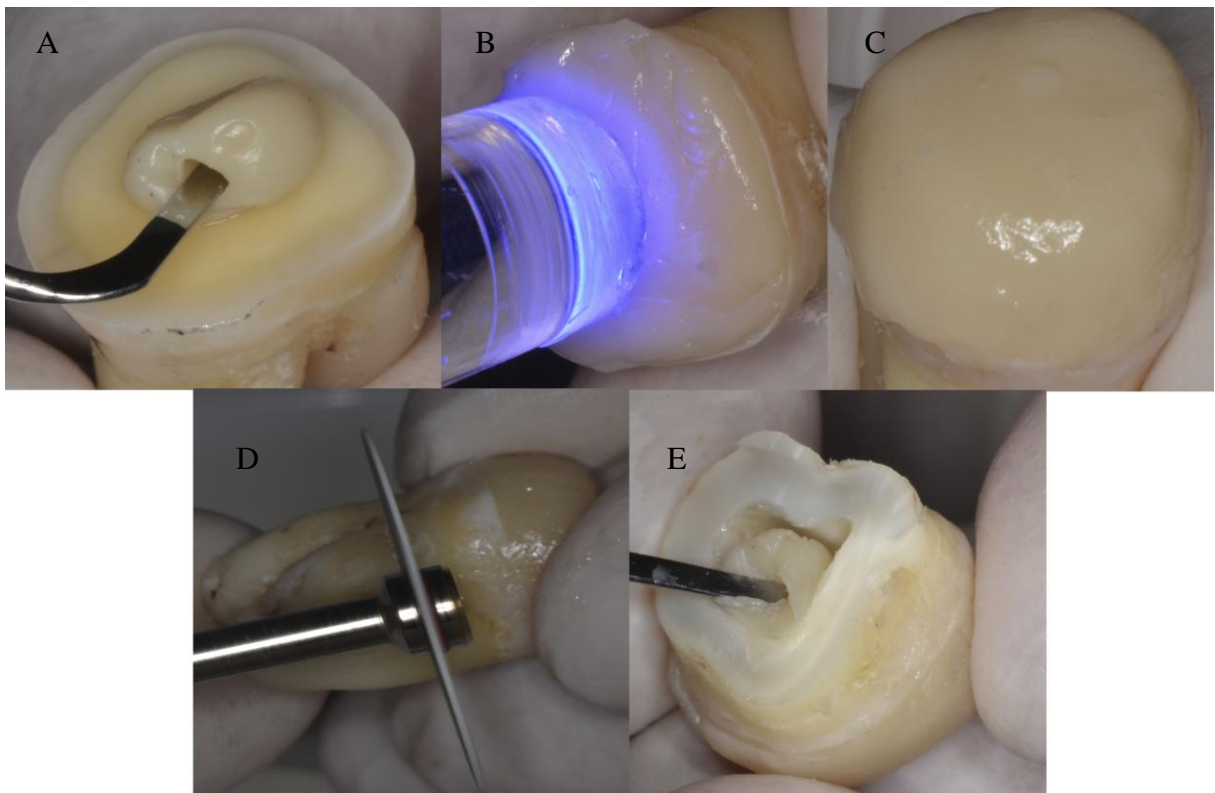
Figura 2 – Sequência de corte e polimento da porção coronária



A – Corte com disco diamantado de dupla face; B – Polimento em lixadeira; C – Aspecto final pós polimento

Fonte: do autor

Figura 3 – Sequência de restauração e corte da porção radicular



A – Inserção de incremento de resina composta com 2 mm; B – Fotopolimerização de incremento de resina composta; C – Aspecto final de restauração em platô; D – Corte da porção radicular; E – Restauração da câmara pulpar.

Fonte: do autor

3.4 PREPARO DOS ESPÉCIMES PARA O TESTE DE MICROTRAÇÃO

Terminada a etapa restauradora, os dentes foram fixados em uma placa acrílica com cera pegajosa (KOTA Ind. e Com. LTDA, São Paulo, SP, Brasil), paralelos ao longo seu eixo, para serem adaptadas à cortadeira metalográfica (EXTEC ® Labcut 1010 - Low Speed Diamond Saw, Extec Corp., Enfield, CT, Estados Unidos.). Secções seriadas com espessura de 1,0 mm foram realizadas através de um disco diamantado de alta concentração (Extec

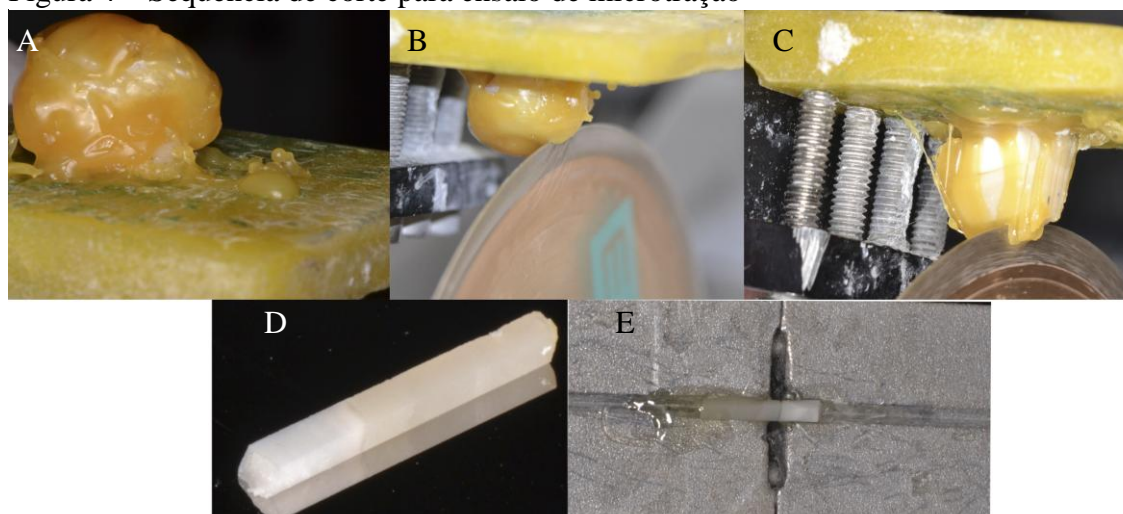
12235, Extec Corp., Enfield, CT, Estados Unidos), sob irrigação constante com água destilada. Em seguida, a base dos espécimes foi rotada em 90 graus, para que se realizassem novas secções seriadas com espessura de 1,0 mm, sob irrigação constante com água destilada, para a obtenção de vários espécimes em forma de palitos com uma área adesiva de aproximadamente 1,0 mm².

Os espécimes selecionados tiveram a área da interface adesiva mensurada com paquímetro digital (Mitutoyo MDC Lite 293, Mitutoyo Sul Americana São Paulo, SP, Brasil), e foram individualmente afixados às matrizes ao dispositivo de microtração (Odeme Equipamentos Médico e Odontológicos LTDA, Joaçaba, SC, Brasil), em máquina de ensaio universal (EMIC DL500, EMIC LTDA, São José dos Pinhais, PR, Brasil), com um adesivo à base de cianoacrilato (Super Bonder, Henkel Loctite Adesivos LTDA, Itapevi, SP, Brasil) pelas suas extremidades, de modo a posicionar a área de adesão perpendicularmente ao longo eixo da força de tração.

Os testes foram realizados com velocidade constante de 0,5 mm/min. Os valores máximos da força de tração, em quilograma-força (kgf), foram registrados no momento da fratura, logo após o término dos movimentos da máquina de ensaio. Os dados foram coletados para posterior cálculo da força de união, com valores finais expressos em MPa.

Após a realização dos testes de microtração, cada espécime foi observado em microscópio óptico (SZ 51 Olympus Optical do Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil.) para a definição do padrão de fratura em 1) coesiva em resina composta, 2) coesiva em dentina, 3) mistas em resina composta e dentina e 4) adesiva.

Figura 4 – Sequência de corte para ensaio de microtração



A – Fixação do dente em placa acrílica com cera pegajosa; B – Primeira secção em fatias de 1 mm de espessura; C – Segunda secção com dente rotacionado em 90 graus; D – Palito obtido através dos cortes E – Fixação do palito no GIG do dispositivo de microtração.

Fonte: do autor

3.5 PREPARO DOS ESPÉCIMES PARA AVALIAÇÃO MICRO ESTRUTURAL (MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA)

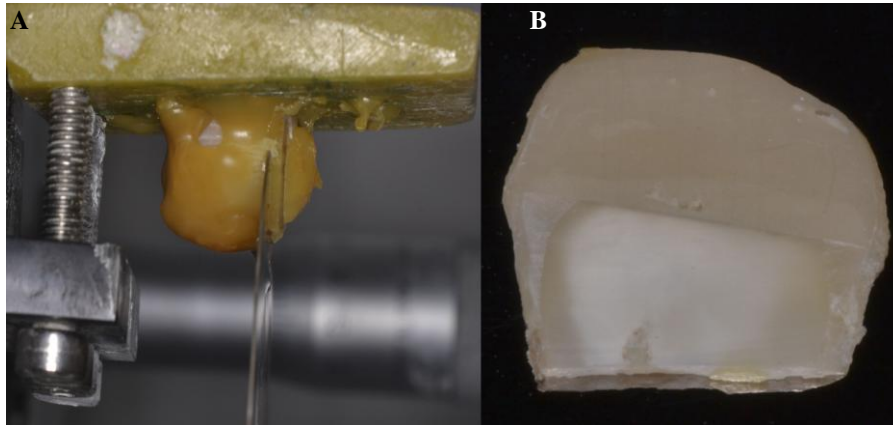
Terminada a etapa restauradora, um espécime de cada grupo experimental (conjunto dente-restauração) foi separado e fixado em placa acrílica com cera pegajosa (KOTA Ind. e Com. LTDA, São Paulo, SP, Brasil) perpendicularmente ao seu longo eixo para serem adaptadas à cortadeira metalográfica (EXTEC ® Labcut 1010 - Low Speed Diamond Saw, Extec Corp., Enfield, CT, Estados Unidos.). Secções seriadas foram realizadas através de um disco diamantado de alta concentração (Extec 12235, Extec Corp., Enfield, CT, Estados Unidos), sob irrigação constante com água destilada, originando fatias de aproximadamente 1 mm de espessura.

Os espécimes já seccionados foram polidos manualmente com lixas d'água de granulação decrescente (Saint-Gobain Abrasivos Ltda., Jundiaí, SP, Brasil) com movimentos circulares, sob constante irrigação com água destilada, para manter a superfície o mais plana possível. Após o polimento os espécimes foram lavados e condicionados com ácido fosfórico (H_3PO_4) por 15 s, lavados com água destilada por 15 s, e secos com papel absorvente. Em seguida os espécimes receberam tratamento desproteinizante com solução de hipoclorito de sódio à 1% (líquido de Milton) por 120 s, lavados com água destilada por 15 s e secos com papel absorvente.

Após o preparo os espécimes foram afixados em *stubs* e acondicionados por 24 horas em uma estufa de cultura para a secagem e, após esse período de tempo, foram levados a um metalizador (Med 10, Balzers Liechtenstein) para aplicação de uma delgada película de ouro a fim de se realizar a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para a análise da camada híbrida dos diferentes tratamentos de superfície realizados.

As amostras foram analisadas em MEV (JEOL JSM 5600LV, JEOL, Japão) e fotomicrografias foram obtidas das regiões mais expressivas da camada híbrida com um aumento de 1000, 1500, 2000, 2500 e 4000 vezes.

Figura 5 – Corte para Microscopia Eletrônica de Varredura



A – Corte do dente em fatias de 1 mm de espessura; B – Fatia após polimento.
Fonte: do autor

4 RESULTADOS

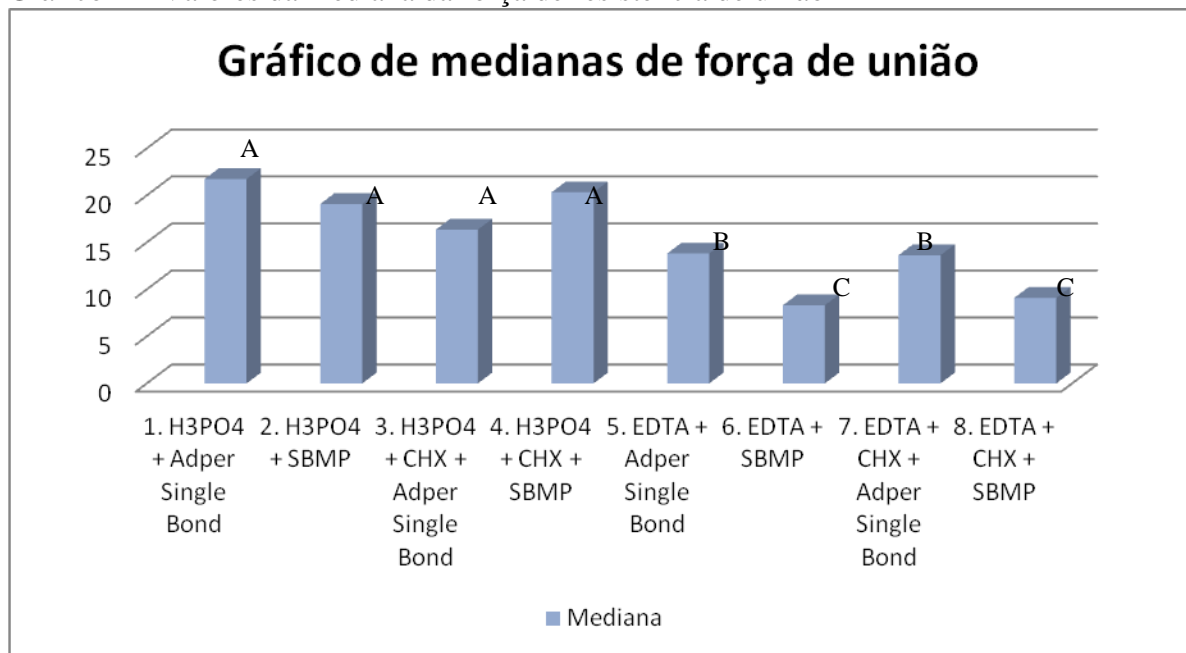
Os resultados desse estudo foram subdivididos em 2 itens: teste de microtração e avaliação estrutural.

4.1 TESTE DE MICROTRAÇÃO

Os valores de resistência de união de todos os grupos experimentais encontram-se detalhados no Apêndice C.

A Tabela 1 ilustra os resultados de resistência de união (em MPa) obtidos após o teste de microtração para cada grupo experimental. Em função da distribuição não-normal dos dados, foi feita análise não-paramétrica utilizando os testes estatísticos Kruskal-Wallis ($p < 0,001$), seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn.

Gráfico 1 – Valores da mediana da força de resistência de união



- Letras iguais representam grupos sem diferença estatisticamente significativa ($P \leq 0,05$)

Tabela 1 - Distribuição dos valores de resistência de união nos grupos experimentais avaliados (valores em MPa).

GRUPOS	N	Mediana	25%	75%	Dunn (5%)
1. H₃PO₄ + Adper Single Bond	20	21,74	16,64	26,57	A
2. H₃PO₄ + SBMP	20	19,09	14,35	24,13	A
3. H₃PO₄ + CHX + Adper Single Bond	20	16,36	13,86	23,96	A
4. H₃PO₄ + CHX + SBMP	20	20,33	16,10	25,93	A
5. EDTA + Adper Single Bond	20	13,82	13,03	20,79	B
6. EDTA + SBMP	20	8,31	6,87	10,34	C
7. EDTA + CHX + Adper Single Bond	17	13,64	11,20	20,05	B
8. EDTA + CHX + SBMP	18	9,09	7,71	12,22	C

- Letras iguais representam grupos sem diferença estatisticamente significativa ($P \leq 0,05$)

Os maiores valores de resistência de união foram obtidos pelos grupos 1, 2, 3 e 4, não apresentando diferenças estatisticamente significativas entre si. Todos estes grupos receberam condicionamento ácido com H₃PO₄. Por sua vez, os grupos 5, 6, 7 e 8 - que foram condicionados com EDTA - apresentaram valores de resistência de união estatisticamente inferiores aos grupos condicionados com H₃PO₄.

A aplicação da clorexidina não interferiu nos valores de resistência de união, independentemente do método de condicionamento utilizado: ácido fosfórico ou EDTA, para ambos sistemas adesivos testados.

A Tabela 2 mostra a divisão dos padrões de fratura nos diferentes grupos experimentais. Pode-se observar que a grande maioria dos espécimes em todos os grupos apresentou padrão de fratura mista, sendo que o padrão menos apresentado de fratura foi à falha adesiva.

Gráfico 2 - Forma de fratura nos grupos experimentais

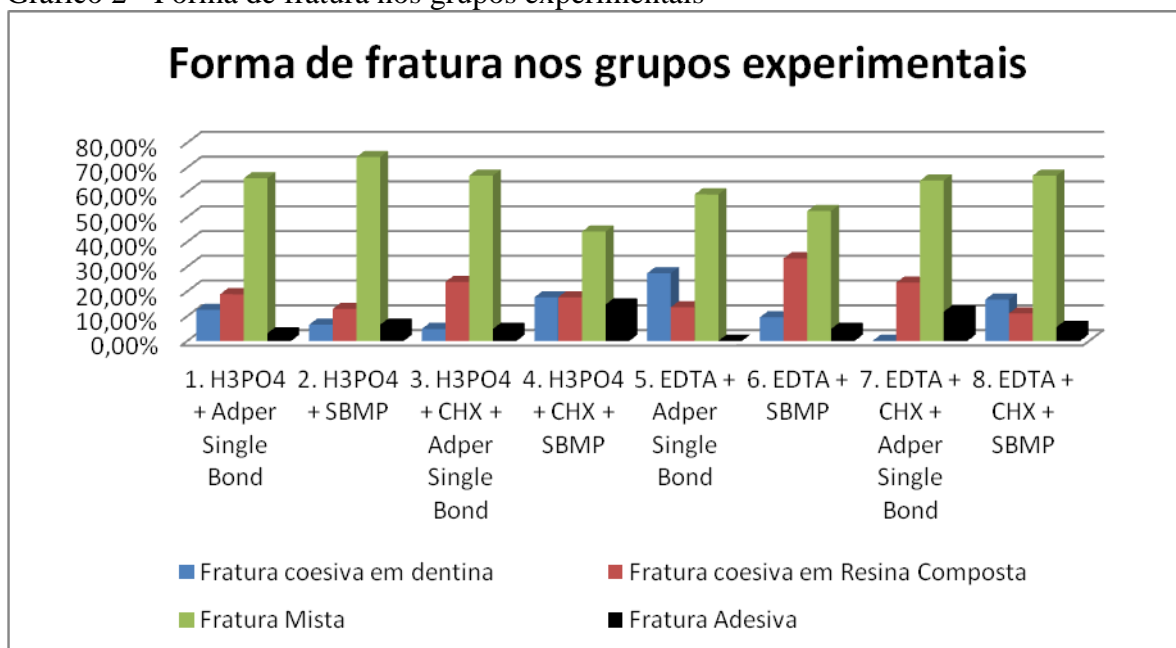


Tabela 2 - Distribuição da porcentagem das formas de fratura dos espécimes nos grupos experimentais.

GRUPOS	CD	CR	M	A
1. H₃PO₄ + Adper Single Bond	12,5%	18,8%	65,6%	3,1%
2. H₃PO₄ + SBMP	6,5%	12,9%	74,2%	6,5%
3. H₃PO₄ + CHX + Adper Single Bond	4,8%	23,8%	66,7%	4,8%
4. H₃PO₄ + CHX + SBMP	17,6%	17,6%	44,1%	14,7%
5. EDTA + Adper Single Bond	27,3%	13,6%	59,1%	0,0%
6. EDTA + SBMP	9,5%	33,3%	52,4%	4,8%
7. EDTA + CHX + Adper Single Bond	0,0%	23,5%	64,7%	11,8%
8. EDTA + CHX + SBMP	16,7%	11,1%	66,7%	5,6%

- CD: fratura coesiva em dentina; CR: fratura coesiva em resina composta; M: fratura mista; e A: fratura adesiva.

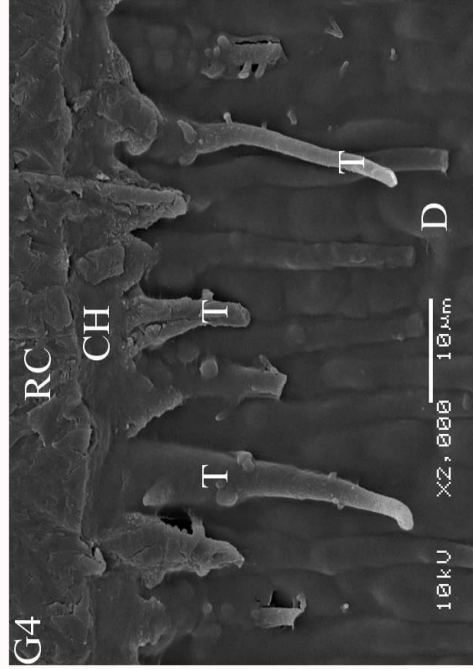
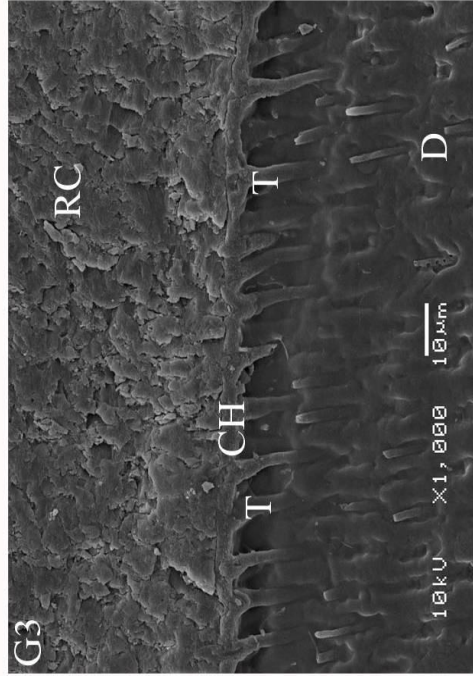
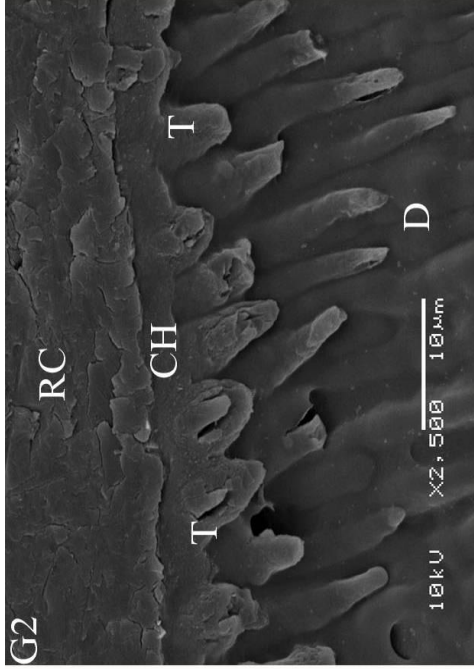
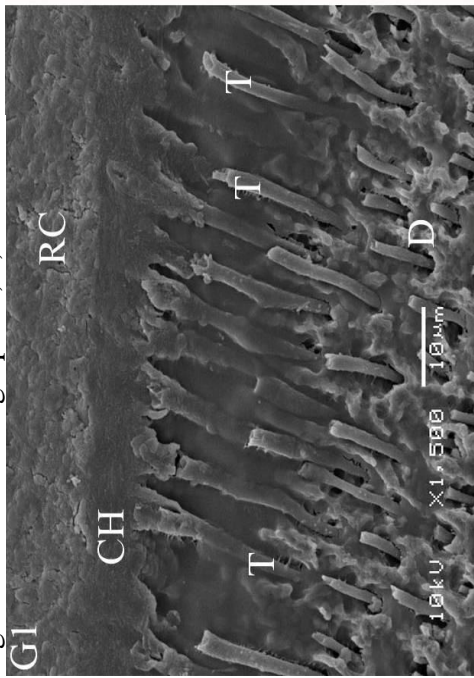
4.2 AVALIAÇÃO MICROESTRUTURAL

Nos grupos experimentais tratados com ácido fosfórico (1, 2, 3, e 4) (Fig. 2) foi obtida uma camada híbrida espessa, homogênea e com boa interação com o tecido dentinário, além de grande penetração de resina composta no interior dos túbulos dentinários. Em contrapartida, nos grupos experimentais tratados com EDTA (5, 6, 7 e 8) (Fig. 3), tanto a

espessura da camada híbrida, sua qualidade e integração com o tecido dental, como a penetração de resina composta no interior dos túbulos dentinários foram muito mais discretas.

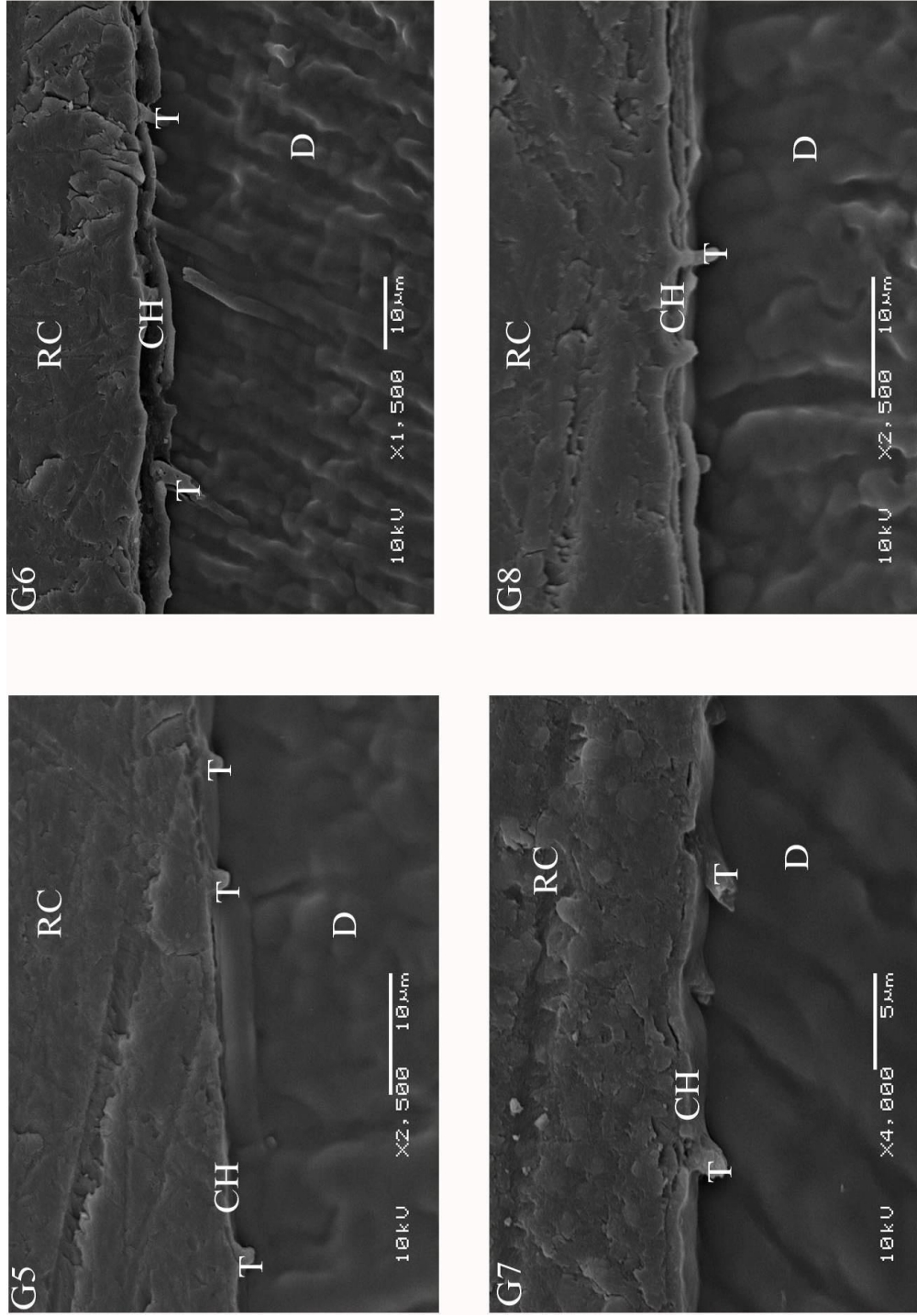
A comparação entre os grupos mostra, também, que independentemente do sistema adesivo utilizado, a camada híbrida e a penetração de *tags* de resina é maior naqueles grupos em que foi utilizado ácido fosfórico 35% como agente condicionador. Também é possível observar nessas imagens que o uso de clorexidina não influi na espessura da camada híbrida e na penetração de resina composta no interior dos túbulos dentinários, confirmam que o padrão de formação de espessura de camada híbrida e de penetração de *tags* de resina é claramente determinado pelo ataque ácido utilizado.

Figura 6 – MEV dos grupos 1, 2, 3 e 4



Comparação entre os grupos condicionados com H3PO4 (1, 2, 3 e 4). Obtenção de camada híbrida espessa (CH), boa penetração de *tags* (T) em dentina (D). Grupo 1 (G1), grupo 2 (G2), grupo 3 (G3) e grupo 4 (G4).

Figura 7 – MEV dos grupos 5, 6, 7 e 8



Comparação entre os grupos condicionados com EDTA (5, 6, 7 e 8). Obtenção de camada híbrida delgada (CH), pouca penetração de tags (T) em dentina (D). Grupo 5 (G5), grupo 6 (G6), grupo 7 (G7) e grupo 8 (G8).

5 DISCUSSÃO

A perda de restaurações ao longo do tempo é um problema de saúde pública. Nos Estados Unidos, o Instituto Nacional de Pesquisa Dentária e Crânio-Facial (NICDR) divulgou que o tempo médio de troca de restaurações é de apenas 5,7 anos e o custo desses procedimentos é de aproximadamente 5 bilhões de dólares por ano (LIU et al., 2011). Trabalhos de pesquisa que busquem colaborar com avanços na Odontologia Restauradora visando que essas restaurações permaneçam em boca por maior período de tempo são fundamentais para reverter este quadro. Dentro desse contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da utilização de substâncias inibidoras de MMPs (clorexidina e EDTA) na resistência de união e na qualidade da camada híbrida de restaurações adesivas realizadas em dentina normal, utilizando dois sistemas adesivos de condicionamento ácido total (3 e 2 passos) a base de etanol. A hipótese nula desse estudo foi refutada para o uso do EDTA previamente as etapas adesivas, visto que seu uso diminuiu a força de união imediata entre material restaurador e tecido dentário; já para a clorexidina a hipótese nula foi confirmada, pois o seu uso, previamente as etapas adesivas, não alterou a força de união imediata entre os substratos.

Com respeito à utilização de clorexidina previamente a aplicação de adesivo, podemos verificar pelos resultados obtidos no presente estudo que o seu uso não alterou os valores de resistência de união, sendo esta alterada quando se modificou o protocolo de condicionamento ácido. A aplicação de clorexidina não modificou, em nenhum dos grupos testados, a força de união entre material restaurador e elemento dentário, estando de acordo com os resultados apresentados por (CARRILHO et al., 2007; BRESCHI et al., 2010; BRESCHI et al., 2009; ERHARDT et al., 2008; YIU et al., 2012).

As imagens obtidas através de MEV (Figs. 2 e 3) sugerem não haver modificação nas forças de união imediatas entre dente e compósito – quando o uso de clorexidina é feito previamente ao protocolo adesivo de restaurações diretas – uma vez que a formação de *tags* de resina e o padrão de espessura de camada híbrida não são alterados devido a aplicação ou não de clorexidina, apenas se alteram quando se altera o ataque ácido utilizado.

A clorexidina é capaz de inibir a ação de MMPs através de um mecanismo quelante, acredita-se que o período de tempo de aplicação de 30 segundos seja capaz de impregnar as fibras colágenas de clorexidina para que essa inibição seja eficaz (BRESCHI et al., 2009). Ainda que essa relação de inativação dessas enzimas pela clorexidina necessite ser mais bem elucidada, ela parece ser uma das chaves para se conquistar uma melhora efetiva na

durabilidade da união entre compósito e elemento dentário, através da preservação da camada híbrida e consequente estabilidade da força de união (BRESCHI et al., 2010).

Diversos estudos mostram que a aplicação de clorexidina, previamente a aplicação do adesivo e após a aplicação de ácido fosfórico, parece ser efetiva em reduzir a perda de força de união entre dente e material restaurador ao longo do tempo (CARRILHO et al., 2007; BRESCHI et al., 2010; BRESCHI et al., 2009; ERHARDT et al., 2008; YIU et al., 2012). Carrilho et al (2007), defende a utilização de clorexidina como um primer do sistema adesivo que não deve ser lavado, pois assim as fibras colágenas expostas devido a aplicação de ácido ficam impregnadas por clorexidina e são posteriormente seladas pelo compósito. Esse selamento pode permitir que a clorexidina permaneça ali retida por mais tempo e assim prossiga inativando a ação das MMPs ao longo do tempo (CARRILHO et al., 2007).

O ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) é outro potente inibidor de metaloproteinases (ERHARDT et al., 2008). Alguns estudos testaram o condicionamento ácido com EDTA ao invés de utilizar ácido fosfórico (JACQUES; HEBLING, 2005; OSORIO et al., 2005; ERHARDT et al., 2008), pois o EDTA é capaz de remover a hidroxiapatita sem, no entanto, causar danos estruturais à matriz colágena(JACQUES; HEBLING, 2005).

No presente trabalho a utilização do EDTA como condicionante ácido obteve um pior resultado nos testes de microtração (Tabela 1), independente da utilização de clorexidina, bem como do sistema adesivo. Tais achados apresentaram confirmação na avaliação qualitativa das imagens de MEV (Fig. 3), pois se observou a formação de uma camada híbrida delgada e pouca infiltração de monômeros resinosos através dos túbulos dentinários.

Provavelmente, o método de aplicação do EDTA, que foi utilizado não proporcionou uma ótima remoção do *smear layer* (ou lama dentinária), consequentemente não formando um meio propício para uma boa formação de *tags* de resina e de uma camada híbrida homogênea, uma vez que se sabe que a eficiência do EDTA com agente desmineralizador depende da forma de aplicação, concentração tempo de aplicação e pH (JACQUES e HEBLING, 2005).

No trabalho de Jacques e Hebling, (2005) observou-se que quando o EDTA foi aplicado como agente ácido com posterior uso de um adesivo auto-condicionante a força de união imediata foi maior, porém quando foi utilizado o adesivo Single Bond (sistema convencional de duas etapas clínicas) juntamente com EDTA como ataque ácido, menor resistência à fratura foi apresentada, o que, segundo os autores, pode ser explicado devido ao pH baixo do Single Bond.

Os trabalhos subsequentes de Osorio et al. (2005) e Erhardt et al. (2008) mostraram um resultado diverso do presente estudo e do trabalho de Jacques e Hebling (2005), Apesar de não terem mostrado diferenças estatisticamente significantes entre os valores do teste de microtração entre os grupos tratados com EDTA e os grupos controles as forças obtidas com o tratamento feito com EDTA são menores que as do grupo controle quando os outros critérios são iguais aos deste estudo – dentina humana saudável (OSORIO et al., 2005; ERHARDT et al., 2008).

Após a realização do presente estudo podemos concluir que a aplicação de clorexidina após o ataque ácido e previamente a aplicação do adesivo não tem qualquer efeito negativo na formação da camada híbrida e na infiltração de *tags* de compósito nos túbulos dentinários, podendo, inclusive, ser aprisionada pelo compósito o que permitiria sua atuação ao longo do tempo (CARRILHO et al., 2007). Nossos resultados, no entanto, permitem afirmar que a utilização de clorexidina como um primer não afeta a resistência de união imediata entre elemento dentário e compósito.

A nova tendência da Odontologia Adesiva é integrar esse passo a técnica restauradora, pois como mostram os estudos recentes a aplicação de clorexidina parece ser efetiva em inibir a ação das MMPs ao longo do tempo (CARRILHO et al., 2007). No entanto outra linha de pesquisa parece sugerir que se introduza a clorexidina em adesivos (YIU et al., 2012) para que não se aumente a quantidade de etapas da técnica adesiva. Assim sendo, novos estudos são necessários a fim de comparar os meios de aplicação da clorexidina, bem como para verificar a utilidade de seu uso ao longo do tempo, para que essa nova tecnologia possa ser integrada ao mercado com praticidade e eficiência.

Quanto à utilização do EDTA como agente desmineralizador nosso estudo demonstrou resultados pouco animadores, porém sabemos que a literatura apresenta dados divergentes a respeito desse tema. Uma vez que o EDTA parece ter um efeito desmineralizador não muito efetivo e que necessita de condições específicas não está descartado seu uso com outras substâncias para que o ataque ácido seja efetivo (JACQUES; HEBLING 2005).

Para que se possa conhecer mais a respeito do poder do EDTA enquanto agente ácido e para que possamos saber o quanto útil seria a utilização de tal artifício para incrementar a durabilidade das restaurações, são necessários novos estudos que elucidem quanto a concentração, tempo de aplicação, forma de aplicação e pH ótimos para que a desmineralização realizada pelo composto seja efetiva para proporcionar uma boa resistência de união. Também se devem realizar estudos que mostrem como que, ao longo do tempo, será

a estabilidade de união entre elemento dentário e compósito quando o EDTA for utilizado como condicionante ácido.

6 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos no presente estudo, foi possível concluir que:

1) A utilização de uma solução de clorexidina - com o intuito de inibir as MMPs – aplicada como um “primer” após o condicionamento ácido, não interfere na força de união imediata entre material restaurador e tecido dentário, quando são utilizados sistemas adesivos convencionais de 3 e 2 passos à base de etanol;

2) O uso de EDTA como condicionante ácido não proporcionou bons valores de resistência de união, além de não favorecer a formação de *tags* de resina no interior dos túbulos dentinários e uma camada híbrida homogênea. Sendo assim, seu uso como condicionante ácido, segundo os parâmetros de uso descritos, não é indicado.

REFERÊNCIAS

- ARIAS, V.G. **Determinação do número de dentes, palitos e influencia da localização dos palitos na dentina para o ensaio de microtração.** 2007. Tese (Doutorado em clínica odontológica área de dentística) – Faculdade de Odontologia, Unicamp, Campinas, SP
- ARMSTRONG S.R. et al. The influence of water storage and C-factor on the dentin-resin composite microtensile bond strength and debond pathway utilizing a filled and unfilled adhesive resin. **Dent. Mater.**, Oxford, v.17, no. 3, p. 268 – 276, May. 2001.
- BALOOCH, M. et al. Mechanical properties of mineralized collagen fibrils as influenced by demineralization. **J. Struct. Biol.**, San Diego, v.162, no. 3, p. 404 – 410, June 2008.
- BIRKEDAL-HANSEN H. et al. Matrix metalloproteinases: a review. **Crit. Ver. Oral. Biol. Med.**, Boca Raton, v.4, no.2, p. 197–250, Jan 1993.
- BOUSHELL, L.W. et al. Immunohistochemical localization of matrix- metalloproteinase-2 in human coronal dentin. **Arch. Oral. Biol.**, Oxford, v. 53, no.2, p. 109–116. Feb. 2008.
- BRESCHI, L. et al. Influence of chlorhexidine concentration on the durability of etch-and-rinse dentin bonds: a 12-month in vitro study. **J. Adhes. Dent.**, New Malden, v.11, no.3, p. 191 – 198, June 2009.
- CARRILHO, M.R. et al. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. **J. Dent. Res.**, Washington, v. 86, no.1, p. 90 – 94, Jan. 2007.
- CARRILHO, M.R. et al. In vivo preservation of the hybrid layer by chlorhexidine. **J. Dent. Res.**, Washington, v.86, no. 6, p. 529 – 533, June 2007
- DÜNDAR, M. et al. Nanoleakage inhibition within hybrid layer using new protective chemicals and their effect on adhesion. **J. Dent. Res.**, Washington, v. 90, no. 1, p. 93 – 98, Jan. 2011.
- ERHARDT, M.C.; OSORIO, R.; TOLEDANO, M. Dentin treatment with MMPs inhibitors does not alter bond strengths to caries-affected dentin. **J. Dent.**, Guildford, v.36, no. 12, p. 1068 - -1073, Dec. 2008.
- GAULTIER, F. et al. Effects of a vegetable extract from *Lupinus albus* (LU105) on the production of matrix metalloproteinases (MMP1, MMP2, MMP9) and tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP1, TIMP2) by human gingival fibroblasts in culture. **Clin. Oral. Investig.**, Berlin, v.7, no. 4, p. 198 – 205, Dec. 2003.
- GENDRON, R. et al. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8 and 9 by chlorhexidine. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, Washington, v. 6, no 3, p. 437 – 439, May 1999.
- HASHIMOTO, M. et al. The extent to which resin can infiltrate dentin by acetone-based adhesives. **J. Dent. Res.**, Washington, v. 81, no. 1, p. 74 – 78, Jan. 2002.

JACQUES, P.; HEBLING, J. Effect of dentin conditioners on the microtensile bond strength of a conventional and a self-etching primer adhesive system. **Dent. Mat.**, Oxford, v. 21, no. 2, p. 103 – 110, Feb. 2005.

LIU, Y. et al. Limitations in Bonding to Dentin and Experimental Strategies to Prevent Bond Degradation. **J. Dent. Res.**, Washington, v. 90, no. 8, p. 953 – 968, Aug. 2011

MAZZONI, A. et al. Immunohistochemical identification of MMP-2 and MMP-9 in human dentin: correlative FEI-SEM/TEM analysis. **J. Biomed. Mater. Res. A.**, Hoboken, v. 88, no. 3, p. 697 – 703, Mar. 2009.

NAKABAYASHI, N.; PASHLEY, D.H. Acid conditioning and hybridization of substrates. In: NAKABAYASHI N.; PASHLEY D.H. (Ed). **Hybridization of dental hard tissues**. Tokyo: Quintessence; 1998, Chapter 3, p. 37-56.

NISHITANI, Y. et al. Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. **Eur. J. Oral. Sci.**, Copenhagen, v. 114, no. 2, p. 160 – 166, Apr. 2006.

OSORIO, R. et al. EDTA treatment of dentin improves resin-dentin bond's resistance to degradation. **J. Dent. Res.**, Washington, v. 84, no. 8, p. 736 – 740, Aug. 2005.

PASHLEY, D.H. et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. **J. Dent. Res.**, Washington, v.83, no. 3, p. 216 – 221, Mar. 2004.

PASHLEY, D.H. et al. Effects of water and water-free polar solvents on the tensile properties of demineralised dentin. **Dent. Mater.**, Oxford, v. 19, no. 5, p. 347 – 352, July 2003.

PERDIGÃO, J. Dentin bonding-variables related to the clinical situation and the substrate treatment. **Dent. Mater.**, Oxford, v. 26, no. 2, p. 24 – 37, Feb. 2010

SANO, H. et al. Microporous dentin zone beneath resin-impregnated layer. **Oper. Dent.**, Seattle, v. 19, no. 2, p. 59 – 64, Mar./Apr. 1994.

TJÄDERHANE, L. et al. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. **J. Dent. Res.**, Washington, v. 77, no. 8, p. 1622 – 1629, Aug. 1998.

TOLEDANO, M. et al. Diferencial effect of in vitro degradation on resin dentin bonds produced by self-etch vs total-etch adhesives. **J. Biomed. Mat. Res. A.**, Hoboken, v. 77, no. 1, p. 126 – 135, Apr. 2006.

VAN MEERBEEK, B. et al. The clinical performance of adhesives. **J. Dent.**, Guildford, v. 26, no. 1, p. 1 – 20, Jan. 1998.

YIU, C.K. et al. Effect Of chlorhexidine incorporation into dental adhesive resin on durability of resin-dentin bond. **J. Adhes. Dent.**, New Malden, v. 14, no. 4, p. 355 – 362, Aug. 2012.

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

Declaro que doei _____ (*número e tipo de dentes*) aos pesquisadores _____ e _____, a fim de viabilizar a execução da pesquisa intitulada "_____". Igualmente declaro que estes dentes foram extraídos previamente ao meu conhecimento da pesquisa supracitada, por indicação clínica e independente da mesma, sendo armazenados em frasco único, o que impossibilita a identificação dos indivíduos dos quais os dentes foram extraídos.

Porto Alegre, _____ de _____ de _____ .

Assinatura

APÊNDICE B – TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES HUMANOS PARA O BANCO DE DENTES DA FO-UFRGS

**BANCO DE DENTES HUMANOS - PERMANENTES
TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES HUMANOS**

Ao Comitê de Ética em Pesquisa da FO/UFRGS

Eu, _____ ,
 Cirurgião- Dentista , inscrito no CRO _____ , com consultório
 situado na _____ ,
 residente à _____ nº _____ ,
 bairro _____ , cidade _____ ,UF _____ telefone
 _____ , doo _____ dentes para o Banco de Dentes
 Permanentes Humanos da FO – UFRGS, declarando que o (s) mesmo (s) foram extraídos
 por indicação terapêutica , cujos históricos fazem parte dos prontuários dos pacientes de quem
 se originam , arquivados sob minha responsabilidade . Estou ciente de que este (s) dente (s)
 serão utilizado (s) pelos alunos e pesquisadores desta Faculdade para estudo e treinamento
 laboratorial pré-clínico após terem sido aprovadas pela Comissão de Pesquisa da Faculdade
 de Odontologia da UFRGS e, a seguir, pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS.

Porto Alegre , _____ de _____ de _____ .

 Assinatura

APÊNDICE C – VALORES DE RESISTÊNCIA DE UNIÃO DE TODOS OS GRUPOS EXPERIMENTAIS

GRUPO 1		
DENTE	ESPÉCIME	RESISTÊNCIA DE UNIÃO
1	1	8,03
	2	4,55
	3	17,80
	4	8,33
	5	22,77
2	1	21,36
	2	9,83
	3	13,36
	4	17,12
	5	27,20
	6	9,77
	7	17,92
	8	11,84
	9	10,23
	10	12,00
	11	15,41
	12	8,23
	13	16,16
	14	18,31
3	1	36,15
	2	30,44
	3	40,04
	4	25,50
	5	14,82
	6	15,68
	7	25,94
	8	22,12
	9	9,21
	10	17,90
	11	23,65
	12	6,09
	13	51,66
GRUPO 2		
DENTE	ESPÉCIME	RESISTÊNCIA DE UNIÃO
1	1	25,05
	2	31,97
	3	20,54
	4	42,59


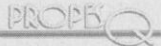
	5	9,26
	6	14,43
	7	8,42
	8	22,04
	9	6,78
	10	18,60
	11	6,01
	12	12,32
	13	31,88
	14	13,49
	15	14,12
2	1	14,46
	2	11,68
	3	19,78
	4	8,98
	5	7,99
	6	13,56
	7	29,79
	8	19,20
	9	15,65
	10	18,99
	11	23,21
	12	14,27
	13	14,25
3	1	7,56
	2	12,17
	3	10,94
GRUPO 3		
DENTE	ESPÉCIME	RESISTÊNCIA DE UNIÃO
1	1	13,80
	2	12,15
	3	15,30
	4	11,38
	5	22,06
2	1	13,94
	2	10,09
	3	10,49
	4	12,62
	5	11,66
	6	10,24
	7	20,39
	8	12,12
	9	6,47

	10	10,24
3	1	11,24
	2	14,18
	3	17,42
	4	20,36
	5	18,38
	6	8,08
GRUPO 4		
DENTE	ESPÉCIME	RESISTÊNCIA DE UNIÃO
1	1	7,79
	2	10,67
	3	7,63
	4	37,31
	5	7,81
	6	16,24
	7	24,79
	8	31,76
	9	19,56
	10	17,80
	11	9,29
2	1	9,46
	2	4,23
	3	6,53
	4	10,56
	5	5,57
	6	16,24
	7	15,24
	8	23,25
	9	8,11
	10	11,33
3	1	27,49
	2	12,16
	3	21,81
	4	14,30
	5	27,06
	6	31,50
	7	23,53
	8	15,92
	9	17,47
	10	21,09
	11	10,85
	12	12,08
	13	15,96

GRUPO 5		
DENTE	ESPÉCIME	RESISTÊNCIA DE UNIÃO
1	1	13,50
	2	12,60
	3	11,46
	4	2,91
	5	21,63
	6	13,22
2	1	13,98
	2	29,26
	3	13,53
	4	13,65
	5	21,31
	6	24,27
	7	22,21
	8	12,69
	9	13,52
	10	15,47
	11	18,05
	12	9,84
3	1	12,84
	2	12,72
	3	14,00
	4	20,26
GRUPO 6		
DENTE	ESPÉCIME	RESISTÊNCIA DE UNIÃO
1	1	3,69
	2	8,12
2	1	9,31
	2	7,91
	3	3,31
	4	10,65
	5	1,65
	6	6,90
	7	6,83
	8	6,97
	9	8,82
3	1	6,52
	2	8,36
	3	9,43
	4	35,97
	5	13,09
	6	6,80

	7	10,03
	8	18,76
	9	8,26
	10	14,04
GRUPO 7		
DENTE	ESPÉCIME	RESISTÊNCIA DE UNIÃO
1	1	5,57
	2	7,02
2	1	13,90
	2	16,08
	3	28,13
	4	19,95
	5	11,78
	6	12,68
	7	24,39
	8	13,64
	9	13,44
3	1	9,46
	2	25,74
	3	20,33
	4	18,02
	5	13,33
	6	6,69
GRUPO 8		
DENTE	ESPÉCIME	RESISTÊNCIA DE UNIÃO
1	1	9,59
	2	25,29
	3	10,85
	4	8,01
	5	4,97
	6	12,22
	7	8,57
	8	8,58
	9	10,33
2	1	10,08
	2	5,19
	3	4,39
	4	5,29
3	1	8,01
	2	16,30
	3	13,60
	4	17,36
	5	7,71

ANEXO – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA

	UFRGS UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL	PRÓ-REITORIA DE PESQUISA Comitê De Ética Em Pesquisa Da Ufrgs	
---	--	---	---

CARTA DE APROVAÇÃO

Comitê De Ética Em Pesquisa Da Ufrgs analisou o projeto:

Número: 20601

Título: AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DA RESISTÊNCIA DE UNIÃO DE INTERFACES ADESIVAS EM DENTINA HÍGIDA: ESTUDO IN VITRO SOBRE O EFEITO DO TRATAMENTO SUPERFICIAL COM INIBIDORES DE METALOPROTEINASES

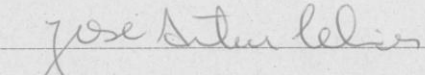
Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

MARIA CAROLINA GUILHERME ERHARDT - coordenador desde 01/08/2011
EWERTON NOCCHI CONCEICAO - pesquisador desde 01/08/2011
JULIANA NUNES ROLLA - pesquisador desde 01/08/2011
ANDREA DE AZEVEDO BRITO CONCEICAO - pesquisador desde 01/08/2011
FABIO HERRMANN COELHO DE SOUZA - pesquisador desde 01/08/2011
THAIS THOME FELDENS - pesquisador desde 01/08/2011

Comitê De Ética Em Pesquisa Da Ufrgs aprovou o mesmo, em reunião realizada em 20/10/2011 - sala 01 de reuniões do Gabinete do Reitor, 6º andar do prédio da Reitoria, por estar adequado ética e metodologicamente e de acordo com a Resolução 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.

Porto Alegre, Terça-Feira, 1 de Novembro de 2011


JOSE ARTUR BOGO CHIES
Coordenador da comissão de ética

1