

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE CAMPINAS

CENTRO DE CIÊNCIAS DA VIDA

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

DIANA ROBERTA PEREIRA GRANDIZOLI

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DOS INIBIDORES
DE PROTEASES NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO DO
SISTEMA ADESIVO AUTOCONDICIONANTE**

**CAMPINAS
2016**

DIANA ROBERTA PEREIRA GRANDIZOLI

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DOS INIBIDORES DE
PROTEASES NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO DO
SISTEMA ADESIVO AUTOCONDICIONANTE**

Dissertação, apresentada como exigência para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, do Centro de Ciências da Vida, da Pontifícia Universidade Católica de Campinas.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luiz Pinheiro

**PUC-CAMPINAS
2016**

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Sistema de Bibliotecas e
Informação - SBI - PUC-Campinas

t617.695
G753a

Grandizoli, Diana Roberta Pereira.

Avaliação da influência dos inibidores de proteases na resistência de união do sistema adesivo autocondicionante / Diana Roberta Pereira Grandizoli. – Campinas: PUC-Campinas, 2016.
66p.

Orientador: Sérgio Luiz Pinheiro.

Dissertação (mestrado) - Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Centro de Ciências da Vida, Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

Inclui anexo e bibliografia.

1. Adesivos dentários. 2. Enzimas proteolíticas. 3. Bicarbonato de sódio. 4. Clorexidina. 5. Odontologia. I. Pinheiro, Sérgio Luiz. II. Pontifícia Universidade Católica de Campinas. Centro de Ciências da Vida. Pós-Graduação em Ciência da Saúde. III. Título.

22. ed. CDD – t617.695

**Pontifícia Universidade Católica de Campinas Centro de Ciências da Vida
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde**

**Autora: GRANDIZOLI, DIANA ROBERTA PEREIRA. Título: AVALIAÇÃO DA
INFLUÊNCIA DOS INIBIDORES DE PROTEASES NA RESISTÊNCIA DE
UNIÃO DO SISTEMA ADESIVO AUTOCONDICIONANTE**

Dissertação de Mestrado em Ciências da Saúde.

BANCA EXAMINADORA

Presidente e Orientador Prof. Dr. Sérgio Luiz Pinheiro. _____

1o Examinador Prof.(a). Dr.(a) Ana Paula Teixeira Boscaroli. _____

2o Examinador Prof.(a). Dr.(a) Margareth Oda. _____

Campinas, 19 de dezembro de 2016

Aos meus queridos pais
Roberto e Maria, exemplo de
vida, que sempre estiveram ao
meu lado, em todos os
momentos de minha vida. Ao
meu marido Alcebiades por
todo amor e dedicação. Eles
foram responsáveis por tornar
meus sonhos uma realidade.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Sérgio Luiz Pinheiro, orientador, incentivador, guia, mestre sempre atento, aplicado na minha formação profissional e amigo sincero em todos os momentos.

Aos Profs. Drs. Ana Paula Teixeira Boscarioli, Karina Teixeira Villalpando e Augusto Echegaray Junior pelo estímulo e importantes sugestões.

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo da Silveira Bueno, pelo apoio e colaboração fundamental na realização da fase experimental.

Às Sras. Andréia, Adelita, Daniele, Tatiane, Gilca e Aline pela atenção e auxílio na fase experimental.

"O que sabemos é uma gota. O que ignoramos é um oceano". Isaac Newton (1643-1727)

RESUMO

GRANDIZOLI, Diana Roberta Pereira. *Avaliação da Influência dos Inibidores de Proteases na Resistência de União do Sistema Adesivo Autocondicionante*. 2016. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Campinas, 2016.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência do bicarbonato de sódio na resistência adesiva durante a hibridização da dentina cariada utilizando o sistema adesivo autocondicionante. Foram selecionados 80 terceiros molares permanentes, feita a remoção do terço oclusal e superfícies dentinárias planas foram obtidas. A lesão de cárie dentinária foi confeccionada através do método microbiológico. Os grupos foram: G1 (n=20): aplicação do sistema adesivo Clearfil (CL), G2 (n=20): aplicação de clorexidina 2% (CLX) + CL, G3 (n=20): aplicação de bicarbonato de sódio (BI) + CL, G4 (n=20): BI + CLX + CL. A resistência adesiva foi avaliada imediatamente e após seis meses. Um bloco de resina composta Z350 foi construído em dentina. Cada bloco dente/adesivo/resina foi seccionado com disco diamantado acoplado à máquina de corte em planos paralelos obtendo-se corpos de prova em forma de palito, com área de secção transversal de 1 mm². Foi realizado teste de resistência de união por meio do teste de microtração. Foi considerada apenas fratura adesiva/mista para cálculo da resistência de união. Os resultados foram submetidos aos teste de Kruskal-Wallis (Student-Newman-Keuls). Não houve diferença significativa na resistência de união entre os grupos controle, bicarbonato e clorexidina no teste imediato ($p>0.05$). Após 6 meses, houve queda da resistência adesiva para todos os grupos. O grupo controle apresentou maior resistência de união ($p<0.05$). A fratura predominante foi do tipo adesiva independente do período avaliado. Pode-se concluir que após seis meses, houve diminuição na força de união para todos os grupos. Essa redução apresentou-se maior nos grupos em que os inibidores foram utilizados.

Palavras-chave: Resistência de união. Proteases. Bicarbonato de sódio. Clorexidina. Inibidores. Adesivo autocondicionante.

ABSTRACT

GRANDIZOLI, Diana Roberta Pereira. *Evaluation of the Influence of Protease Inhibitors on the Adhesion Resistance of the Self-Etching Adhesive System*. 2016. 66f. Dissertation (Master's degree in health sciences) - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Campinas, 2016.

The present study sought to evaluate the influence of protease inhibitors on the bond strength of a self-etch adhesive system during hybrid layer formation in caries-affected dentin. The occlusal thirds of 80 permanent third molars were ground down to flat dentin surfaces. Dentinal caries were induced artificially by the microbial method. Groups were divided as follows: G1 (n=20), application of Clearfil SE Bond adhesive system (CL) alone; G2 (n=20), pretreatment with 2% chlorhexidine (CLX)+CL; G3 (n=20), pretreatment with sodium bicarbonate (BIC)+CL; G4 (n=20), BI +CLX+CL. Bond strength was assessed immediately and at 6 months. Composite resin (Z350) build-ups were made on the dentin surfaces, and beam-shaped specimens with a cross-sectional area of 1 mm² were obtained. Microtensile bond strength testing was performed. Only adhesive or mixed-mode fractures were taken into account for calculation of bond strength. The results were submitted to the Kruskal-Wallis test (Student-Newman-Keuls). There was no significant difference on bond strength between the control, bicarbonate and chlorhexidine groups in the immediate test ($p > 0.05$). After 6 months, adhesive resistance fell for all groups. The control group had higher bond strength ($p < 0.05$). The predominant fracture was of the adhesive type independent of the period evaluated. It can be concluded that after six months, there was decrease on bond strength for all groups. This reduction was greater in the groups in which the inhibitors were used.

Keywords: Bond Strength. Proteases. Sodium bicarbonate. Chlorhexidine. Inhibitors. Self-etching adhesive.

LISTA DE TABELAS

	<i>Página</i>
Tabela 1. Composição e modo de aplicação dos materiais utilizados	38
Tabela 2. Medianas (MD), desvios interquartílicos (DI), médias aritméticas (MA), desvios padrão (DP) e análise estatística de Kruskal-Wallis (KW) complementado por Student-Newman-Keuls (SNK) da resistência de união dos grupos amostrais (MPa) - IMEDIATO	49
Tabela 3. Medianas (MD), desvios interquartílicos (DI), médias aritméticas (MA), desvios padrão (DP) e análise estatística de Kruskal-Wallis (KW) complementado por Student-Newman-Keuls dos tipos de padrão de fratura entre os grupos amostrais (MPa) - IMEDIATO	50
Tabela 4. Porcentagem do modo de fratura nos grupos experimentais – IMEDIATO	51
Tabela 5. Medianas (MD), desvios interquartílicos (DI), médias aritméticas (MA), desvios padrão (DP) e análise estatística de Kruskal-Wallis (KW) complementado por Student-Newman-Keuls da resistência de união dos grupos amostrais (MPa) – APÓS 6 MESES	52
Tabela 6. Medianas (MD), desvios interquartílicos (DI), médias aritméticas (MA), desvios padrão (DP) e análise estatística de Kruskal-Wallis (KW) complementado por Student-Newman-Keuls dos tipos de padrão de fratura entre os grupos amostrais (MPa) – APÓS 6 MESES	53
Tabela 7. Porcentagem do modo de fratura nos grupos experimentais - APÓS SEIS MESES	53
Tabela 8. Medianas (MD), desvios interquartílicos (DI), médias aritméticas (MA), desvios padrão (DP) e análise estatística de Mann Whitney da resistência de união dos grupos amostrais (MPa)	54

SUMÁRIO

Capa.....	0
Folha de rosto	1
Ficha catalográfica.....	2
Folha de aprovação	3
Dedicatória	4
Agradecimentos	5
Epígrafe.....	6
Resumo.....	7
<i>Abstract</i>	8
Lista de tabelas.....	9
Sumário.....	10
Introdução	11
Revisão da Literatura.....	13
Materiais e métodos	32
Resultados	48
Discussão	55
Conclusão.....	59
Referências	60
Anexos.....	64

INTRODUÇÃO

A doença cárie tem início com a formação da placa bacteriana. Esse biofilme apresenta estrutura complexa com inúmeros microrganismos que processam açúcares para sua viabilidade produzindo ácidos que degradam a matriz inorgânica dos tecidos esmalte, dentina e ou cemento (VAN STRIJP *et al.*, 1994; TJÄDERHANE *et al.*, 1998; HEBLING *et al.*, 2005; PINHEIRO *et al.*, 2008; PINHEIRO *et al.*, 2010). Após a queda do pH e dissolução do conteúdo inorgânico dos tecidos dentais há a exposição da porção orgânica, que em maior parte na dentina é constituída por fibras colágenas. Essas fibras desprotegidas são degradadas por enzimas proteolíticas, presentes na dentina, as metaloproteinases e catepsinas cisteínas (LAS HERAS *et al.*, 2000; SULKALA *et al.*, 2002; SULKALA *et al.*, 2007; MAZZONI *et al.*, 2007; NASCIMENTO *et al.*, 2011; MAZZONI *et al.*, 2015).

O conteúdo orgânico dentinário aumenta os aspectos críticos em relação a hibridização. O sistema adesivo a ser empregado deve possuir hidrofiliabilidade suficiente para interação com o conteúdo orgânico dentinário e ao mesmo tempo propriedades que permitam a união com materiais restauradores resinosos (ALEX, 2015).

A longevidade do procedimento restaurador adesivo pode ser comprometida pela presença das metaloproteinases. Alguns inibidores tem sido estudados e sua ação pode ser baseada na quelatação de íons cálcio e zinco essenciais para a atividade enzimática das proteases endógenas. Dentre eles, a clorexidina 2% e o EDTA 17% (GENDRON *et al.*, 1999; THOMPSON *et al.*, 2012). Outros inibidores, derivados de fontes naturais tem sido avaliados, por apresentarem atividade anti-proteolítica e menores efeitos colaterais comparados as substâncias sintéticas. São catequinas (EGCG) extraídas do chá verde ou o extrato de semente de uva (DEMEULE *et al.*, 2000; YANG *et al.*, 2016). O bicarbonato de sódio apresenta propriedades alcalinas capazes de inativar catepsinas precursoras de proteases endógenas, mostrando que indiretamente seria capaz de inativar metaloproteinases (ROBEY & NESBIT 2013) além de ser um biomaterial de fácil acesso ao clínico.

Os sistemas adesivos autocondicionantes possuem em sua composição monômeros acídicos funcionais. Eles são capazes de formar união química com o cálcio da hidroxiapatita. Essa união mostra estabilidade ao longo do tempo maior que a formada com os sistemas adesivos convencionais que utilizam o ácido fosfórico previamente à aplicação do adesivo (VAN LANDUYT *et al.*, 2008). Os adesivos autocondicionantes podem ser classificados de acordo com o seu pH em fracos ($\text{pH} > 2$), moderados ($1 < \text{pH} < 2$) ou fortes ($\text{pH} < 1$) (VAN MEERBEEK *et al.*, 2011). Essa característica influencia na capacidade do sistema adesivo interagir com o esmalte e dentina. Muitos adesivos autocondicionantes fracos são capazes de estabelecer união química entre grupos carboxílicos, fosfato e cristais de hidroxiapatita presentes na rede de colágeno dentinária, em particular o 10-MDP (MARCHESI *et al.*, 2014). A habilidade desses sistemas adesivos na formação de união estável ao longo do tempo sem a necessidade da utilização de inibidores de protease tem sido avaliada.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência dos inibidores de proteases na resistência de união do sistema adesivo autocondicionante.

1. REVISÃO DA LITERATURA

Clarkson *et al.* (1984), associaram o *S. mutans* a superfície radicular cariada e identificaram o fator etiológico primário na cárie de esmalte. As lesões de cárie foram avaliadas utilizando microscopia de luz polarizada e microradiografia. A viabilidade bacteriana e mudanças do pH foram monitoradas no experimento. Ao observarem as lesões em luz polarizada, as lesões em esmalte apresentaram uma zona carregada negativamente e o corpo da lesão apresentou-se carregado positivamente. A superfície radicular cariada apresentou-se menos radioluscente. O modelo microbiológico para desenvolvimento *in vitro* da lesão de cárie possui vantagens em relação ao sistema gel acidulado. Porém, os modelos se complementam. Através do modelo microbiológico pode-se comparar o potencial cariogênico de diferentes cepas bacterianas, alimentos e investigar a causa e prevenção da cárie radicular e coronária.

Van Strijp *et al.* (1994) avaliaram a colonização bacteriana na dentina desmineralizada *in situ*. Identificaram microorganismos colonizadores predominantemente da matriz colágena pela sua capacidade de degradação da matriz gelatinosa. As bactérias predominantes foram *Streptococcus mitis*, *Peptostreptococcus productus*, *Lactobacillus casei*, espécies de *Propionibacterium* e *Veillonella parvula*. Na análise bioquímica observou-se perda de colágeno entre 0 a 67% nas amostras. Nas imagens em microscopia eletrônica de transmissão a matriz colágena apresentou-se degradada com fibras em menor diâmetro e número.

Tjäderhane *et al.* (1998) investigaram a presença e função das metaloproteinases na dentina cariada e ativação das metaloproteinases salivares em baixo pH. Para avaliar a presença das proteases nas lesões de cárie dentinária utilizou-se Western immunoblotting identificou-se MMP-2 (Gelatinase A), MMP-9 (Gelatinase B) e MMP-8 (colagenase-2). A atividade gelatinolítica das amostras foi verificada por enzimografia e a MMP-9 foi a enzima colagenolítica predominante. Conclui-se que após a ativação das proteases pela queda do pH ocorre degradação da matriz dentinária.

Gendron *et al.* (1999) avaliaram o efeito inibitório de diversas concentração de clorexidina na atividade das MMP-2, -8 e -9 na doença periodontal. Na concentração 0,03% a clorexidina inibiu completamente a

atividade da MMP-2 e -9. A concentração mínima para a inibição da MMP-9 foi 0,002% enquanto que para MMP-2 foi 0,0001%. A MMP-8 foi completamente inibida pela clorexidina nas concentrações em torno de 0,02% a 0,01%. A clorexidina mostrou atividade antiproteolítica benéfica no tratamento da periodontite *in vitro*.

Las Heras *et al.* (2000) buscaram identificar zymogens e formas ativas de gelatinases na dentina humana adaptando e modificando o protocolo para extração proteica determinando a presença de metaloproteinasas na fase mineral associada a hidroxiapatita ou proteínas da matriz dentinária presas pelo processo de mineralização. A atividade proteolítica foi avaliada através da técnica zimográfica. Os dados dos grupos experimentais foram comparados pelo teste χ^2 . O teste exato de Fischer foi utilizado para verificar a significância da presença da gelatinase A. Formas ativa e latente da gelatinase A foram encontradas na dentina não mineralizada. Houve presença da forma ativa da gelatinase A na dentina mineralizada contribuindo para degradação da matriz orgânica na lesão de cárie. A gelatinase A pode ser liberada no esmalte ou dentina sobre desmineralização por bactérias cariogênicas ou novamente sintetizada e liberada por odontoblastos estimulados pelo processo cariogênico.

Demeule *et al.* (2000) avaliaram os efeitos dos polifenóis do chá verde (GTP) na atividade das MMP-2, -9 e -12. A ativação da proMMP-2. Para identificar os componentes do chá verde envolvidos na inibição, foram avaliados os efeitos das catequinas (C), epicatequinas (EC), epigallocatequina (EGC), epicatequina galate (ECG), epigallocatequina galate (EGCG). GTP inibiu as enzimas proteolíticas de acordo com os resultados da fluorescência e análise zimográfica. As catequinas que apresentaram a maior capacidade de inibição das proteases foram EGCG e ECG. Os polifenóis do chá verde e um dos seus membros (EGCG) apresentam forte inibição das atividades das MMP-2, -9 e -12. EGCG ainda antagonizou a atividade da pro MMP-2 sugerindo seu possível envolvimento com o processo tumoral e metástase.

Banerjee *et al.* (2000) realizaram revisão da literatura sobre técnicas de remoção da lesão de cárie (dentina desmineralizada). Essas técnicas incluem: remoção com instrumentos manuais, instrumentos rotatórios, abrasão por ar, polimento, ultrassônicos, lasers, caridex/carisolv ou remoção por ação enzimática. Todas as técnicas diferem em relação a nível de eficiência. O mais importante foi

avaliar a condição tecidual: amolecido, superficial, necrótico, zona altamente infectada necessitando ser excavada. Na região mais interna: alteração reversível, zona menos infectada que pode ser mantida. Se essa discriminação não for bem executada a remoção excessiva de tecido pode ser realizada pelo operador. Existe a necessidade de avaliar as técnicas existentes para remoção de cárie em dentina.

Sulkala *et al.* (2002) investigaram a presença e localização da MMP-20 em dentes hígidos ou cariados, odontoblastos e tecido pulpar por Western blotting e imuno-histoquímica. MMP-20 foi observada intensamente na camada odontoblástica radicular e túbulos dentinários da dentina cariada. Além disso foi detectada nos odontoblastos e tecido pulpar da dentina hígida e cariada e no fluido dentinário da dentina hígida. A MMP-20 pode ser liberada e possivelmente ativada durante a progressão da lesão de cárie. Sua principal fonte no complexo dentino-pulpar são os odontoblastos.

Yoshiyama *et al.* (2002) examinaram a força de união e a estrutura interfacial dos sistemas adesivos convencional (Single Bond) e autocondicionante (sistema adesivo experimental com agente antibacteriano ABF system), na dentina cariada imediatamente. Os resultados foram submetidos a análise de variância complementados por Tukey. A força de união na dentina hígida foi significativamente maior que na dentina cariada. A avaliação em microscopia eletrônica de transmissão revelou para ambos os sistemas adesivos que a camada híbrida na dentina cariada é muito mais espessa do que a observada na dentina hígida. Os túbulos dentinários apresentaram obliteração por minerais. Embora a camada híbrida apresente de 3 a 5 micrômetros de espessura para os sistemas adesivos autocondicionantes e de 15 a 19 micrômetros para os adesivos convencionais, zonas porosas podem ser observadas na dentina cariada abaixo da camada híbrida para os sistemas adesivos autocondicionantes ou ao longo da base da camada híbrida para sistemas adesivos convencionais. Observou-se a presença de bactérias no substrato utilizando ambos os adesivos. A resina foi capaz de infiltrar na matriz dentinária afetada e infectada.

Nishitani *et al.* (2005) compararam a força de união final (UTS) da dentina hígida ou cariada e desses mesmos tecidos após completa desmineralização, em função da orientação tubular. Após análise estatística (ANOVA) observou-se interação dos três fatores: mineralização, cárie e direção

tubular, todos foram significantes indicando que a mineralização e a direção tubular obtiveram diferentes resultados de UTS na dentina hígida ou cariada. Não observou-se diferenças significantes entre a força de união na dentina desmineralizada cariada e dentina hígida no grupo paralelo ou perpendicular. Concluíram que a matriz da dentina cariada desmineralizada é mais forte que a da dentina hígida desmineralizada quando são testadas na mesma direção. Se a resina não for capaz de penetrar no substrato desmineralizado a força de união do adesivo é fraca e dependerá do substrato: hígido ou cariado.

Hebling *et al.* (2005) testaram a diferença da estrutura dentinária *in vivo* em molares decíduos restaurados utilizando apenas o sistema adesivo convencional de três passos Single Bond ou utilizando esse sistema adesivo e a clorexidina 2% como inibidor de MMP aplicado após o condicionamento ácido. Após 6 meses os dentes foram avaliados radiograficamente e sob microscopia eletrônica de transmissão. Maior deposição de prata foi encontrada nos dentes em que o inibidor não foi utilizado. Assim como, maior evidência de degradação na camada híbrida também foi observada para esse grupo. A utilização da clorexidina 2% como inibidor de protease impediu a degradação da camada híbrida *in vivo* de molares decíduos utilizando o sistema adesivo Single Bond após seis meses.

Rosin *et al.* (2005) comparam o efeito do jato de bicarbonato, pedrapomes/ água e detergente biológico, e spray de ar e água (controle) como agentes de limpeza cavitária na força de união de dois sistemas adesivos: Scotchbond Multi-Purpose Plus (SBMP) e Clearfil SE Bond (CSEB). O teste de tração foi realizado após sete dias de armazenamento dos espécimes em água destilada. Após o teste as amostras foram submetidas ao preparo para análise em microscopia eletrônica de varredura. Não houve diferenças estatisticamente significantes entre as técnicas de limpeza cavitária e os sistemas adesivos utilizados. Concluíram que nenhuma das técnicas de limpeza da superfície dentinária interferiu na força de união dos sistemas adesivos utilizados. O sistema adesivo CSEB apresentou maior força de união em dentina que o sistema adesivo SBMP.

Sulkala *et al.* (2007) identificaram e caracterizaram as enzimas responsáveis pela atividade colagenolítica observada na dentina: colagenases MMP-1, MMP-8, MMP-13 e catepsina K através de Western blotting, ensaio

imunofluorométrico e ensaio de degradação do colágeno tipo I. A MMP-8 (colagenase-2) apresentou atividade gelatinolítica na matriz orgânica e liberação apenas após a desmineralização. Essa enzima representa a maior colagenase na dentina humana.

Mazzoni *et al.* (2007) mensuraram a presença e concentração das formas moleculares de MMP-2 e MMP-9 na dentina desmineralizada. A concentração enzimática foi mensurada por imunoenensaio, a distribuição por zimografia e caracterização imunológica através de Western blotting. Metaloproteinases gelatinolíticas foram identificadas na dentina desmineralizada além de MMP-2 e MMP-9. Observou-se que quanto menor o pH maior a atividade das MMPs. Sua ativação pode contribuir para a degradação da matriz dentinária durante a progressão da lesão de cárie ou procedimento restaurador adesivo. A inibição das MMP-2 MMP-9 pode retardar a progressão da lesão de cárie e aumentar a durabilidade adesiva.

Mazzoni *et al.* (2009) identificaram a distribuição das MMP-2 e MMP-9 através de imuno-histoquímica com anticorpo monoclonal na dentina parcialmente descalcificada sob emissão de campo em lente de microscopia eletrônica de varredura (FEI-SEM) e microscopia eletrônica de transmissão (TEM). MMP-2 e MMP-9 foram localizadas predominantemente na colágeno intratubular ancoradas as estruturas fibrilares sugerindo que gelatinases podem ser hermeticamente unidas a rede de colágeno. Essas enzimas possuem um papel importante na degradação da matriz orgânica dentinária.

Pinheiro *et al.* (2008) realizaram estudo morfométrico do colágeno na dentina cariada através da mensuração de áreas colágenas reorganizáveis com Sirius Red e a quantidade e diâmetro dos túbulos dentinários com hematoxilina-eosina. O programa Tpsdig, versão 1.38 processou as 32 imagens da dentina com corantes. As áreas coloridas com Sirius Red, representaram o colágeno organizado, foram delimitadas por examinadores duplo-cego calibrados. A porcentagem de colágeno organizado na dentina afetada foi 32.37% e na dentina infectada 12.71%. O método utilizado mostrou-se seguro para realização da morfometria na dentina cariada.

Van Landuyt *et al.* (2008) investigaram a influencia da estrutura química na performance adesiva de três monômeros funcionais diferentes quimicamente. O primer a base de 10-MDP apresentou maior força de união em

esmalte comparado aos outros primers experimentais. HAEPa apresentou muitas falhas pré-teste representando baixa força de união em esmalte. O 10-MDP e MAEPa atingiram força de união em torno de 25 Mpa sem falhas pré-teste. Na análise do modo de fratura o tipo misto foi predominante. Na análise em microscopia eletrônica de transmissão as interfaces de EAEPa, MAEPa e 10-MDP foram semelhantes. A camada híbrida foi parcialmente desmineralizada e os túbulos dentinários permaneceram ocluídos pela *smear plug*. O sal formado pela união do 10-MDP e o cálcio foi o mais estável. A alteração de apenas um parâmetro na estrutura química do monômero é interessante para análise dos mecanismos de união. O aperfeiçoamento dos adesivos atuais pode ocorrer através da produção de monômeros funcionais com potencial de união química.

Carvalho *et al.* (2008) analisaram comparativamente por microscopia confocal (CLSM) a profundidade da lesão de cárie em dentina produzida pelos modelos químico e biológico de confecção da lesão de cárie em dentes permanentes e decíduos. Após o desafio cariogênico as coroas dos dentes utilizados no estudo foram seccionadas longitudinalmente no centro da lesão de cárie. Três mensurações da profundidade da lesão de cárie foram realizadas em cada espécime por CLSM. As medidas foram comparadas entre os modelos: químico ou biológico e entre os tipos de dentes: permanente ou decíduo através de ANOVA e Tukey. Para os dentes permanentes, o modelo biológico apresentou maiores valores de profundidade. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes para os dentes decíduos em relação ao modelo de cárie utilizado.

Marquezan *et al.* (2009) avaliaram dois modelos de desenvolvimento de cárie artificial: o modelo químico e o microbiológico. Através, das análises de microdureza e morfologia comparando com dentes com cárie em dentina natural. Os valores de microdureza foram registrados em kgf/mm^2 . Para cada espécime a profundidade foi avaliada. Resultados foram avaliados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Cada profundidade foi comparada entre os grupos experimentais utilizando ANOVA e o teste SNK's. O método químico promoveu desmineralização superficial com valores de dureza semelhantes aos da lesão natural. A ciclagem de pH foi mais efetiva que o gel acidulado. O modelo microbiológico produziu amolecimento excessivo da dentina primária, esse método apresentou morfologia mais próxima a da lesão de cárie natural. A

escolha do modelo de desafio cariogênico deverá ser de acordo com o desenho do estudo.

Sousa *et al.* (2009) avaliaram o efeito do bicarbonato de sódio em comparação com outras soluções desinfetantes na aderência da *Candida albicans* a resina acrílica termicamente ativada. O teste de aderência foi realizado incubando os espécimes e imergindo os mesmos por 10 minutos em 10 mL nas soluções a seguir: grupo controle (água destilada), grupo B (5% de bicarbonato de sódio), grupo V (vinagre branco), grupo C (Corega Tabs) e grupo P (Periogard – 0,12% digluconato de clorexidina). Após o preparo das amostras o número de unidades formadoras de colônia por espécime foi determinado. Para análise estatística foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Apenas os grupos P e B apresentaram diferenças estatisticamente significantes quando comparados ao grupo controle. Comparando os grupos entre si apenas o grupo P apresentou diferenças estatisticamente significantes. A solução de bicarbonato de sódio 5% apresentou-se como alternativa viável na redução da aderência da *C. albicans* nos espécimes de resina acrílica termicamente ativada.

Pinheiro *et al.* (2010) avaliaram morfometricamente o colágeno nas lesões de cárie seladas com hidróxido de cálcio (Dycal), sistemas adesivos (Prime & Bond ou Adhese) na dentina afetada, cimento de ionômero de vidro (Vidrion F) e cimento antibacteriano na dentina infectada. Foram realizadas as restaurações com resina composta. Após 90 dias as mesmas foram removidas e a excavação dentinária realizada com curetas. Um dente hígido foi utilizado como controle. As amostras foram analisadas através do programa Tpsdig versão 1.38. Os resultados foram analisados pelo programa Biostat 4. Os resultados foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis. O selamento da dentina afetada com hidróxido de cálcio resultou em melhor organização das fibras colágenas comparado com os sistemas adesivos utilizados, Adhese não promoveu reparo dentinário após o período experimental. O selamento da dentina infectada com cimento de ionômero de vidro ou cimento antibacteriano aumentou as áreas de colágeno organizado.

Tsujimoto *et al.* (2010) examinaram a energia livre de superfície do esmalte tratado com sistema adesivo autocondicionante de um passo para saber a influência da rugosidade de superfície. Os sistemas adesivos utilizados foram Bond Force (Tokuyama), Clearfil tri-S Bond (Kuraray) e G-Bond (GC Corp). A

energia livre de superfície das amostras tratadas com G-Bond e Clearfil tri-S bond aumentou conforme a rugosidade da superfície diminuiu. Para o sistema adesivo Bond Force não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes em relação a energia de superfície e rugosidade. Os resultados indicaram que a análise da energia livre de superfície fornece informações sobre a interação dos sistemas adesivos autocondicionantes de um passo com a superfície de esmalte.

Mobarak (2011) avaliaram o efeito da clorexidina 2 e 5% na resistência de união do sistema adesivo autocondicionante de dois passos na dentina hígida ou cariada (afetada) imediatamente e após dois anos de estocagem em saliva artificial sob pressão intrapulpar simulada. Para análise estatística foi utilizado o teste ANOVA seguido por Bonferroni. O teste T foi utilizado para comparar os tempos 24 horas e após dois anos. Na dentina cariada após dois anos observou-se no grupo clorexidina 5% maiores valores de força de união comparando com clorexidina 2% ou grupo controle. Em todos os grupos o padrão de fratura de maior frequência foi do tipo adesiva. Após dois anos a deposição por prata aumentou na camada híbrida de todos os grupos exceto na dentina cariada tratada com clorexidina 5%. A clorexidina 2 ou 5% não alterou a força de união na dentina hígida ou cariada sob pressão intrapulpar simulada. Após dois anos a clorexidina 2% não foi capaz de preservar a força de união adesiva na dentina cariada. A clorexidina 5% manteve os valores de força de união na dentina cariada ao longo do tempo.

Nascimento *et al.* (2011) avaliaram a presença, origem e aumento da atividade de catepsinas cisteínas e metaloproteinases da matriz na dentina cariada e saliva humanas através de imunocoloração e teste espectrofluorimétrico. Obtiveram como resultados presença intensa de catepsina B nos odontoblastos e túbulos dentinários na dentina cariada. Aumento estatisticamente significativo na atividade de proteinase cisteína com o aumento da profundidade da lesão de cárie dentinária. A atividade das metaloproteinases salivares foi significativamente maior em pacientes com lesões ativas comparando com a atividade em lesões crônicas.

Van Meerbeeck *et al.* (2011) em revisão da literatura apresentaram os mais recentes conceitos no que diz respeito aos sistemas autocondicionantes. Apresentaram as características gerais desses sistemas adesivos. Concluíram que a otimização deles pode ser alcançada através da síntese de monômeros que

possuam potencial de união química e baixa acidez. Isso pode garantir a durabilidade da união em dentina. O embricamento micromecânico ainda foi a melhor estratégia de união em esmalte. Recomendou-se o condicionamento seletivo em esmalte. O condicionamento dentinário com ácido fosfórico foi considerado agressivo pela sua capacidade de exposição de fibras colágenas.

Sanabe *et al.* (2011) utilizaram o tricrômico de Goldner para avaliar a exposição de fibras colágenas na dentina cariada ou hígida após seis meses de estocagem em água destilada ou óleo mineral, tratadas com clorexidina 2% e sistema adesivo Adper Single Bond 2. Os espécimes foram submetidos ao processamento histológico. A espessura da zona de exposição do colágeno foi avaliada através de microscopia óptica e os resultados submetidos aos testes de ANOVA e Tukey. Independente do substrato avaliado a quantidade de exposição de fibras colágenas observada após seis meses foi significativamente maior nos grupos estocados em água destilada. Os grupos tratados com clorexidina apresentaram exposição semelhante no grupo controle e após seis meses quando estocados em água. Não observou-se aumento na exposição de colágeno após estocagem em óleo mineral.

Sacramento *et al.* (2012) analisaram *in vitro* a influência do monômero antibacteriano, um desinfetante cavitário (clorexidina 2%) em diferentes períodos de estocagem em água (24 horas, 6 ou 12 meses) na degradação da união e nanoinfiltração dos sistemas adesivos: Clearfil Protect Bond (PB), Clearfil SE Bond (SE) na dentina desmineralizada. Utilizaram os testes de microtração e nanoinfiltração pela prata. O tipo de fratura foi analisado sob microscopia eletrônica de varredura. Os resultados foram submetidos ao teste de ANOVA e Tukey. Para avaliação da nanoinfiltração foi utilizada análise descritiva. O sistema adesivo SE apresentou após 24 horas menor valor de força de união com ou sem a utilização de clorexidina. Após 6 meses a força de união diminuiu para todos os grupos e manteve-se após 12 meses para todos os grupos. Todos os espécimes apresentaram aumento da deposição de prata após 6 e 12 meses. A maior porcentagem de nanoinfiltração foi observada nos grupos em que a clorexidina foi utilizada.

Thompson *et al.* (2012) determinaram o tempo necessário para o EDTA 17% apresentar efeito anti-MMP na dentina desmineralizada. Amostras de dentina coronária foram desmineralizadas com ácido fosfórico 10%, para ativar as MMPs.

Os espécimes foram divididos em quatro grupos de acordo com o tempo de exposição ao EDTA 17% (0, 1, 2 e 5 minutos). Foi realizado o teste colorimétrico. Os resultados foram analisados através de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn. Todos os três períodos de tempo de exposição ao EDTA 17% inibiram significativamente a atividade da MMP. Isso poderia minimizar a degradação da camada híbrida na dentina radicular durante procedimentos adesivos.

Choi e Kim (2012) investigaram a efetividade das soluções de bicarbonato de sódio (SB) e clorexidina (CHX) na mucosite oral agressiva em pacientes com leucemia sob quimioterapia. Os participantes foram divididos aleatoriamente em dois grupos BS e CHX de acordo com o tipo de leucemia aguda: Linfóide ou Mielóide. O nível da mucosite de acordo com a Organização Mundial da Saúde, o questionário de mucosite oral relatado pelo paciente e os sinais clínicos associados a infecção foram avaliados diariamente. A contagem de microrganismos foi realizada semanalmente. No grupo SB 25% dos pacientes desenvolveram mucosite oral ulcerativa. Enquanto que no grupo CHX isso ocorreu em 62,5% dos pacientes. O início do desenvolvimento de mucosite oral no grupo SB foi tardio em relação ao grupo CHX. A colonização bacteriana no grupo BS foi maior que no grupo CHX porém os sinais clínicos de infecção não apresentaram diferenças em ambos os grupos. A solução de bicarbonato de sódio para cuidado da saúde oral de pacientes com leucemia sob quimioterapia foi efetiva.

Wang *et al.* (2012) examinaram *in vivo* o efeito neutralizante das soluções de bicarbonato de arginina em diversas concentrações ou bicarbonato de sódio no pH da placa interproximal utilizando telemetria do pH da placa interdental. Após o enxágue com solução de bicarbonato de sódio o pH da placa subiu instantaneamente. Porém, após a utilização do bicarbonato de arginina, a indução de queda de pH pela sacarose na placa foi imediatamente e efetivamente neutralizada. Concluíram que o uso regular de bicarbonato de arginina após o consumo de carboidrato pode ser efetivo no combate ao desenvolvimento de lesões de cárie.

Karaarslan *et al.* (2012) comparam imediatamente a força de união de três sistemas adesivos: Adper Single Bond 2, G-Bond e Clearfil SE Bond, na dentina cariada após a utilização de uma das três técnicas de remoção da lesão de cárie: instrumento rotatório convencional, laser Er: YAG ou remoção químico-

mecânica com Carisolv. Os resultados foram analisados por ANOVA complementados por Tukey. Para o sistema adesivo convencional de dois passos não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos laser e instrumento rotatório. Contudo, o grupo remoção químico-mecânica obteve maior força de união comparado aos dois grupos anteriores. Para os sistemas adesivos autocondicionantes de um ou dois passos não houve diferenças significantes na força de união entre instrumento rotatório, laser e remoção químico-mecânica. Nos grupos instrumento rotatório não houve diferenças entre os sistemas adesivos utilizados. Nos grupos laser, Adper Single Bond 2 foi significativamente maior que G-Bond e Clearfil SE Bond, mas, não houve diferenças entre Clearfil e G-Bond. Nos grupos remoção químico-mecânica, Clearfil foi significativamente maior que Adper Single Bond 2 e G-Bond. Porém, não houve diferenças entre Adper Single Bond 2 e G-Bond. O tipo de fratura mais frequente foi adesiva. Não houve diferenças significantes nos tipos de fratura entre os grupos avaliados. Dentro das limitações do estudo observou-se a flexibilidade na escolha do sistema adesivo de acordo com a técnica de remoção da lesão de cárie.

Lenzi *et al.* (2012) avaliaram a força de união imediata do sistema adesivo Adper Single Bond 2 e clorexidina 2% na dentina hígida ou cariada em dentes decíduos ou permanentes, imediatamente. A aplicação da clorexidina 2% antes do sistema adesivo não influenciou na força de união. Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos clorexidina e controle. Porém, a força de união nos dentes decíduos e na dentina cariada foi significante menor que a obtida nos dentes permanentes e dentina hígida, respectivamente. Fratura tipo adesiva/mista foi predominante em todos os grupos. A clorexidina não interferiu na força de união imediata na dentina hígida ou cariada nos dentes permanentes ou decíduos.

Momoi *et al.* (2012) desenvolveram um *guideline* baseado em evidências clínicas para difundir a política da mínima intervenção em restaurações de dentes permanentes em pacientes adultos. O *guideline* foi desenvolvido por um comitê de nove clínicos universitários e um bibliotecário. O comitê selecionou as questões clínicas mais frequentes no tratamento da lesão cariosa e utilizou base de dados eletrônica para encontrar a melhor evidência científica disponível para o tratamento dessas lesões. Foram discutidas no *guideline* as 16 questões clínicas mais frequentes encontradas no tratamento das lesões de cárie,

basicamente de acordo com a profundidade dessas lesões. Além disso técnicas operatórias e tratamento de lesões de cárie radicular foram incluídos. Esse estudo pôde fornecer a melhor evidência científica, técnica atual e materiais de preferência no tratamento da cárie pela política da mínima intervenção.

Shafiei *et al.* (2013) testaram a resistência de união do sistema adesivo Clearfil SE Bond utilizado com digluconato de clorexina e do adesivo autocondicionante contendo MDPB na dentina hígida imediatamente e após seis meses (termociclagem). A clorexidina foi capaz de reduzir a perda da força de união dos sistemas adesivos autocondicionantes de dois passos na dentina ao longo do tempo. Apesar de, reduzir significativamente a força de união inicial. Mais estudos precisam ser realizados para recomendação da utilização dos sistemas adesivos autocondicionantes de dois passos e clorexidina.

Robey e Nesbit (2013) testaram a relação entre alcalinização e a atividade da protease. A mensuração foi realizada através da fluorescência de agentes ativáveis de protease pertencentes a catepsinas e MMPs, em resposta a alcalinização transitória de tumores em ratos. A alcalinização transitória reduziu significativamente proteases *in vivo* e metástases tumorais.

Tjäderhane *et al.* (2013) estudaram em revisão da literatura estratégias para a preservação das fibras colágenas na camada híbrida e inibição das proteases endógenas dentinárias necessárias para a durabilidade adesiva. Relataram que os monômeros acídicos funcionais presentes nos sistemas adesivos autocondicionantes como o 10-MDP o 4-MET e o fenil-P unem-se quimicamente a íons cálcio dos cristais de hidroxiapatita. Há uma interação superficial com a dentina formando uma fina camada híbrida. A utilização dos sistemas adesivos autocondicionantes fracos minimiza a nanoinfiltração, deixando hidroxiapatita em torno das fibras colágenas mantendo enzimas proteolíticas fossilizadas. Dessa forma o colágeno não pode ser degradado. Porém, estudos relataram que mesmo sistemas adesivos autocondicionantes fracos necessitam de inibidores enzimáticos.

Perdigão *et al.* (2013) em revisão da literatura avaliaram os mecanismos envolvidos na degradação da interface resina-dentina e as formas para prevenção dessa degradação. Os adesivos atuais possuem características de hidrofobicidade e acidez que tornam a camada híbrida mais susceptível a degradação hidrolítica resultando em diminuição da força de união ao longo do

tempo. A presença de fibras colágenas desprotegidas vulneráveis a fadiga mecânica, assim como a degradação por endopeptidases. As MMPs e cisteína catepsinas degradam o colágeno tipo I presente na camada híbrida. Foram apresentados nessa revisão da literatura os métodos mais recentemente utilizados para inibição de proteases.

Schwendicke *et al.* (2013) em meta-análise avaliaram resultados de controles clínicos randomizados para dentes decíduos ou permanentes, comparando as técnicas remoção completa ou incompleta da lesão de cárie. No geral há significativa redução no risco de exposição pulpar para remoção parcial da lesão de cárie em comparação com a remoção total. O risco de insucesso foi semelhante para remoção completa *versus* remoção incompleta da lesão de cárie. Houve variação de 25 a 0,6% de progressão marginal da lesão de cárie para remoção incompleta da lesão nos estudos avaliados. A remoção incompleta da lesão de cárie apresentou mais vantagens em relação a remoção completa, especialmente para lesões próximas a polpa. Entretanto, existe o risco de viés nos estudos avaliados. Mais pesquisas precisam ser realizadas.

Kim e Shin (2014) avaliaram a atividade antibacteriana contra *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) de sistemas adesivos autocondicionantes de um ou dois passos, com ou sem fotoativação, utilizando, teste ágar difusão. A clorexidina e o ácido fosfórico apresentaram atividade antibacteriana maior que os outros grupos, exceto para o primer do sistema adesivo Clearfil SE Bond. Entre os sistemas adesivos testados o Clearfil SE Bond apresentou a atividade antibacteriana mais efetiva contra *S. mutans*. Após fotoativação, a zona de inibição diminuiu para os sistemas adesivos de dois passos, exceto para Contax. Os sistemas adesivos autocondicionantes de um passo não apresentaram zona de inibição sobre fotoativação.

Marchesi *et al.* (2014) avaliaram a força de união na dentina hígida humana, a nanoinfiltração e a atividade de MMP endógena induzida por adesivo do sistema adesivo “multi-mode” (Scotchbond Universal. 3M ESPE, Seefeld, Germany) (SBU), utilizado como autocondicionante ou convencional, em dentina seca ou úmida, comparando com o sistema adesivo convencional de dois passos (Prime&Bond NT. Dentsply DeTrey, Konstanz, Germany) (PBNT), nos períodos 24 horas, 6 meses e 1 ano de estocagem em saliva artificial. Imediatamente não foram encontradas diferenças na força de união entre os grupos estudados. Após

6 meses redução significativa foi encontrada nos grupos SBU utilizado como autocondicionante ou convencional em dentina seca comparando com a força de união encontrada após 24 horas. Nenhuma redução foi encontrada para o PBNT após 6 meses. Após 1 ano de estocagem em saliva artificial SBU utilizado como autocondicionante e PBNT não apresentaram redução significativa na força de união quando comparado com os resultados após 6 meses. A fratura do tipo adesiva foi predominante em todos os grupos e períodos estudados. A estocagem em saliva artificial por 6 meses e 1 ano aumentou a nanoinfiltração em todos os grupos avaliados. Após 1 ano SBU utilizado como autocondicionante apresentou a menor nanoinfiltração entre os grupos. Na análise zimográfica o tratamento com SBU aumentou a expressão de pró formas e formas ativas de MMP-2, e pró formas de MMP-9 quando aplicados em dentina mineralizada (como autocondicionante), ou em dentina desmineralizada (como convencional). PBNT produziu aumento em pró formas e formas ativas de MMP-2.

Goes *et al.* (2014) examinaram a morfologia da interface adesiva e a força de união a microtração dos adesivos autocondicionantes de frasco único Scotchbond Universal (SBU) e de dois passos Clearfil SE Bond (CSE) utilizados com condicionamento seletivo do esmalte ou conforme orientação do fabricante e dos sistemas adesivos Scotchbond Multi-Purpose, convencional de três passos e Excite, convencional de dois passos. Encontraram maiores valores de força de união nos grupos em que o condicionamento foi realizado. Nos grupos de adesivos autocondicionantes que receberam condicionamento observou-se maior força de união e os valores foram semelhantes para o adesivo Scotchbond Multi-Purpose. O adesivo convencional de dois passos utilizado no estudo apresentou menor valor de força de união. Na análise da morfologia interfacial por microscopia eletrônica de varredura, quando o condicionamento foi realizado a interface apresentou leve infiltração do adesivo na superfície do esmalte.

Islam *et al.* (2014) avaliaram o efeito nas propriedades mecânicas da interface adesiva na incorporação de diferentes concentrações de hesperidina (HPN) no primer do sistema adesivo autocondicionante, imediatamente e após um ano. Os grupos foram: primer do sistema adesivo Clearfil SE Bond, o mesmo primer com hesperidina nas concentrações 0,5%, 1%, 2%, 5% e proantocianidinas (PA) derivadas de semente de uva. Foi realizado o teste de força de união. A análise estatística foi realizada utilizando-se ANOVA e Tukey.

Imediatamente a força de união aumentou significativamente para os grupos de concentrações 0,5; 1 e 2% e as propriedades mecânicas da interface adesiva melhoram para as concentrações 1 e 2%. Após um ano os grupos 2 e 5% foram significativamente melhores que o grupo controle. Para o grupo 5% após um ano houve preservação da fibras colágenas. A incorporação de 5% de HPN no primer do sistema adesivo Clearfil SE Bond evitou a degradação do colágeno interfacial e a redução da força de união após um ano de estocagem em saliva artificial.

Lenzi *et al.* (2014) investigaram o efeito do método químico e microbiológico de indução da lesão de cárie na força de união a microtração utilizando os sistemas adesivos: Adper Single Bond 2 e Clearfil SE Bond, em dentes decíduos imediatamente. Os resultados foram analisados por ANOVA complementados por Tukey. Os valores de força de união obtidos para a dentina cariada artificialmente foram menores que os obtidos em dentina hígida, mas isso não possui relação com o método de indução da cárie realizado. A fratura do tipo adesiva/mista foi predominante. Fratura prematura não ocorreu na dentina hígida. Não foram observadas diferenças estatísticas na efetividade adesiva observada entre os sistemas. Os métodos químico e microbiológico apresentaram-se viáveis para simular a dentina cariada nos testes de adesão em dentes decíduos, independente do sistema adesivo.

Bahari *et al.* (2014) avaliaram o efeito do pré-tratamento da dentina cariada ou hígida com fosfopeptídeo caseína (CPP) e fosfato de cálcio amorfo (ACP) na força de união dos sistemas adesivos convencional ou autocondicionante imediatamente. Os resultados foram avaliados por ANOVA e Tukey. A força de união na dentina hígida foi maior que na dentina cariada e na dentina cariada tratada com CPP. Não houve diferenças estatísticas na força de união do sistema adesivo Single Bond na dentina cariada e dentina cariada tratada com CPP. A força de união do sistema adesivo Clearfil SE Bond na dentina cariada tratada com CPP foi maior que na dentina cariada, contudo, a diferença não foi significativa. Diferenças significantes foram encontradas entre os sistemas adesivos apenas no substrato cariado. A força de união do sistema adesivo Single Bond na dentina cariada foi maior comparada o sistema adesivo Clearfil SE Bond.

Schwendicke *et al.* (2015) compararam o efeito da utilização de diferentes sistemas adesivos (OptiBond FL, Clearfil SE Bond e G-aenial Bond) e

resinas compostas (resina reforçada com fibras EverX e Filtek Z250) nas propriedades mecânicas, integridade marginal e microinfiltração de dentes escavados seletivamente *in vitro*. A integridade marginal foi significativamente influenciada pelo tipo de sistema adesivo empregado. Nenhum dos sistemas adesivos ou compósito influenciou na profundidade de infiltração em esmalte ou dentina. A resistência a fratura foi significativamente influenciada pelo sistema adesivo ou compósito. E foi maior nos dentes em que foi utilizado o sistema adesivo OptiBond FL comparado com Clearfil SE Bond ou G-aenial Bond e o compósito reforçado com fibras EverX comparado a Filtek Z250. Os sistemas adesivos apresentaram bons resultados na dentina cariada com remoção parcial da lesão. O compósito reforçado com fibras aumentou a resistência a fratura dos dentes. A utilização de materiais adaptados para tecidos altamente desmineralizados pode atenuar os efeitos adversos da manutenção do tecido cariado na cavidade.

Mazzoni *et al.* (2015) descreveu em revisão da literatura a função das MMP e cisteína catepsinas na lesão de cárie, na degradação da camada híbrida e explorou o potencial terapêutico dos inibidores de protease para o desenvolvimento de melhores estratégias de intervenção nas doenças orais. Observou-se na dentina cariada diminuição das propriedades mecânicas e redução na capacidade de remineralização tecidual. Além disso durante a hibridização os sistemas adesivos podem ativar proformas das proteases endógenas contribuindo para a degradação da camada híbrida. Existem estudos testando inibidores de proteases que mostram-se promissores. Contudo, novos estudos são necessários para efetivamente inibir a atividade das MMPs, prevenir o desenvolvimento de lesões de cárie e aumentar a estabilidade dos biomateriais na interface adesiva.

Alex (2015) estudou a relevância clínica da nova modalidade de adesivos dentinários. Verificou-se que os adesivos universais possuem características que o tornam uma opção atraente. Principalmente, os que contêm o monômero ácido funcional 10-MDP em sua composição. Existem ainda certos critérios a serem considerados para o uso dos sistemas adesivos. Sendo eles: A adequada evaporação dos solventes antes da fotopolimerização a fim de evitar a polimerização incompleta, nanoinfiltração, seguir as orientações dos fabricantes de cada sistema adesivo e verificar a data de validade desses produtos.

Lenzi *et al.* (2015) avaliaram a adesão do sistema adesivo universal Scotchbond Universal na dentina cariada e hígida (utilizando as técnicas de condicionamento ácido total em dentina seca ou úmida ou a técnica autocondicionante) de dentes decíduos através do teste de microtração e nanoinfiltração, imediatamente. A lesão de cárie foi confeccionada nos espécimes através do modelo químico. Para análise da microinfiltração foram utilizados os testes de ANOVA e Tukey. Para avaliar a microinfiltração foram utilizados os testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney. A técnica autocondicionante resultou em menor valor de força de união na dentina hígida. Não foram encontradas diferenças entre as técnicas adesivas empregadas na dentina cariada. Os valores de força de união obtidos na dentina cariada foram menores em comparação com a dentina hígida exceto para a técnica autocondicionante. Houve predominância de fraturas do tipo adesiva/mista para todos os grupos.

Schwendicke *et al.* (2015)^b buscaram validar o protocolo para indução de lesões de cárie artificiais residuais apropriado para estudos futuros dos efeitos mecânicos da excavação seletiva como por exemplo: a permanência da cárie na cavidade ou remineralização da lesão residual em diferentes profundidades. As lesões induzidas utilizando-se ácido acético por 35 dias não diferiu significativamente das lesões de cárie naturais. Porém, as outras lesões diferiram em um ou mais parâmetros comparada a lesão natural residual. Não houve diferenças significantes no perfil de nanodureza de todos os tipos de lesão avaliados.

Zheng *et al.* (2015) avaliaram a influência do pré-tratamento com as soluções de clorexidina 2%, extrato de chá verde 0,05%, 1 mM FeSO₄ ou 0,2 mM de galardina, após nove meses de estocagem em saliva artificial na força de união a microtração dos sistemas adesivos de três passos Optibond FL ou autocondicionante de dois passos Clearfil SE Bond. Para o sistema adesivo convencional de três passos, exceto FeSO₄, apresentou valores de força de união após nove meses semelhante aos valores iniciais. Para o sistema adesivo autocondicionante não houve diferenças estatísticas na resistência de união após a utilização de qualquer inibidor avaliado. Os inibidores de protease preservaram a força de união após nove meses para os sistemas adesivos avaliados.

Shibata *et al.* (2016) comparam após 24 horas a força de união a microtração de sistemas adesivos atuais (Clearfil Mega Bond (MB), G-Bond Plus

(GB) e Adper Easy Bond (EB)) e um sistema adesivo experimental (MTB-200 (MTB)) na dentina afetada (CAD) ou hígida (ND). Utilizaram aparelho portátil de aferição de dureza padronizado de acordo com a dureza Knoop dentinária. A interface adesiva (camada híbrida) foi examinada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os resultados foram analisados por ANOVA complementado pelo teste Games-Howell. As fraturas foram classificadas em adesiva, coesiva em dentina ou resina e mista. O grupo que apresentou maior força de união foi MB-ND seguido por MB-CAD, GB-ND, MTB-ND e EB-ND. EB-ND foi semelhante a GB-CAD. GB-CAD, MTB-CAD e EB-CAD não foram diferentes estatisticamente. A falha adesiva foi predominante em todos os grupos avaliados.

Carvalho *et al.* (2016) avaliaram o efeito de dois inibidores de metaloproteinases: clorexidina e chá verde na durabilidade adesiva do sistema adesivo convencional (Adper Single Bond 2), na dentina cariada, após 24 horas e seis meses de estocagem e água. Os resultados foram analisados por ANOVA complementados pelo teste de Tukey. Após 24 horas não houve diferenças estatísticas entre os grupos. Após seis meses o grupo em que foi aplicado o chá verde apresentou maiores valores de força de união. A solução de chá verde foi capaz de aumentar a força de união na dentina cariada ao longo do tempo.

Gunaydin *et al.* (2016) avaliaram clinicamente e *in vitro* a eficácia do pré-tratamento com clorexidina 2% na força de união a microtração de diferentes sistemas adesivos (Adper Single Bond 2, Clearfil SE, Clearfil S³ e Adper Prompt-L-Pop) na dentina hígida, imediatamente e após 6 meses. Para análise estatística foi utilizado o teste ANOVA. Comparações emparelhadas foram analisadas pelo teste Bonferroni. Resultados do modo de fratura foram submetidos a análise de Pearson. Para todos os grupos os valores de força de união obtida imediatamente foi maior que a obtida após seis meses. A força de união *in vitro* foi maior que a força de união *in vivo* para os grupos tratados com clorexidina. Imediatamente todos os grupos sem pré-tratamento apresentaram maior força de união comparados aos grupos em que o pré-tratamento foi realizado. Após seis meses os grupos sem tratamento apresentaram menor força de união.

Yang *et al.* (2016) exploraram o efeito da aplicação da catequina EGCG e EWB (*etanol wet bonding* – técnica em que o etanol é utilizado para substituir a água que sustenta a rede de colágeno na dentina desmineralizada) na resistência de união do sistema adesivo após 24 horas. A maior força de união a

microtração e menor nanoinfiltração após termociclagem foi observada no grupo EWB associado a EGCG 0,02%. O padrão de fratura dominante para todos os grupos foi a fratura adesiva. Após termociclagem a frequência de fraturas tipo mista aumentou para todos os grupos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética da PUC – Campinas número do protocolo: 1.203.078 (Anexo A).

Seleção da amostra

Foram selecionados 80 terceiros molares permanentes não erupcionados da Clínica Odontológica da PUC-Campinas com Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado pelos respectivos pacientes doadores.

O cálculo do tamanho da amostra foi feito utilizando o teste de ANOVA, com diferença mínima entre as médias dos tratamentos de 0.23, desvio padrão do erro de 0.25, número de tratamentos de 4, poder do teste de 0.80. O número de dentes necessários por grupo calculado foi de 15.

Os critérios de inclusão da amostra foram:

- Terceiros molares permanentes não erupcionados;
- Ausência de trincas ou fraturas examinadas por lupa com aumento de 10X.

Os critérios de exclusão da amostra foram:

- Terceiros molares permanentes erupcionados;
- Terceiros molares permanentes com trincas ou fraturas examinadas por lupa com aumento de 10X.

Os dentes selecionados foram armazenados em 0,5% de cloramina T (LabCenter, São Paulo, Brasil) (MARCHESI *et al.*, 2014). Os espécimes tiveram suas faces oclusais removidas com disco diamantado dupla face (KG Sorensen, Cotia, Brasil) (Figura 1) e foram lixados com auxílio de lixas d'água de carboneto de silício de granulação decrescente (Norton, Guarulhos, Brasil), sob refrigeração, adaptadas a uma politriz (Buehler, Illinois, Estados Unidos), de modo que houvesse a exposição de uma superfície plana dentinária. Foram utilizadas lixas de granulação 120 e 240 (Buehler, Illinois, Estados Unidos) para expor a dentina. Em seguida, foi utilizada lixa 400 (Buehler, Illinois, Estados Unidos) por 10 segundos e lixa 600 (Buehler, Illinois, Estados Unidos) por 60 segundos e uma camada de esfregaço padrão foi criada (ISLAM *et al.*, 2014). Após a obtenção das

superfícies desejadas, os dentes foram lavados em água corrente e imersos em água destilada sob refrigeração até o momento do uso.

Figura 1. Remoção do terço oclusal (terceiros molares)



Confecção da lesão de cárie

Foi feita a impermeabilização das amostras com resina epóxi (Araldite, São Bernardo do Campo, Brasil) e esmalte cosmético para unha (Colorama, São Paulo, Brasil), exceto na superfície dentinária. Os espécimes foram autoclavados (Sercon, São Paulo, Brasil) por 15 minutos a 121°C e 1 atm (CARVALHO *et al.*, 2008). Para simular a lesão de cárie em dentina, os dentes foram colocados em tubos de ensaio estéreis com meio de sobrevivência Brain Heart Infusion (BHI) (LabCenter, São Paulo, Brasil) suplementado com 0,5% de extrato de levedura (LabCenter, São Paulo, Brasil), 0,5% de glicose e 1% de sacarose (LabCenter, São Paulo, Brasil). A cepa padrão de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 (Fundação André Tosello, Campinas- SP, Brasil) padronizada na escala 0,5 de MacFarland foi introduzida no BHI (LabCenter, São Paulo, Brasil). As amostras foram incubadas a 36°C por 14 dias em jarras contendo envelopes geradores de anaerobiose (LabCenter, São Paulo, Brasil), em atmosfera contendo 85% de nitrogênio (N₂), 10% de dióxido de carbono (CO₂) e de 5% de hidrogênio (H₂) e armazenadas em estufa bacteriológica. Durante o transcorrer dos 14 dias, o meio de sobrevivência BHI (LabCenter, São Paulo, Brasil) foi renovado a cada 24 horas (adaptado de Carvalho *et al.*, 2008) (Figuras 2, 3, 4, 5, 6 e 7).

Figura 2. Meio de cultura e suplementos



Figura 3. Processamento microbiológico (fluxo laminar)

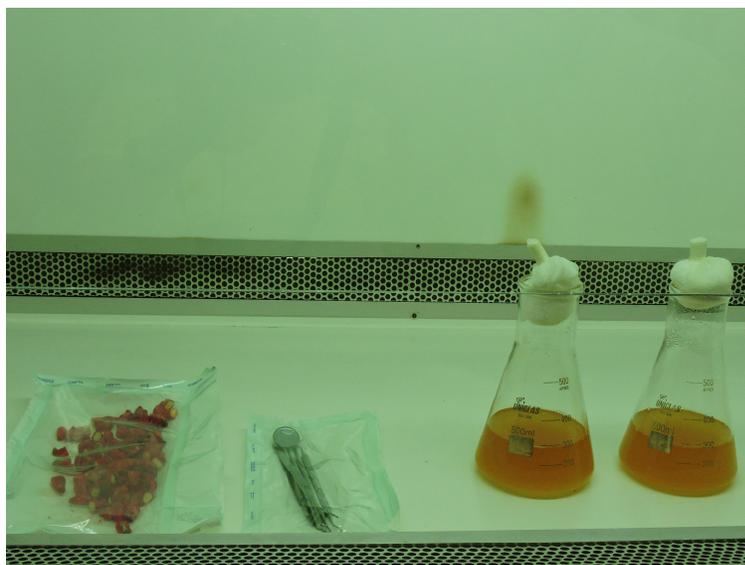


Figura 4. Processamento microbiológico (confeção da lesão de cárie)



Figura 5. Jarras em estufa (36°C)



Figura 6. Aferição do pH



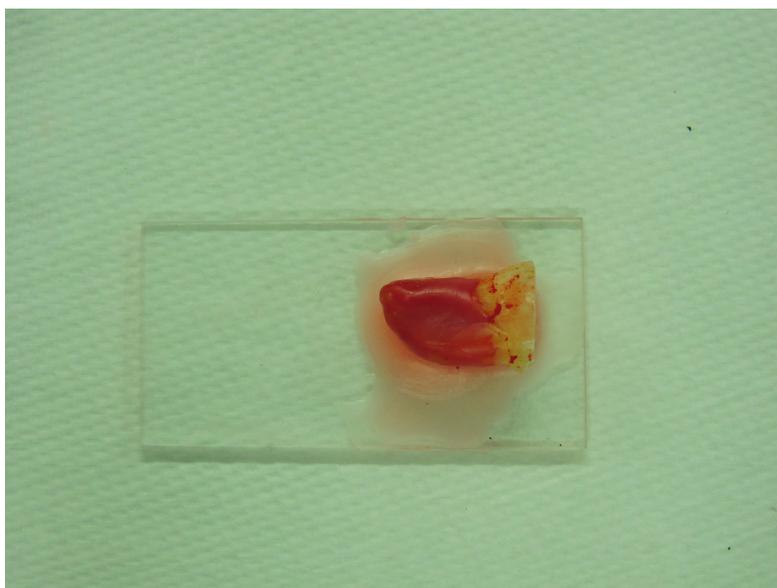
Figura 7. Lesão de cárie



Grupos amostrais

Em todos os espécimes foi realizada a remoção da dentina infectada com curetas estéreis (SS White, Rio de Janeiro, Brasil). O critério utilizado para remoção foi de acordo com (BANERJEE *et al.*, 2000, SCHWENDICKE *et al.*, 2013, SCHWENDICKE *et al.*, 2015) que relataram que a dentina infectada (úmida, amolecida) deve ser removida e a dentina afetada deve permanecer na cavidade (seca e em lascas). O padrão superficial obtido não foi linear. Foi realizada a remoção radicular de todos os espécimes em uma cortadeira metalográfica. (Figura 8).

Figura 8. Dente embutido em placa acrílica para remoção radicular



Os grupos experimentais para o teste de adesão foram divididos aleatoriamente (www.random.org) da seguinte forma (n=20) (Tabela 1):

Tabela 1. Composição e modo de aplicação dos materiais utilizados

Material	Componentes principais	pH	Modo de aplicação
Sistema adesivo Clearfil SE Bond (Kuraray Noritake Dental; Sakazu, Kurashiki,	Primer: 10-MDP, HEMA, dimetacrilato hidrofílico, dl-canforoquinona, N,N-dietanol-p-	2.0	1. Aplicação do primer na superfície dentinária seca de forma ativa por 20 s; 2. Aplicação de leve

Okayama, Japan) Nº Lote Primer: 9N0168 Adesivo: 9U0269	toluidina, água. Adesivo: 10-MDP, bis-GMA, HEMA, dimetacrilato hidrofóbico, di- canforoquinona, N,N-diethanol-p- toluidine, sílica coloidal silanizada		jato de ar por 5 s; 3. Aplicação do adesivo; 4. Aplicação de leve jato de ar por 5 s; 5. Fotoativação por 10 s
Bicarbonato de sódio (Biodinâmica Química e Farmacêutica LTDA; Ibiporã, Paraná, Brasil) Nº Lote: 321/15	Bicarbonato de sódio (NaHCO ₃) e Aromatizantes	8.0	Diluição: 200mg de bicarbonato de sódio diluídos em 10ml de soro fisiológico. 1. Aplicação ativa na superfície dentinária seca por 60 s; 2. Remoção do excesso com filtro de papel absorvente
Clorhexidina s (FGM Dentscare LTDA; Joinville, Santa Catarina, Brasil) Nº Lote: 050815	Digluconato de Clorhexidina 2%, Água Deionizada e Surfactante Volátil	Entre 5.5 a 7	1. Aplicação ativa na superfície dentinária seca por 60 s; 2. Remoção do excesso com filtro de papel absorvente
Filtek Z350 XT (3M ESPE; St Paul, MN, EUA) Nº Lote: 1535700494	Cerâmica tratada com silano, bisfenol A diglicidil éter dimetacrilato (BIS- GMA), bisfenol A polietileno glicol diéter dimetacrilato (BIS-EMA), sílica tratada com silano, sílica-óxido de zircônia tratado com silano, diuretano dimetacrilato, dimetacrilato polietilenoglicol, dimetacrilato de trietileno glicol (TEG-DMA), 2,6-di- terc-butil-p-cresol (BHT) e pigmentos	—	1. Confecção dos blocos de resina composta através da técnica incremental. 2. Fotoativação por 40 s

- Grupo 1: aplicação do sistema adesivo Clearfil SE Bond (Kuraray Noritake Dental; Sakazu, Kurashiki, Okayama, Japan) de acordo com as instruções do fabricante;

- Grupo 2: aplicação ativa de 10 µl de clorexidina 2.0% (FGM Dentscare LTDA; Joinville, Santa Catarina, Brasil) por 60 segundos, remoção do excesso com filtro de papel absorvente e aplicação do sistema adesivo Clearfil SE Bond (Kuraray Noritake Dental; Sakazu, Kurashiki, Okayama, Japan) de acordo com as instruções do fabricante.

Para aplicação nos grupos 3 e 4 foi realizada a diluição de 200 mg de bicarbonato de sódio (Biodinâmica, Ibiporã, Brasil) em 10 ml de soro fisiológico obtendo-se uma solução de bicarbonato de sódio 2% para aplicação no tecido cariado remanescente.

- Grupo 3: aplicação ativa de 10 µl de bicarbonato de sódio 2% (Biodinâmica, Ibiporã, Brasil) por 60 segundos, remoção do excesso com filtro de papel absorvente e aplicação do sistema adesivo Clearfil SE Bond – (Kuraray Noritake Dental; Sakazu, Kurashiki, Okayama, Japan) de acordo com as instruções do fabricante.

- Grupo 4: aplicação ativa de 10 µl de bicarbonato de sódio 2% (Biodinâmica, Ibiporã, Brasil) por 60 segundos, remoção do excesso com filtro de papel absorvente, aplicação ativa de 10 µl de clorexidina 2.0% (FGM Dentscare LTDA; Joinville, Santa Catarina, Brasil) por 60 segundos + remoção do excesso com filtro de papel absorvente e aplicação do sistema adesivo Clearfil SE Bond – (Kuraray Noritake Dental; Sakazu, Kurashiki, Okayama, Japan) de acordo com as instruções do fabricante. (Figuras 9 e 10).

Figura 9. Materiais utilizados (Inibidores e sistema adesivo)



Figura 10. Aplicação do sistema adesivo Clearfil SE Bond



Após a aplicação do sistema adesivo, um bloco de resina composta Z350 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) de aproximadamente 4 mm (Figura 11), foi confeccionado pela técnica incremental em dentina, sendo cada camada, de aproximadamente 1 mm, inserida de forma paralela entre si e perpendicular ao longo eixo do dente, fotoativada por 40 segundos.

Figura 11. Paquímetro Eletrônico digital (confeção do bloco de resina composta)



O aparelho fototivador (Gnatus, Ribeirão Preto, Brasil) utilizado possuía intensidade de aproximadamente 1200 mW/cm², medida por radiômetro (Curing Light, Brasília, Brasil), ao início de cada grupo (Figura 12).

O teste de microtração foi realizado imediatamente em 10 espécimes de cada grupo e após seis meses de estocagem em água destilada nos 10 espécimes restantes (Lenzi et al., 2015).

Figura 12. Verificação da intensidade da luz (fotopolimerizador)



Obtenção dos corpos de prova

Os dentes foram embutidos em placas acrílicas e cera pegajosa (Kota, Cotia, Brasil) (Figura 13) com auxílio de gotejador (Kota, Cotia, Brasil). Cada bloco dente/adesivo/resina foi seccionado com disco diamantado acoplado à máquina de corte (Buehler, Illinois, Estados Unidos) (Figura 14) em planos paralelos, seguindo o longo eixo do dente, no sentido vestibulo-lingual dando origem a fatias (Figura 15). Três fatias de cada dente foram selecionadas aleatoriamente e acopladas em placas acrílicas para a obtenção dos palitos (Figura 16). Posteriormente, cortes sequenciais no sentido méso-distal foram feitos obtendo-se corpos de prova em forma de palito, com área de secção transversal de aproximadamente 1 mm².

Cada corpo de prova foi observado em lupa estereoscópica (Opton, Cotia, Brasil) com 40 X de aumento para verificar se a interface adesiva estava perpendicular ao longo eixo do corpo de prova.

Figura 13. Espécimes embutidos com cera pegajosa

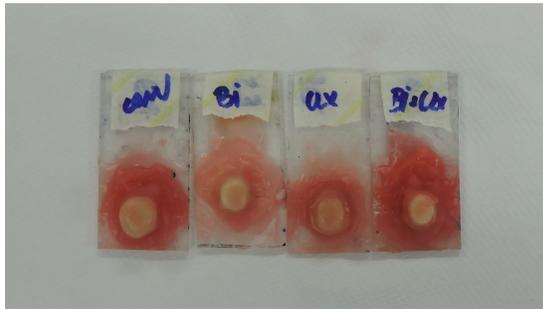


Figura 14. Espécime embutido em placa acrílica para corte

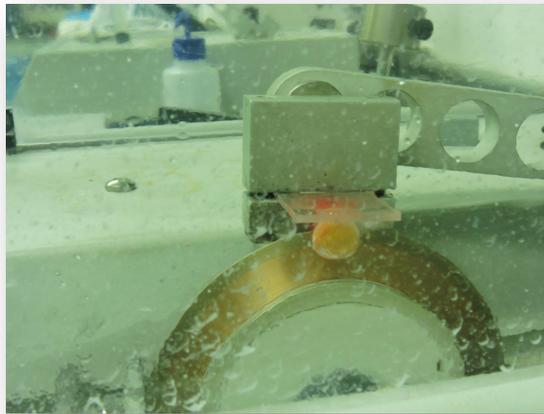


Figura 15. Fatias de um elemento dental



Figura 16. Fatia embutida em placa acrílica com cera pegajosa

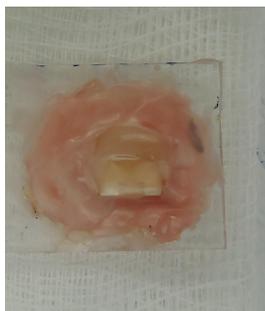
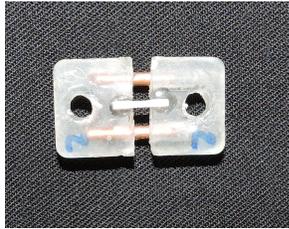


Figura 17. Palito posicionado em dispositivo de microtração



Teste de microtração

Previamente ao ensaio de microtração, cada corpo de prova teve a sua largura e espessura medidas com paquímetro digital (Mitutoyo, Suzano, São Paulo) com precisão de 0,01 mm. As extremidades dos corpos de prova foram fixadas no dispositivo de microtração de forma a posicionar a área adesiva perpendicularmente ao longo eixo da força de tração (Figura 17). Foi utilizada a máquina de ensaios universal (Instron, São José dos Pinhais, Brasil) e tracionado a uma velocidade de 0,5 mm/min até que ocorresse a fratura (Figuras 18 e 19). Nesse momento, o valor da carga de ruptura em Newtons (N) foi registrado e o corpo de prova observado em lupa estereoscópica com 40X de aumento para verificar o tipo de fratura, classificada como fratura na interface, coesiva em dentina ou coesiva em resina. Apenas os espécimes que apresentaram fratura adesiva/mista (interface) foram utilizados no cálculo da resistência de união e a carga de ruptura de cada corpo de prova foi dividida por sua área de união. O teste de microtração foi feito imediatamente e após seis meses da confecção dos corpos de prova.

Para análise estatística, os resultados do teste de microtração obtidos foram convertidos para Mega Pascal (MPa) e cada dente foi considerado como uma unidade amostral. Após o teste de adesão todos os espécimes foram observados em lupa estereoscópica (Opton, Cotia, Brasil) com 40 X de aumento para determinar o tipo de fratura em porcentagem de acordo com Lenzi *et al.* (2015). A avaliação do tipo de fratura foi feita por escores da seguinte forma:

- Escore 1: Fratura adesiva/mista;
- Escore 2: Fratura coesiva em dentina (fratura exclusivamente em dentina);

- Escore 3: Fratura coesiva em resina (fratura exclusivamente no compósito resinoso);
- Escore 4: Fratura prematura.

Figura 18. Máquina de ensaios universal

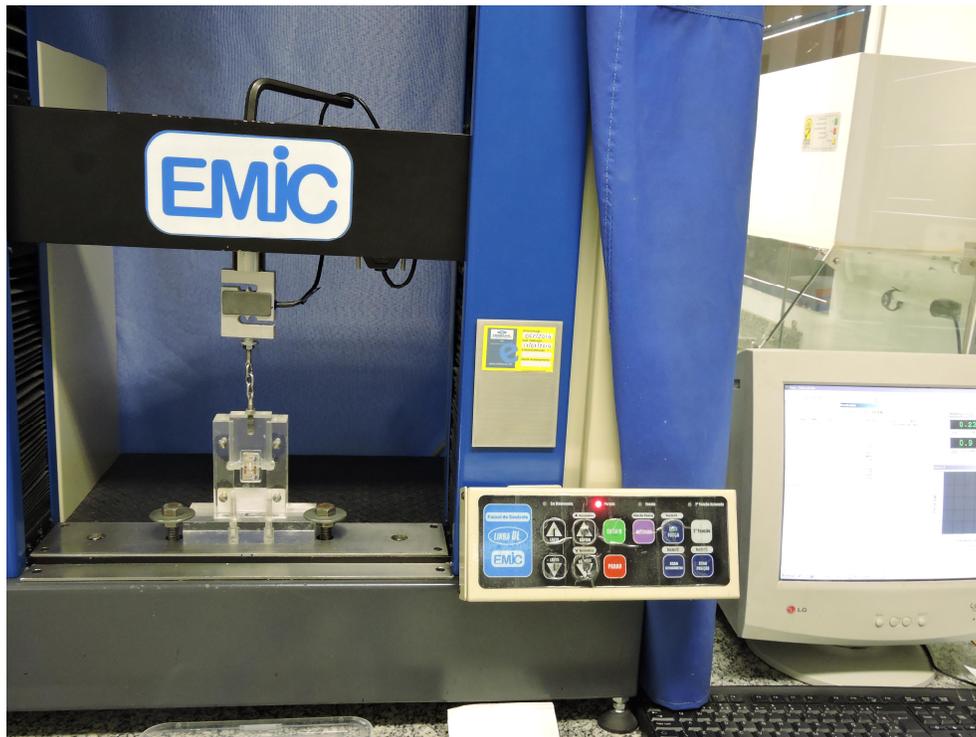
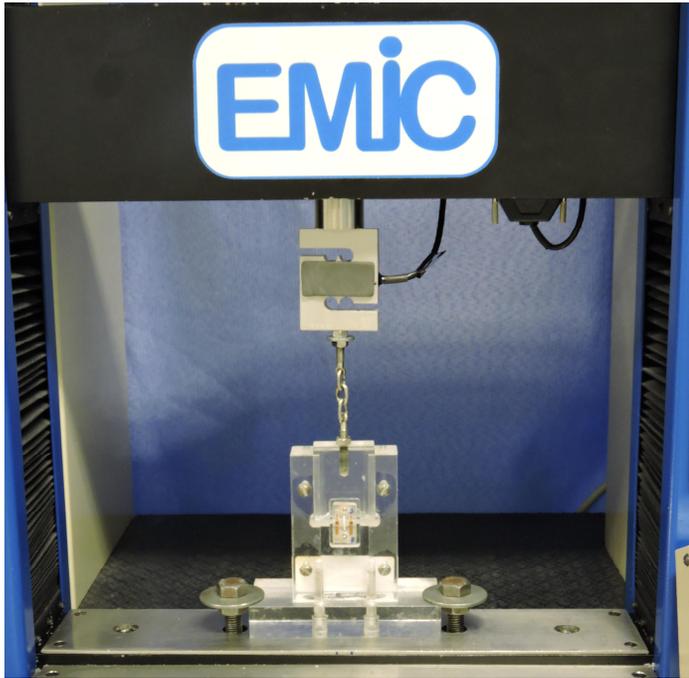


Figura 19. Teste de microtração



2.1. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram submetidos aos testes de normalidade e homogeneidade para verificar a possível utilização de testes paramétricos ou não paramétricos no programa Biostat 4.0. Foi feito o teste de normalidade de D'Agostino e a amostra apresentou comportamento não paramétrico. Dessa forma, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis complementado por Student-Newman-Keuls e Mann Whitney.

3. RESULTADOS

IMEDIATO

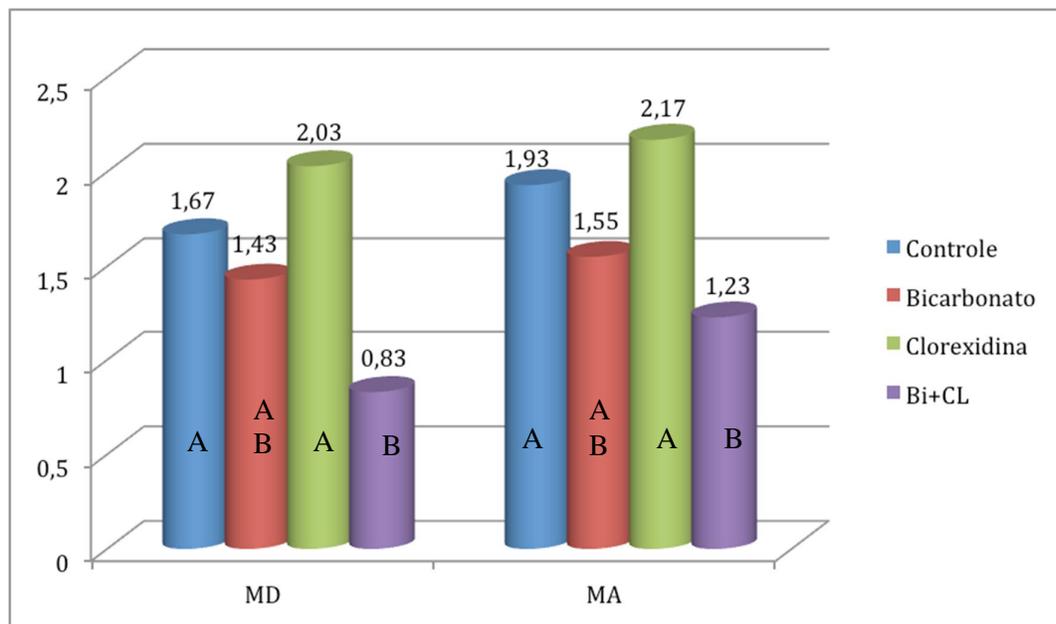
Não houve diferença significativa na resistência de união entre os grupos controle e clorexidina ($p>0.05$). O bicarbonato não apresentou diferença significativa em relação ao controle, clorexidina e ao grupo contendo a utilização da associação bicarbonato e clorexidina ($p>0.05$). A associação do bicarbonato com a clorexidina acarretou em diminuição significativa da resistência de união em relação aos grupos controle e clorexidina ($p<0.05$) (Tabela 2 e Gráfico 1).

Tabela 2. Medianas (MD), desvios interquartílicos (DI), médias aritméticas (MA), desvios padrão (DP) e análise estatística de Kruskal-Wallis (KW) complementado por Student-Newman-Keuls da resistência de união dos grupos amostrais (MPa) - IMEDIATO

	Controle	Bicarbonato	Clorexidina	Bi + CLX
N (dentes)	20	19	19	19
MD (DI)	1.67 (1.67)A	1.43 (1.07)AB	2.03 (1.51)A	0.83 (0.83)B
MA (DP)	1.93 (1.19)	1.55 (0.83)	2.17 (1.63)	1.23 (1.19)
Valor p-KW	0.0337			

Letras diferentes: $p<0.05$

Gráfico 1. Medianas (MD), médias aritméticas (MA) e análise estatística de Kruskal-Wallis (KW) complementado por Student-Newman-Keuls da resistência de união dos grupos amostrais (MPa) - IMEDIATO



Letras diferentes: $p < 0.05$

Não houve diferença significativa nos tipos de padrão de fratura entre os grupos ($p > 0.05$) (A) (Tabela 3).

Tabela 3. Medianas (MD), desvios interquartílicos (DI), médias aritméticas (MA), desvios padrão (DP) e análise estatística de Kruskal-Wallis (KW) complementado por Student-Newman-Keuls dos tipos de padrão de fratura entre os grupos amostrais (MPa) - IMEDIATO

	Controle	Bicarbonato	Clorexidina	Bi + CLX
MD (DI)	1.00 (0.00)A	1.00 (3.00)A	1.00 (3.00)A	1.00 (3.00)A
MA (DP)	1.63 (1.21)	1.96 (1.38)	1.98 (1.38)	1.90 (1.35)
Valor p-KW	0.3270			

Letras iguais: $p > 0.05$

ANÁLISE DO MODO DE FRATURA

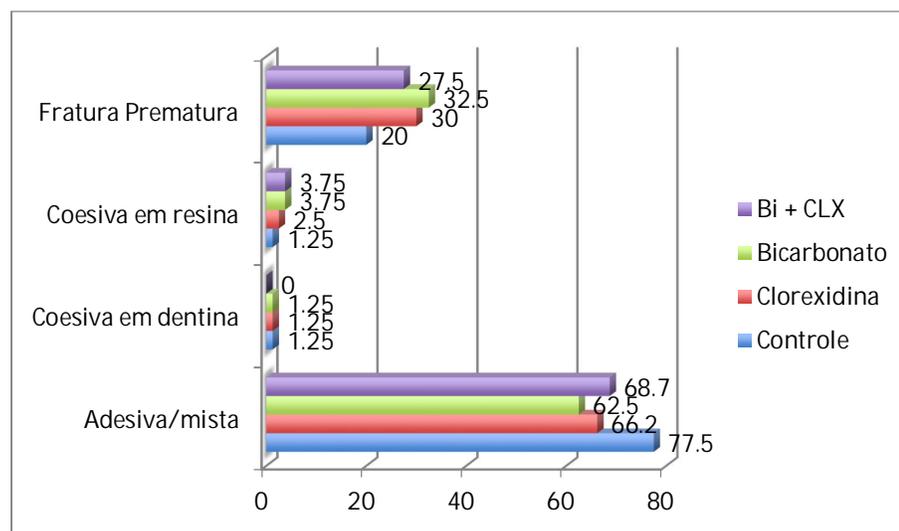
Houve predominância de fraturas adesiva/mista em todos os grupos. No grupo controle observou-se 77,5 % de fratura tipo adesiva/mista, no grupo em que foi aplicado o bicarbonato de sódio 62,5%, clorexidina 66,2% e bicarbonato de sódio associado a clorexidina 68,7% (Tabela 4 e Gráfico 2).

Tabela 4. Porcentagem do modo de fratura nos grupos experimentais

	Controle	Bicarbonato	Clorexidina	Bi + CLX
Adesiva/mista	77.5%	62.5%	66.2%	68.7%
Coesiva em dentina	1.25%	1.25%	1.25%	0
Coesiva em resina	1.25%	3.75%	2.5%	3.75%
Fratura Prematura	20%	32.5%	30%	27.5%

-IMEDIATO

Gráfico 2. Porcentagem do modo de fratura - IMEDIATO



6 MESES

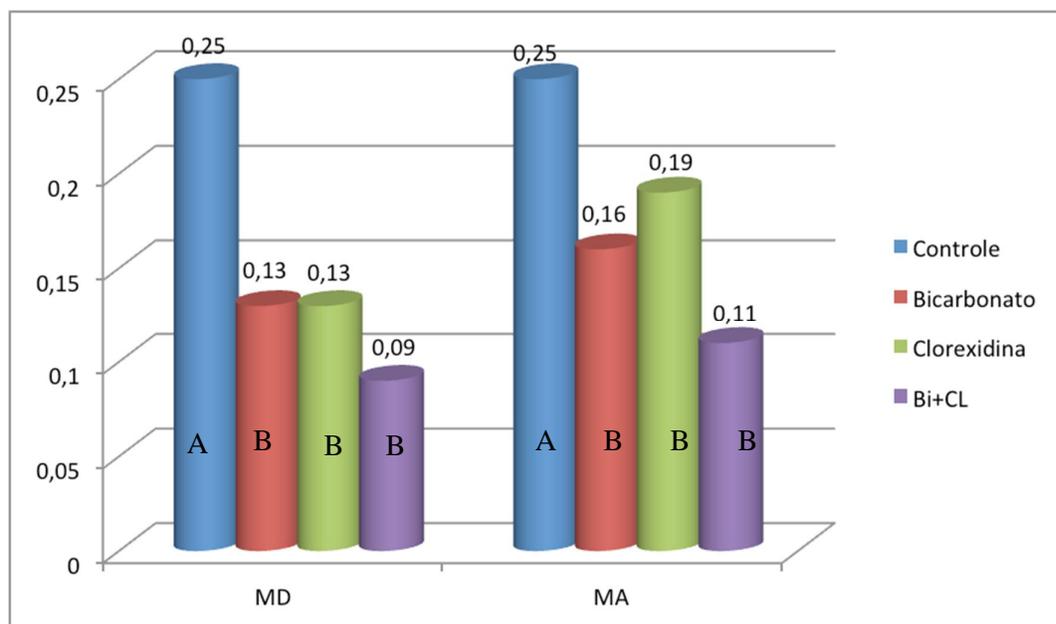
A maior resistência de união após 6 meses ocorreu no grupo controle com diferenças estatisticamente significantes em relação aos outros grupos ($p < 0.05$). Não houve diferença significativa na resistência de união entre os grupos bicarbonato, clorexidina e bicarbonato associado com clorexidina ($p > 0.05$) (Tabela 5 e Gráfico 3).

Tabela 5. Medianas (MD), desvios interquartílicos (DI), médias aritméticas (MA), desvios padrão (DP) e análise estatística de Kruskal-Wallis (KW) complementado por Student-Newman-Keuls da resistência de união dos grupos amostrais (MPa) – APÓS 6 MESES

	Controle	Bicarbonato	Clorexidina	Bi + CLX
N (dentes)	19	20	20	18
MD (DI)	0.25 (0.14)A	0.13 (0.11)B	0.13 (0.16)B	0.09 (0.07)B
MA (DP)	0.25 (0.12)	0.16 (0.10)	0.19 (0.18)	0.11 (0.10)
Valor p-KW	0.0035			

Letras diferentes: $p < 0.05$

Gráfico 3. Medianas (MD), médias aritméticas (MA) e análise estatística de Kruskal-Wallis (KW) complementado por Student-Newman-Keuls da resistência de união dos grupos amostrais (MPa) – APÓS 6 MESES



Letras diferentes: $p < 0,05$

Não houve diferença significativa nos tipos de padrão de fratura entre os grupos após 6 meses ($p > 0,05$) (Tabela 6).

Tabela 6. Medianas (MD), desvios interquartílicos (DI), médias aritméticas (MA), desvios padrão (DP) e análise estatística de Kruskal-Wallis (KW) complementado por Student-Newman-Keuls dos tipos de padrão de fratura entre os grupos amostrais (MPa) – APÓS 6 MESES

	Controle	Bicarbonato	Clorexidina	Bi + CLX
MD (DI)	1.00 (0.00)A	1.00 (3.00)A	1.00 (3.00)A	1.00 (4.00)A
MA (DP)	1.46 (0.94)	1.81 (1.26)	1.85 (1.27)	1.98 (1.39)
Valor p-KW	0.1056			

Letras iguais: $p > 0,05$

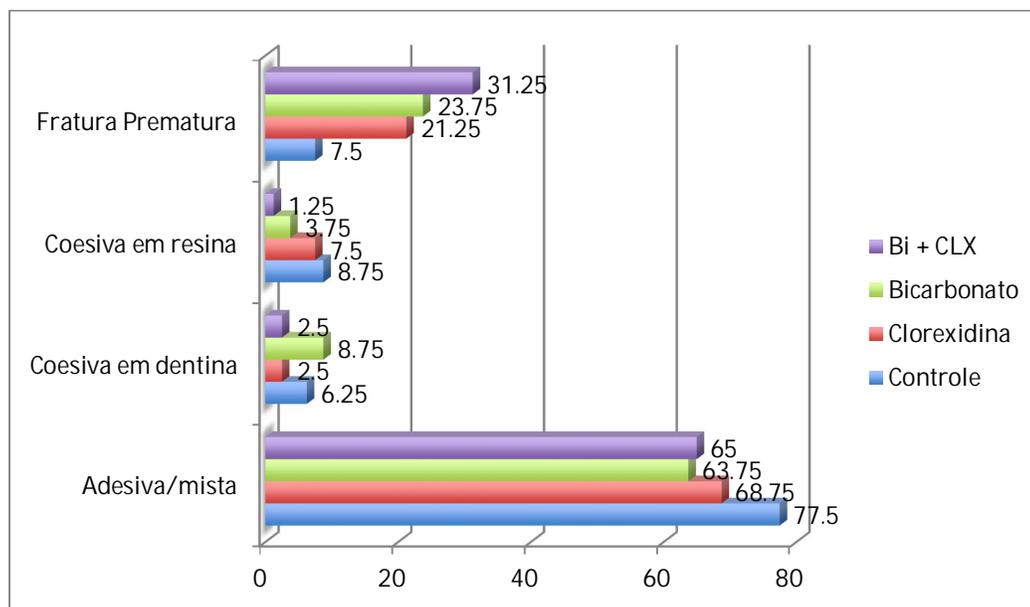
ANÁLISE DO MODO DE FRATURA

Houve predominância de fraturas adesiva/mista em todos os grupos. No grupo controle observou-se 77, 5 % de fratura tipo adesiva/mista, no grupo em que foi aplicado o bicarbonato de sódio 63, 75%, clorexidina 68, 75% e bicarbonato de sódio associado a clorexidina 65% (Tabela 7 e Gráfico 4).

Tabela 7. Porcentagem do modo de fratura nos grupos experimentais - APÓS SEIS MESES

	Controle	Bicarbonato	Clorexidina	Bi + CLX
Adesiva/mista	77.5%	63.75%	68.75%	65%
Coesiva em dentina	6.25%	8.75%	2.5%	2.5%
Coesiva em resina	8.75%	3.75%	7.5%	1.25%
Fratura Prematura	7.5%	23.75%	21.25%	31.25%

Gráfico 4. Porcentagem do modo de fratura – APÓS SEIS MESES



COMPARAÇÕES IMEDIATO E 6 MESES

Houve redução significativa na resistência de união após 6 meses em todos os grupos ($p < 0.0001$) (Tabela 8).

Tabela 8. Medianas (MD), desvios interquartílicos (DI), médias aritméticas (MA), desvios padrão (DP) e análise estatística de Mann Whitney da resistência de união dos grupos amostrais (MPa)

	Controle		Bicarbonato		Clorexidina		Bi + CLX	
	Antes	6 meses	Antes	6 meses	Antes	6 meses	Antes	6 meses
MD	1.67	0.25	1.43	0.13	2.03	0.13	0.83	0.09
(DI)	(1.67)A	(0.14)B	(1.07)A	(0.11)B	(1.51)A	(0.16)B	(0.83)A	(0.07)B
MA	1.93	0.25	1.55	0.16	2.17	0.15	1.23	0.11
(DP)	(1.19)A	(0.12)B	(0.83)A	(0.10)B	(1.63)A	(0.18)B	(1.19)A	(0.10)B
p-MW	<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001	

Letras diferentes: $p < 0.05$

Gráfico 5. Medianas (MD), e análise estatística de Kruskal-Wallis (KW) complementado por Student-Newman-Keuls da resistência de união dos grupos amostrais (MPa) – IMEDIATO E APÓS 6 MESES

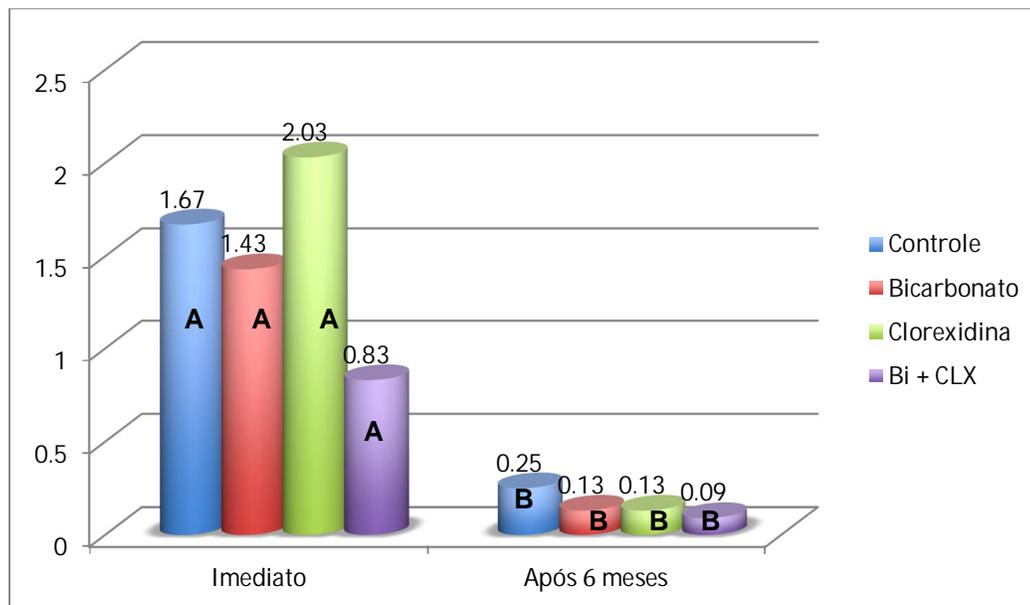
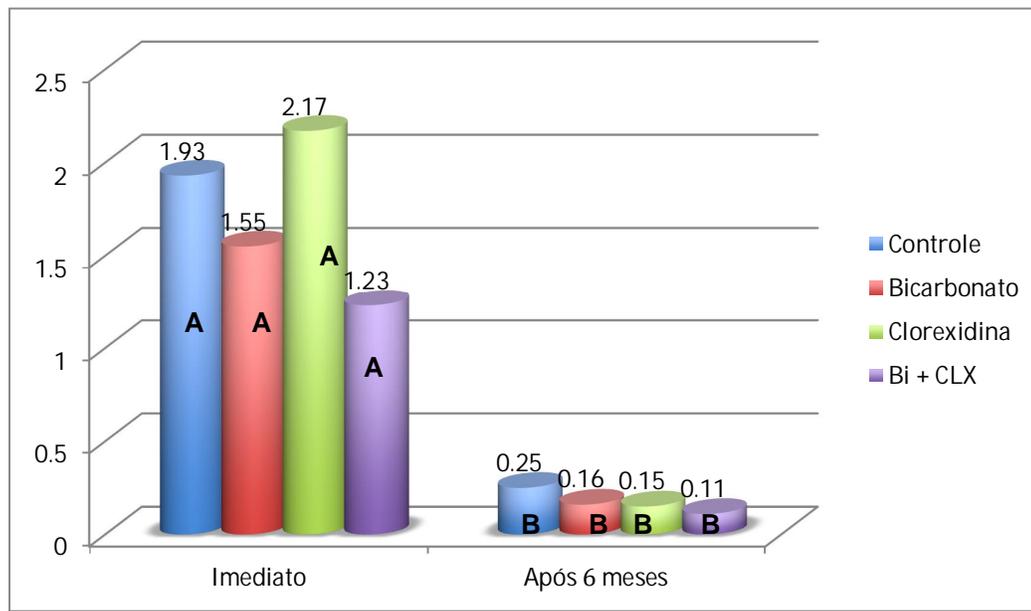


Gráfico 6. Médias aritméticas (MA) e análise estatística de Kruskal-Wallis (KW) complementado por Student-Newman-Keuls da resistência de união dos grupos amostrais (MPa) – IMEDIATO E APÓS 6 MESES



4. DISCUSSÃO

Os conceitos contemporâneos da dentística restauradora baseiam-se em preparos ultraconservadores. A remoção do tecido dentinário infectado e manutenção da dentina afetada com possibilidade de reparação estrutural tem sido preconizada (KARAARSLAN *et al.*, 2012, SCHWENDICKE *et al.*, 2015b). Por essa razão, muitos estudos avaliando os sistemas adesivos em dentina cariada tem sido realizados (NISHITANI *et al.*, 2005, MOBARAK 2011, BAHARI *et al.*, 2014, LENZI *et al.*, 2015). No presente estudo, foi utilizado o método microbiológico de confecção da lesão de cárie (CARVALHO *et al.*, 2008, SANABE *et al.*, 2011) utilizando cepas e meios de cultura suplementados para propiciar as condições que acontecem no meio oral. Esse método reproduz características presentes na dentina cariada tais como, diferenças na coloração do substrato e presença de duas camadas distintas na lesão cariosa (camada mais externa amolecida e camada mais interna apresentando maior resistência a remoção) (CLARKSON *et al.*, 1984, MOMOI *et al.*, 2012). Além disso, o método microbiológico propicia a degradação do colágeno pela esterase bacteriana (LENZI *et al.*, 2014). Existem os métodos químicos de indução da lesão de cárie que produzem desmineralização dentinária capaz de simular as alterações químicas teciduais, mas não reproduzem respostas biológicas envolvidas no processo carioso (MARQUEZAN *et al.*, 2009).

A ação antiproteolítica garante efeitos benéficos na durabilidade adesiva em dentina pela preservação das fibras colágenas na região adesiva presentes em maior quantidade na porção orgânica dentinária para os sistemas adesivos que necessitam de condicionamento prévio com ácido fosfórico (VAN LANDUYT *et al.*, 2008, PERDIGÃO *et al.*, 2013). Já nos sistemas adesivos autocondicionantes, que possuem monômeros ácidos funcionais a ação do inibidor pode não ser benéfica (SHAFIEI *et al.*, 2013). Os monômeros funcionais presentes nos sistemas adesivos autocondicionantes apresentam interação com a hidroxiapatita, formando união estável quimicamente. No presente estudo, foi testado o efeito de dois inibidores de proteases e sua combinação na força de união na dentina cariada utilizando o sistema adesivo autocondicionante de dois passos Clearfil SE Bond.

Kim e Shin (2014) avaliaram a atividade antibacteriana contra *Streptococcus mutans* dos sistemas adesivos autocondicionantes de um e dois passos com ou sem fotoativação utilizando teste de difusão em ágar. Observaram formação de zonas de inibição de crescimento bacteriano quando o sistema adesivo Clearfil SE Bond foi fotoativado, pela presença de monômero residual na camada de inibição de oxigênio, liberado no meio. Além disso, observaram a presença do monômero ácido funcional 10-MDP capaz de promover união química com cálcio da hidroxiapatita, estável ao longo do tempo, encapsulando fibras colágenas desprotegidas, prendendo a essa matriz colágena proteases na forma latente (TJÄDERHANE *et al.*, 2013 e LENZI *et al.*, 2014), justificando a utilização do sistema adesivo Clearfil SE Bond para o substrato cariado no presente estudo.

Nesse estudo a realização do pré-tratamento dentinário com as soluções de clorexidina 2% ou bicarbonato de sódio 2% não interferiu negativamente na resistência de união do sistema adesivo autocondicionante Clearfil SE Bond na dentina cariada quando o teste de microtração foi feito imediatamente, concordando com Sacramento *et al.* (2012) e Mobarak (2011) que observaram que a clorexidina 2% não acarretou em diminuição da força de união imediata na dentina cariada utilizando o sistema adesivo Clearfil SE Bond. Isso pode ser explicado pela capacidade do 10-MDP unir-se a hidroxiapatita residual e formar sais de cálcio estáveis. Além disso, utilizar o adesivo separadamente do *primer* aumenta a hidrofobicidade da camada adesiva diminuindo o fluxo de água nos túbulos dentinários (SCHWENDICKE *et al.*, 2015b). No estudo de Lenzi *et al.* (2012), a clorexidina também não influenciou na força de união imediata na dentina cariada em dentes permanentes utilizando o sistema adesivo convencional de dois passos. Por outro lado, Shafiei *et al.* (2013) testaram a influência do pré-tratamento com clorexidina 2% na dentina hígida na força de união ao cisalhamento de dois sistemas adesivos autocondicionantes de dois frascos. Encontraram diminuição na força de união imediata do sistema adesivo Clearfil SE Bond na dentina hígida pré-tratada com clorexidina devido a união catiônica das moléculas de clorexidina com grupos fosfato. Os cátions remanescentes unem-se aos ânions fosfato das moléculas do 10-MDP. Essa interação dificulta a habilidade de união do monômero ácido funcional 10-MDP ao cálcio dentinário reduzindo a força de união na dentina.

No presente estudo a realização do pré-tratamento com bicarbonato de sódio 2% associado a clorexidina 2% acarretou em diminuição da resistência de união no teste imediato de microtração. Uma possível explicação pode ser em relação a interação negativa da mistura dessas duas soluções e a umidade excessiva da superfície dentinária provocada pela aplicação consecutiva das duas soluções. O monômero hidrofóbico do sistema adesivo Clearfil SE Bond não pode difundir-se no substrato ocorrendo a formação de glóbulos nesse ambiente aquoso, afetando a infiltração adesiva e a adesão na dentina cariada (ROSIN *et al.*, 2005).

Após seis meses, a resistência de união diminuiu para todos os grupos amostrais discordando de Gunaydin *et al.* (2016) que observaram *in vitro* diminuição da força de união após envelhecimento dos espécimes porém, essa redução foi maior no grupo em que a clorexidina 2% não foi utilizada. Uma possível explicação para maior força de união no grupo em que não foi aplicado inibidor algum seria que o monômero acídico funcional presente no sistema adesivo autocondicionante Clearfil SE Bond, o 10-MDP, uniu-se fortemente aos íons cálcio dos cristais de hidroxiapatita. A utilização desse sistema adesivo autocondicionante fraco por si só possibilitou a presença da hidroxiapatita em torno das fibras colágenas mantendo enzimas proteolíticas fossilizadas. Houve diminuição da degradação do colágeno e preservação da camada híbrida (TJÄDERHANE *et al.*, 2013). Nos grupos em que foi realizado o pré-tratamento com clorexidina 2% ou bicarbonato de sódio ou ainda, a combinação dos dois inibidores a redução da força de união foi maior comparada com o grupo controle. Uma possível justificativa seria a ação dessas substâncias como contaminantes da superfície dentinária interferindo na hibridização adequada desse tecido pelo sistema adesivo autocondicionante que possui mecanismo de desmineralização e infiltração simultâneos. Além disso, os espécimes na dentina cariada foram mantidos em ambiente aquoso por seis meses, estando expostos a hidrólise na interface adesiva e ação de degradação do colágeno na camada híbrida, razão pela qual a degradação da união ocorreu (ZHENG *et al.*, 2015).

Para todos os grupos a fratura do tipo adesiva/mista foi predominante. Isso pode ser explicado pela interação química do sistema adesivo utilizado com a hidroxiapatita presente na dentina formando união adesiva mais forte que a força dos substratos dentina ou resina composta (GOES *et al.*, 2014).

Dentro das limitações de um estudo *in vitro*, o presente estudo observou que no sistema adesivo Clearfil SE Bond os inibidores de protease não tem aplicabilidade durante a restauração adesiva com resina composta. Porém novos estudos dentro dessa linha de pesquisa precisam ser realizados com intuito de contribuir para a formação de evidência científica sobre esse assunto.

5. CONCLUSÃO

O pré-tratamento cavitário com inibidores de proteases clorexidina 2% ou bicarbonato de sódio não influenciou negativamente na adesão do sistema adesivo Clerfil SE Bond imediatamente. Após seis meses, houve diminuição na força de união para todos os grupos. Essa redução apresentou-se maior nos grupos em que os inibidores foram utilizados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Van Strijp AJP, Van Steenberghe TJM, Graaff J, Ten Cate JM. Bacterial colonization and degradation of demineralized dentin matrix *in situ*. *Caries Res* 1994;28(1):21-7.
2. Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M, Salo T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesion. *J Dent Res* 1998;77(8):1622-9.
3. Hebling J, Pashley DH, Tjäderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers *in vivo*. *J Dent Res* 2005;84(8):741-6.
4. Pinheiro SL, Frasson AD, Bincelli IN, Barros PP, Silva GH. Study of a morphometric model for histological evaluation of the collagen in dentin carious lesions. *J Clin Pediatr Dent* 2008;33(2):123-6.
5. Pinheiro SL, Gallassi PC, Saldanha TC, Bincelli IN, Barros PP, Silva GH. Repairing collagen in dentin carious lesions. Influence of sealing the material: A morphometric study. *J Clin Pediatr Dent* 2010;34(3):223-8.
6. Martin-De Las Heras S, Valenzuela A, Overall CM. The matrix metalloproteinase gelatinase A in human dentine. *Arch Oral Biol* 2000;45(9):757-65.
7. Sulkala M, Larmas M, Sorsa T, Salo T, Tjäderhane L. The localization of matrix metalloproteinase-20 (MMP-20, Enamelysin) in mature human teeth. *J Dent Res* 2002;81(9):603-7.
8. Sulkala M, Tervahartiala T, Sorsa T, Larmas M, Salo T, Tjäderhane L. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin. *Arch Oral Biol* 2007;52(2):121-7.
9. Mazzoni A, Mannello F, Tay FR, Tonti GAM, Papa S, Mazzotti G, et al. Zymographic analysis and characterization of MMP-2 and -9 forms in human sound dentin. *J Dent Res* 2007;86(5):436-40.
10. Mazzoni A, Pashley DH, Tay FR, Gobbi P, Orsini G, Ruggeri Jr A, et al. Immunohistochemical identification of MMP-2 and MMP-9 in human dentin: correlative FEI-SEI/TEM analysis. *J Biomed Mater Res A* 2009;88(3):697-703.
11. Nascimento FD, Minciotti CL, Geraldeli S, Carrilho MR, Pashley DH, Tay FR, et al. Cysteine cathepsins in human carious dentin. *J Dent Res* 2011;90(4):506-11.
12. Mazzoni A, Tjäderhane L, Checchi V, Di Lenarda R, Salo T, Tay FR, et al. Role of dentin MMP's in caries progression and bond stability. *J Dent Res* 2015;94(2):241-51.
13. Alex G. Universal adhesives: The next evolution in adhesive dentistry? *Compend Contin Educ Dent* 2015;36(1):15-26;quiz 28,40.
14. Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine. *Clin Diag Lab Immunol* 1999;6(3):437-9.
15. Thompson JM, Agee K, Sidow SJ, McNally K, Lindsey K, Borke J, et al. Inhibition of endogenous dentin matrix metalloproteinases by ethylenediaminetetraacetic Acid. *J Endod* 2012;38(1):62-5.

16. Demeule M, Brossard M, Pagé M, Gingras D, Béliveau R. Matrix metalloproteinase inhibition by green tea catechins. *Biochim Biophys Acta* 2000;1478(1):51-60.
17. Yang H, Guo J, Deng D, Chen Z, Huang C. Effect of adjunctive application of epigallocatechin-3-gallate and ethanol-wet bonding on adhesive-dentin bonds. *J Dent* 2016;44:44-49.
18. Robey IF, Nesbit LA. Investigating mechanisms of alkalization for reducing primary breast tumor invasion. *Biomed Res Int* 2013;2013:485196. doi: 10.1155/2013/485196. Epub 2013 Jul 10.
19. Van Landuyt KL, Yoshida Y, Hirata I, Snauwaert J, De Munck J, Okazaki M, et al. Influence of the chemical structure of functional monomers on their adhesive performance. *J Dent Res* 2008;87(8):757-761.
20. Kim SR, Shin DH. Antibacterial effect of self-etching adhesive systems on *Streptococcus mutans*. *Restor Dent Endod* 2014;39(1):32-8.
21. 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.
22. Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater* 2011;27(1):17-28.
23. Marchesi G, Frassetto A, Mazzoni A, Apolonio F, Diolosà M, Cadenaro M, et al. Adhesive performance of a multi-mode adhesive system: 1-Year *in vitro* study. *J Dent* 2014;42(5):603-12.
24. Perdigão J, Reis A, Loguercio AD. Dentin adhesion and MMPs: A comprehensive Review. *J Esthet Restor Dent* 2013;25(4): 219-41.
25. Tsujimoto A, Iwasa M, Shimamura Y, Murayama R, Takamizawa T, Masashi M. Enamel bonding of single-step self-etch adhesives: Influence of surface energy characteristics. *Journal of Dentistry* 2010;38(2):123-30.
26. Islam MS, Hiraishi N, Nassar M, Yiu C, Otsuki M, Tagami J. Effect of hesperidin incorporation into a self-etching primer on durability of dentin bond. *Dent Mater* 2014;30(11):1205-12.
27. Carvalho FG, Fucio SBP, Sinhoreti MAC, Correr-Sobrinho L, Puppim-Rontani RM. Confocal laser scanning microscopic analysis of the depth of dentin caries-like lesions in primary and permanent teeth. *Braz Dent J* 2008;19(2):139-44.
28. Banerjee A, Watson TF, Kidd EAM. Dentine caries excavation: a review of current clinical techniques. *Br Dent J* 2000;188(9):476-82.
29. Lenzi TL, Raggio DP, Soares FZM, Rocha RO. Bonding performance of a multimode adhesive to artificially-induced caries-affected primary dentin. *J Adhes Dent* 2015;17(2):125-31.
30. Sirin Karaarslan E, Yildiz E, Cebe MA, Yegin Z, Ozturk B. Evaluation of micro-tensile bond strength of caries-affected human dentine after three different caries removal techniques. *J Dent* 2012;40(10):793-801.
31. Schwendicke F, Dörfer CE, Paris S. Incomplete caries removal: a systematic review and meta-analysis. *J Dent Res* 2013;92(4):306-14.
32. Nishitani Y, Yoshiyama M, Tay FR, Wadgaonkar B, Waller J, Agee K, et al. Tensile strength of mineralized/demineralized human normal and carious dentin. *J Dent Res* 2005;84(11):1075-8.

33. Mobarak EH. Effect of chlorhexidine pretreatment on bond strength durability of caries-affected dentin over 2-year aging in artificial saliva and under simulated intrapulpal pressure. *Oper Dent* 2011;36(6):649-60.
34. Schwendicke F, Kern M, Dörfer C, Kleemann-Lüpkes J, Paris S, Blunck U. Influence of using different bonding systems and composites on the margin integrity and the mechanical properties of selectively excavated teeth *in vitro*. *J Dent* 2015;43(3):327-34.
35. Bahari M, Oskoe SS, Kimyai S, Puralibaba F, Farhadi F, Norouzi M. Effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate treatment on microtensile bond strength to carious affected dentin using two adhesive strategies. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects* 2014;8(3):141-7.
36. Sanabe ME, Costa CA, J Hebling. Exposed collagen in aged resin-dentin bonds produced on sound and caries-affected dentin in the presence of chlorhexidine. *J Adhes Dent* 2011;13(2):117-24.
37. Clarkson BH, Wefel JS, Miller I. A model for producing caries-like lesions in enamel and dentin using oral bacteria *in vitro*. *J Dent Res* 1984;63(10):1186-9.
38. Momoi Y, Hayashi M, Fujitani M, Fukushima M, Imazato S, Kubo S, et al. Clinical guidelines for treating caries in adults following a minimal intervention policy – Evidence and consensus based report. *J Dent* 2012;40(2):95-105.
39. Lenzi TL, Tedesco TK, Calvo AFB, Ricci HA, Hebling J, Raggio DP. Does the method of caries induction influence the bond strength to dentin of primary teeth? *J Adhes Dent* 2014;16(4):333-8.
40. Marquezan M, Corrêa FNP, Sanabe ME, Filho LER, Hebling J, Guedes-Pinto AC, et al. Artificial methods of dentine caries induction: A hardness and morphological comparative study. *Arch Oral Biol* 2009;54(12):1111-7.
41. Shafiei F, Alikhani A, Alavi AA. Effect of chlorhexidine on bonding durability of two self-etching adhesives with and without antibacterial agent to dentin. *Dent Res J (Isfahan)* 2013;10(6):795-801.
42. Sacramento PA, Castilho ARF, Banzi ECF, Puppi-Rontani RM. Influence of cavity disinfectant and adhesive systems on the bonding procedure in demineralized dentin- A one-year *in vitro* evaluation. *J Adhes Dent* 2012;14(6):575-83.
43. Lenzi TL, Tedesco TK, Soares FZM, Loguercio AD, Rocha RO. Chlorhexidine does not increase immediate bond strength of etch-and-rinse adhesive to caries-affected dentin of primary and permanent teeth. *Braz Dent J* 2012;23(4):438-42.
44. Rosin C, Arana-Chavez VE, Netto NG, Luz MAAC. Effect of cleaning agents on bond strength to dentin. *Braz Oral Res* 2005;19(2):127-33.
45. Gunaydin Z, Yazici AR, Cehreli ZC. *In vivo* and *in vitro* effects of chlorhexidine pretreatment on immediate and aged dentin bond strengths. *Oper Dent* 2016;41(3):258-67.
46. Zheng P, Zaruba M, Attin T, Wiegand A. Effect of different matrix metalloproteinase inhibitors on microtensile bond strength of an etch-and-rinse and a self-etching adhesive to dentin. *Oper Dent* 2015;40(1):80-6.
47. Yoshiyama M, Tay FR, Doi J, Nishitani Y, Yamada T, Itou K, et al. Bonding of self-etch and total-etch adhesives to carious dentin. *J Dent Res* 2002;81(8):556-60.

48. Goes MF, Shinohara MS, Freitas MS. Performance of a new one-step multi-mode adhesive on etched vs non-etched enamel on bond strength and interfacial morphology. *J Adhes Dent* 2014;16(3):243-50.
49. Sousa FACG, Paradella TC, Koga-Ito CY, Jorge AOC. Effect of sodium bicarbonate on *Candida albicans* adherence to thermally activated acrylic resin. *Braz Oral Res* 2009;23(4):381-5.
50. Choi SE, Kim HS. Sodium bicarbonate solution versus chlorhexidine mouthwash in oral care of acute leukemia patients undergoing induction chemotherapy: A randomized controlled trial. *Asian Nurs Res (Korean Soc Nurs Sci)* 2012;6(2):60-6.
51. Wang XL, Cheng CY, Peng D, Wang B, Gan YH. Dental plaque pH Recovery effect of arginine bicarbonate rinse *in vivo*. *Chin J Dent Res* 2012;15(2):115-20.
52. Schwendicke F, Eggert K, Lueckel-Meyer H, Dörfer C, Kovalev A, Gorb S, et al. *In vitro* induction of residual caries lesions in dentin: comparative mineral loss and nano-hardness analysis. *Caries Res* 2015;49(3):259-65.
53. Shibata S, Vieira LCC, Baratieri LN, Fu J, Hoshika S, Matsuda Y, et al. Evaluation of microtensile bond strength of self-etching adhesives on normal and caries-affected dentin. *Dent Mater J* 2016;35(2):166-73.
54. Carvalho C, Fernandes FP, Freitas VP, França FMG, Basting RT, Turssi CP, et al. Effect of green tea extract on bonding durability of an etch-and-rinse adhesive system to caries-affected dentin. *J Appl Oral Sci* 2016;24(3):211-7.

7. ANEXO A



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do bicarbonato de sódio na inibição das metaloproteinases (MMPs) na dentina cariada utilizando sistema adesivo autocondicionante

Pesquisador: Diana Roberta Pereira

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 47942515.1.0000.5481

Instituição Proponente: Pontifícia Universidade Católica de Campinas - PUC/ CAMPINAS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.203.078

Apresentação do Projeto:

Projeto de pesquisa experimental, no âmbito de programa de mestrado em Ciências da Saúde, subárea Odontologia, em que a pesquisadora pretende avaliar o papel do bicarbonato de sódio na inativação das metaloproteinases (MMPs) durante a hibridização da dentina cariada utilizando o sistema adesivo autocondicionante. Os dentes serão objeto de doação, obtidos nos laboratórios de odontologia da PUC-Campinas. Nos laboratórios, pacientes cujo diagnóstico recomenda extração de terceiros molares ("dentes do siso") serão abordados para participarem da pesquisa, por meio de doação dos dentes extraídos.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o papel do bicarbonato de sódio na inativação das metaloproteinases (MMPs) durante a hibridização da dentina cariada utilizando o sistema adesivo autocondicionante

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não haverá extração de dentes exclusivamente para a realização da pesquisa. Entende-se que a pesquisa será feita a partir de dentes doados por força de extração decorrente de outros diagnósticos. Está claro que se o número mínimo de dentes necessários para a pesquisa não for atingido, a pesquisa será cancelada. Ou seja, além dos riscos normais da extração dentária, e que nem ocorrerão por causa da pesquisa, que se beneficiará de doações de dentes extraídos, não há

Endereço: Rodovia Dom Pedro I, Km 136
Bairro: Parque das Universidades **CEP:** 13.086-900
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3343-6777 **Fax:** (19)3343-6777 **E-mail:** comitedeetica@puc-campinas.edu.br



Continuação do Parecer: 1.203.078

nenhum risco adicional aos participantes da pesquisa. Aliás, entendo que sequer haja participantes da pesquisa, já que esta ocorrerá depois da doação dos dentes extraídos e não antes ou durante a extração. Não obstante, reconheça-se o cuidado da pesquisadora e de seu orientador de submeterem a questão ao Conselho de Ética em Pesquisa. Os benefícios são bem definidos na pesquisa: poderá haver geração de protocolos para aplicação do sistema adesivo e da resina composta que permitam mais durabilidade dessas restaurações na cavidade bucal dos pacientes

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa bem formulada, com objeto, método, problema, hipótese e objetivos bem definidos. Com a aprovação do projeto pelo comitê de ética em agosto, o cronograma estará em ordem e poderá ser dado andamento à pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Em verdade, considero que este tipo de pesquisa, a ser realizada de modo experimental em material orgânico doado por paciente, só precisa se submeter ao Comitê de Ética para fins de receber o material orgânico em doação. Nesses termos, o TCLE até poderia ser redigido muito mais como um termo de doação que como um termo de acompanhamento da pesquisa, mas isto não prejudica nem impede a realização da pesquisa nos termos do TCLE apresentado, que está em ordem (está até a mais), e com toda informação sobre eventual necessidade de contato com o Comitê de Ética da PUCC exclusivamente para tratar de questões éticas e com a pesquisadora para outros assuntos relativos à pesquisa.

Recomendações:

Nas próximas submissões de processos ao CEP, recomenda-se ao orientador que deixe sempre muito claro que a pesquisa jamais será o motivo da extração dos dentes, mas que estes serão doados após a necessidade de extração devidamente diagnosticada.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Dessa forma, e considerando a Resolução no. 466/12, e, ainda que a documentação apresentada atende ao solicitado, emitiu-se o parecer para o presente projeto: Aprovado.

Conforme a Resolução 466/12, é atribuição do CEP "acompanhar o desenvolvimento dos projetos, por meio de relatórios semestrais dos pesquisadores e de outras estratégias de monitoramento, de acordo com o risco inerente à pesquisa". Por isso o/a pesquisador/a responsável deverá encaminhar para o CEP PUCCampinas os Relatórios Parciais a cada seis meses e o Relatório Final

Endereço: Rodovia Dom Pedro I, Km 136
Bairro: Parque das Universidades **CEP:** 13.086-900
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3343-6777 **Fax:** (19)3343-6777 **E-mail:** comitedeetica@puc-campinas.edu.br



Continuação do Parecer: 1.203.078

de seu projeto, até 30 dias após o seu término

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO PARA O CEP-12-05-2015 (Sérgio).docx	15/06/2015 17:49:03		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	15/06/2015 17:49:17		Aceito
Outros	Autorização-Gustavo-Diana.jpg	15/06/2015 17:49:45		Aceito
Folha de Rosto	Folha de Rosto-Diana.jpg	15/06/2015 17:45:50		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_516056.pdf	15/06/2015 17:50:13		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPINAS, 27 de Agosto de 2015

**Assinado por:
David Bianchini
(Coordenador)**

Endereço: Rodovia Dom Pedro I, Km 136
Bairro: Parque das Universidades **CEP:** 13.086-900
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3343-6777 **Fax:** (19)3343-6777 **E-mail:** comitedeetica@puc-campinas.edu.br

