EFEITO DA INCORPORAÇÃO DE COBRE EM UM SISTEMA ADESIVO UNIVERSAL NAS PROPRIEDADES ADESIVAS À DENTINAS HÍGIDA E CARIADA.

Eduardo Grokoski (PIBIC/UEPG), Taíse Alessandra Hanzen, Alessandro Dourado Loguercio (Orientador), e-mail:aloguercio@hotmail.com.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento do Odontologia.

Ciências da Saúde – Odontologia - Materiais Odontológicos.

Palavras-chave: Adesivos dentinários, Cárie dentária, Cobre, Resistência a tração.

Resumo

O propósito deste estudo *in vitro* foi avaliar o efeito da adição de nanopartículas de cobre em um sistema adesivo universal sobre a resistência de união (RU) e nanoinfiltração (NI) da interface resina-dentina hígida e cariada, nas estratégias adesivas convencional (total-etch [TE]) e autocondicionante (self-etch[SE]). O sistema adesivo experimental foi formulado com a adição de nanopartículas de cobre a 0,1%no adesivo Ambar Universal. Para os testes de RU e NI, 80 molares humanos foram aleatoriamente distribuídos nas seguintes condições experimentais (n=10), com base na combinação das variáveis:concentração de cobre [0 e 0,1%] vs. superfície dentinária (hígida e cariada) vs. estratégias adesivas (TE e SE). O adesivo contendo cobre apresentou melhores resultados tanto para RU quanto para NI principalmente no substrato hígido, em ambas as estratégias.

Introdução

Durante a última década, a compreensão dos mecanismos envolvidos na degradação da interface adesivo-dentina tem avançado substancialmente (Tjaderhane *et al.* 2013) e medidas para melhorar a durabilidade da adesão dentinária tornaram-se os principais tópicos de pesquisa na odontologia (Frassetto *et al.* 2016). Sabendo que os procedimentos adesivos não conseguem prevenir o desenvolvimento de lesões de cárie adjacentes à restauração e são igualmente incapazes de eliminar o biofilme por completo (Spencer *et al.* 2010), um recurso seria o desenvolvimento de materiais dentários com propriedades antimicrobianas, no intuito de reduzir o acúmulo de biofilme na interface da restauração, sem prejudicar as propriedades mecânicas do material, tornando a interface menos vulnerável à degradação (Chen *et al.* 2012).

Em comparação com a prata, o cobre além da fácil disponibilidade e do baixo custo (Usman *et al.* 2013), promove maior efeito antibacteriano contra *Escherichia coli, Bacillus subtilis e Staphylococcus aureus* (Yoon *et al.* 2007). Considerado um potencial agente antimicrobiano, capaz de reduzir o número de bactérias nas superfícies dos dentes, o cobre parece contribuir para o menor acúmulo de placa (Davey e Embery 1992).

Contudo, o substrato que recebe o material restaurador e seu comportamento também são relevantes, interferindo diretamente na adesão. A desvantagem na adesão parece ser mais significativa quando esta superfície é acometida por patologias como a cárie dental, em virtude das alterações morfológicas destes substratos (Tjaderhane *et al.* 2015). Assim, adicionar nanopartículas de cobre aos sistemas adesivos e testar em substratos com intensa atividade proteolítica, como a cárie dental, poderia ser uma

alternativa para garantir o sucesso das restaurações adesivas nestes dois substratos.

Neste contexto, o presente estudo consistiu em avaliar o desempenho de um sistema adesivo universal contendo 0.1% de cobre na formulação quanto às propriedades adesivas de resistência de união e nanoinfiltração, comparando os substratos hígido e cariado.

Material e Métodos

Este estudo foi previamente aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa, com parecer consubstanciado sob número 2.072.217. O adesivo experimental foi formulado pela adição de nanopartículas de cobre (99.9% puro, 40-60nm) à formulação convencional do sistema adesivo Ambar Universal com solvente à base de água e etanol.Posteriormente, as nanopartículas de cobre foram pesadas em balança analítica de precisão e 6 mg de cobre, que corresponde a concentração de 0,1%, foi adicionado, em ambiente escuro, ao sistema adesivo em sua fórmula original por agitação em um misturador Speedmix.

O estudo consistiu na avaliação imediata das propriedades adesivas - resistência de união e nanoinfiltração,utilizando adesivo com e sem cobre, nas diferentes estratégias adesivas (total-etch e self-etch). Para isso, 80 molares humanos hígidos obtidos do Banco de Dentes Humanos da UEPG foram utilizados. O preparo dos dentes incluiu a remoção da superfície do esmalte oclusal até a exposição da dentina. Posteriormente, os dentes foram aleatoriamente distribuídos nas seguintes condições experimentais (n= 10) com base na combinação das variáveis: concentração de cobre no sistema adesivo [0 e 0,1%] vs. superfície dentinária [H: dentina hígida, C: dentina cariada] vs. estratégias adesivas [TE e SE].

Quarenta molares hígidos foram submetidos ao desenvolvimento de lesões de cárie artificial. Os dentes foram depositados assepticamente em tubos de ensaio contendo 25mL de uma solução cariogênica. Os tubos de ensaio foram incubados a 37 °C em jarra de anaerobiose. A cada 48h, o caldo foi desprezado e sem fazer a lavagem dos dentes, estes foram transferidos para um novo tubo de ensaio contendo solução de cárie artificial, com nova inoculação de *S. mutans*. Após 14 dias, os dentes foram esterilizados em ciclo de autoclave e lavados em água deionizada, finalizando o ciclo cariogênico.

Antes do procedimento restaurador, a superfície oclusal de cada dente foi polida, no intuito de remover apenas a dentina infectada, para que a adesão fosse testada sobre dentina afetada. Em seguida, esses dentes foram incrementalmente restaurados com resina composta e as três camadas foram fotopolimerizadas por 20s cada. Após armazenamento dos dentes em água destilada a 37ºC por 24 h, os mesmos foram fixados com cera para se obter palitos de resina-dentina. Registrou-se o número de palitos que apresentavam falha prematura (FP) para cada dente.

Com o auxílio de um paquímetro digital foi mensurada a área de secção transversal de cada palito, aproximada de 0,8 mm^2. O conjunto garra – palito foi acoplado na máquina de ensaios universais e testado a 0,5 mm/min de tensão, comum a carga de 100N, até a ruptura da interface adesiva, para obter valores de resistência de união (RU) em MPa. Classificou-se a falha de cada palito segundo o tipo de fratura em: coesiva em dentina (falha coesiva exclusiva dentro da dentina) (CD); coesiva em resina (falha de exclusividade dentro da resina) (CR); adesiva/mista (falha na interface resina/dentina que incluiu falha coesiva dos substratos vizinhos) (A/M) e falhas prematuras (palitos que fraturaram antes dos testes).

Três palitos randomizados de cada dente, que não foram testados para RU,

foram fixados em *stubs* de alumínio e polidos. As interfaces foram observadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV).Três microfotografias foram obtidas para cada espécime: a primeira ao centro, e as outras duas a 0,3 mm para direita e esquerda a partir da primeira microfotografia. A porcentagem de nanoinfiltração dentro das camadas adesiva e híbrida foram mensuradas por um software específico de domínio público *Image J SoftwareProgram* (version 1.42q)

Os resultados de RU (MPa), NI (%) foram analisados por análise de variância de 3 fatores (concentração de cobre *vs*. substrato *vs*. estratégia). Para múltiplas comparações, foi aplicado o teste *post-hoc* de Tukey, sendo a significância estatística pré-estabelecida em α=0,05.

Resultados e Discussão

- RESISTÊNCIA DE UNIÃO À MICROTRAÇÃO:

Aproximadamente 15-20 palitos de resina-dentina foram obtidos por dente, incluindo os que falharam prematuramente. A área de secção transversal média foi de 0.8 mm^2. Para todos os grupos, a falha adesiva/mista prevaleceu. O número de falhas coesivas aumentou no grupo contendo cobre em comparação com o grupo controle em dentina hígida. O maior número de falhas prematuras foi observado no substrato cariado.

Tabela 1. Médias ± desvios padrão de resistência de união à dentina (RU, MPa) das diferentes condições experimentais.

	SUBSTRATO			
	HÍGIDO		*CARIADO*	
	TE	SE	TE	SE
0% Cobre	14,07 ± 3,27 B,C	16,54 ± 2,88 C	27,59 ± 4,52 D	29,69 ± 4,66 D
0,1% Cobre	7,31 ± 1,96 A	10,49 ± 2,48 A	28,09 ± 5,20 D	30,64 ± 5,97 D

As médias e os desvios-padrão obtidos de RU para todos os grupos, resultou em que o substrato cariado foi observado valores menores de RU, comparados ao substrato hígido. Os maiores valores médios de RU foram observados na dentina hígida. No substrato cariado, a estratégia convencional apresentou resultados estatisticamente melhores de RU quando empregado o adesivo contendo cobre em comparação com a estratégia autocondicionante para o mesmo sistema adesivo.

- NANOINFILTRAÇÃO:

Os dados de NI na interface de união à dentina, testados após 24h de armazenamento em água. Nenhum dos grupos apresentou interface livre de NI. No substrato hígido, menor grau de NI foi observado no grupo do adesivo contendo cobre independente da estratégia. Comparando as estratégias dentro do substrato alterado, não foi observada diferença estatística. O pior desempenho foi observado para o substrato cariado, com deposição de nitrato de prata tanto ao longo da camada híbrida quanto abaixo, em direção aos túbulos dentinários.

Tabela 2. Médias ± desvios padrão da nanoinfiltração na interface de união à dentina (NI) das diferentes condições experimentais, por análise em MEV.

	SUBSTRATO			
	HÍGIDO		*CARIADO*	
	TE	SE	TE	SE
0% Cobre	14,07 ± 3,27 B,C	16,54 ± 2,88 C	27,59 ± 4,52 D	29,69 ± 4,66 D
0,1% Cobre	7,31 ± 1,96 A	10,49 ± 2,48 A	28,09 ± 5,20 D	30,64 ± 5,97 D

(*) Letras iguais indicam resultados estatisticamente similares (teste post-hoc de Tukey, p≥0,05).

ISSN 1676-0093

Conclusões

De acordo com a metodologia proposta, considerando as condições deste estudo *in vitro*, pode-se afirmar as seguintes conclusões:

1) Melhor desempenho adesivo foi verificada em dentina hígida, com o emprego do sistema adesivo contendo cobre, observados os maiores valores de RU e menor grau de NI, o que sugere que a adição de cobre a sistemas adesivos universais poderia retardar a degradação da interface de união para este substrato, necessitando de estudos à longo prazo para confirmar essa hipótese.

2) A adesão parece ser prejudicada no substrato cariado. O condicionamento ácido mostrou-se um passo desnecessário no procedimento adesivo para estes tipos de substratos quando utilizados sistemas adesivos universais, uma vez que ambas estratégias obtiveram resultados semelhantes.

3) Melhor desempenho foi verificado quando aplicada a estratégia convencional sobre dentina hígida. No substrato cariado, não houve diferença significativa entre as técnicas adesivas, com exceção do grupo cariado contendo cobre, que apresentou melhores resultados também com o emprego da técnica convencional.

Agradecimentos

Sou muito agradecido ao meu orientador Prof.Dr.Alessandro Dourado Loguercio, a minha co-orientadora Taíse Alessandra Hanzen e a UEPG pela disponibilidade da bolsa.

Referências

1. TJÄDERHANE, Leo et al. Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. **Dental Materials**, v. 29, n. 1, p. 116-135, 2013.
2. FRASSETTO, Andrea et al. Mechanisms of degradation of the hybrid layer in adhesive dentistry and therapeutic agents to improve bond durability—A literature review. **Dental Materials**, v. 32, n. 2, p. e41-e53, 2016.
3. SPENCER, Paulette et al. Adhesive/dentin interface: the weak link in the composite restoration. **Annals of biomedical engineering**, v. 38, n. 6, p. 1989-2003, 2010.
4. CHEN, Liang; SHEN, Hong; SUH, Byoung In. Antibacterial dental restorative materials: a state-of-the-art review. **American journal of dentistry**, v. 25, n. 6, p. 337-346, 2012.
5. YOON, Ki-Young et al. Susceptibility constants of Escherichia coli and Bacillus subtilis to silver and copper nanoparticles. **Science of the Total Environment**, v. 373, n. 2-3, p. 572-575, 2007.
6. USMAN, Muhammad Sani et al. Synthesis, characterization, and antimicrobial properties of copper nanoparticles. **International journal of nanomedicine**, v. 8, p. 4467, 2013.
7. DAVEY, Helen; EMBERY, Graham. Metal ions in oral hygiene products. **Clinical and Biological Aspects of Dentifrices. pp165-172. New York: Oxford Medical Publications**, 1992.
8. TJÄDERHANE, Leo et al. Matrix metalloproteinases and other matrix proteinases in relation to cariology: the era of ‘dentin degradomics'. **Caries research**, v. 49, n. 3, p. 193-208, 2015.