EFEITO DA ADIÇÃO DE NANOPARTÍCULAS COBRE NAS PROPRIEDADES ADESIVAS À DENTINAS HÍGIDA E EROSIONADA DE UM SISTEMA ADESIVO UNIVERSAL

Melissa Caroline Souta (PIBIC/CNPq), Thalita de Paris Matos, Alessandro Dourado Loguercio (Orientador), e-mail: aloguercio@hotmail.com.
Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Odontologia.

Odontologia, Materiais Odontológicos

Palavras-chave: Adesivos dentinários, cobre, erosão dentária.

Resumo

Recentemente, alguns autores mostraram o potencial de agentes antimicrobianos e reticuladores de colágeno, aplicados na dentina desmineralizada, em reforçar as fibrilas colágenas expostas pelo condicionamento ácido e reduzir sua degradação ao longo do tempo. Adicionar nanopartículas de cobre aos sistemas adesivos universais e testar em substrato erosionado, poderia ser uma alternativa para garantir o sucesso das restaurações adesivas nestes dois substratos. O presente estudo tem como objetivo analisar a degradação das interfaces adesivas, comparando o uso de um adesivo universal com nanopartículas de cobre versus sua formulação original sem cobre, em desafio erosivo in vitro. Foram utilizados 80 dentes, que foram divididos aleatoriamente em dois grupos – substrato hígido e erosionado, e subdivididos em – grupo convencional (CON) e o autocondicionante (AC), e conforme o sistema adesivo utilizado - com e sem cobre. Após restaurados, os dentes foram seccionados longitudinalmente para se obter palitos de resina-dentina, e testados quanto a Resistência de união (RU) e Nanoinfiltração (NI), analisados em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os dados foram tabulados e submetidos a análise estatística.

Introdução

Partículas de cobre têm sido incorporadas em materiais resinosos com o objetivo de conferir efeito antimicrobiano e aumentar a longevidade da interface adesiva. Para alcançar uma adesão estável, a preservação do colágeno dentinário é fundamental, porém, esta não é uma tarefa fácil. Durante os procedimentos adesivos, as fibrilas do colágeno desmineralizado não são completamente infiltradas por monômeros resinosos, (Thneibat, A. et al. 2008), e estas fibrilas colágenas desnudas são mais propensas à degradação. A mudança de pH produzida pela ingestão de alimentos e bebidas, bem como induzido por ácidos bacterianos pode aumentar a quantidade de matriz orgânica a ser quebrada por enzimas derivadas de bactérias (Souza, A. P.; Gerlach, R. F.; Line, S. R 2001).

Recentemente, alguns autores mostraram o potencial de agentes antimicrobianos e reticuladores de colágeno, aplicados na dentina desmineralizada, em reforçar as fibrilas colágenas expostas pelo ácido e reduzir sua degradação ao longo do tempo. O cobre pode aumentar a força da rede colágena na camada híbrida, pois a enzima reticuladora de colágeno, a lisila-oxidase é cobre-dependente (Gutiérrez, M. F. et al 2017, Gosau, M. et al 2016), e assim, o cobre age indiretamente como agente de reticulação, aumentando a longevidade da restauração. Essa ação reticuladora do cobre pode aumentar a resistência do colágeno, melhorando a resistência de união (Rosenbaum, J. et al. 2017).

Aumentando a resistência da rede de colágeno e do adesivo em si, o substrato torna-se menos susceptível aos efeitos de enzimas proteolíticas como as MMP's e CTs, as quais estão envolvidas na degradação do colágeno dental, e consequentemente, na degradação da interface de união à dentina (Yoshiyama, M. et al. 2002; Hass, V. et al. 2016; Costa, A. R. et al. 2017; Tjaderhane, L. et al. 2013).

Dessa forma, adicionar nanopartículas de cobre aos sistemas adesivos e testar em substratos com intensa atividade proteolítica, como a erosão dental, poderia ser uma alternativa para garantir o sucesso das restaurações adesivas nestes dois substratos. Neste contexto, o presente estudo consiste 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 erosionado.

Material e Métodos

Esse estudo utilizou oitenta dentes, provenientes do Banco de Dentes Humanos da UEPG, sendo estes terceiros molares hígidos. Foram formulados sistemas adesivos experimentais utilizando Ambar Universal (FGM), com a adição de nanopartículas de cobre (99,9% puro, Skyspring nanomateriais, Inc., Houston, TX, EUA) (% em peso): 0% (controle, material comercial) e 0,1% de cobre.

O preparo dos dentes incluiu a remoção da superfície do esmalte oclusal sob refrigeração até a exposição da dentina e remoção do esmalte periférico com ponta diamantada nº 4137 (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil) em alta rotação sob refrigeração constante deixando apenas dentina. A seguir, para a formação da smear layer foi feito o polimento da superfície por 60s, utilizando lixas carbeto de silício de granulação #600 sob irrigação com água. Posteriormente, os dentes foram aleatoriamente distribuídos em oito condições experimentais (n = 10) com base na combinação das variáveis, isto é concentração de cobre no sistema adesivo [0 e 0,1%] vs. superfície dentinária [H: dentina hígida e C: dentina erosionada] vs. estratégias adesivas TE (Condicionamento total) e SE (Autocondicionante).

Ciclagem erosiva em dentina - Quarenta molares hígidos retirados do banco de dentes humanos foram submetidos ao desenvolvimento de lesões de erosão por método artificial. Conforme alocação prévia, os dentes foram condicionados ou não com ácido fosfórico 37% durante 15s, lavados e foram aplicados os sistemas adesivos e fotoativados de acordo com as recomendações do fabricante. Em seguida, os dentes foram restaurados com resina composta em três camadas individualmente fotopolimerizadas e após armazenamento em água destilada a 37 ºC por 24 h, os mesmos foram fixados com cera pegajosa aquecida em um dispositivo que, acoplado à máquina de corte (Isomet) permite o seccionamento longitudinal no eixo X e Y através da interface adesiva, com ajuda de um disco de corte diamantado, em baixa velocidade, com irrigação constante para se obter palitos de resina-dentina

RU: todos os palitos foram posicionados numa garra de Geraldeli acoplada à máquina universal de testes de microtração (Kratos Dinamômetros, São Paulo, SP, Brasil) com uma velocidade de 0,5 mm/min até ruptura. O valor médio de resistência de união foi obtido para cada dente e expresso em Mpa

NI: dois palitos randomizados de cada dente foram imersos em solução amoniacal de nitrato de prata por 24 h em ambiente escuro protegido da luz. Em seguida, os palitos foram lavados em água destilada e armazenados em solução reveladora sob luz fluorescente por 8 h para redução dos íons de prata. Após esse

preparo, foram fixados em stubs de alumínio e polidos em uma sequência de lixas de carbeto de silício, com banhos em cuba ultrassônica entre as lixas por 5 min. Por fim, os stubs foram lavados em cuba ultrassônica por 10 min, desidratados em ambiente contendo sílica durante 24 h e metalizados com ouro-carbono.

As interfaces foram observadas por microscopia eletrônica de varredura (Vega 3 Tescam, Shimadzu, Tóquio, Japão), onde foram feitas três microfotografias para cada espécime. A porcentagem de nanoinfiltração dentro das camadas adesiva e híbrida foi mensurada com o auxílio de um software específico de domínio público Image J Software Program (version 1.42q; NIH, Bethesda, Maryland, EUA.

Resultados e Discussão

Resistência de União a microtração (RU)

Ambos substratos induzidos a alterações morfológicas, erosão e cárie, reproduziram valores menores de RU, comparados ao substrato hígido. Os maiores valores médios de RU foram observados na dentina hígida. Para o substrato erosionado, valores estatisticamente maiores de RU foram encontrados quando empregado adesivo contendo cobre, independente da estratégia adesiva. 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.

Com relação à RU, os resultados encontrados para dentina erosionada foram inferiores à dentina hígida, o que está em concordância com estudos anteriores (Pamir *et al.* 2010; Zimmerli *et al.* 2012). Todo o processo de modificação que a dentina erosionada sofre pode explicar esta diminuição dos resultados nesse substrato (Zimmerli *et al.* 2012).

No presente estudo, foram observados menores valores de resistência de união quando executada a adesão sobre dentina afetada por cárie, independente do sistema adesivo e da estratégia utilizados. São resultados esperados, uma vez que a cárie é associada a eventos dinâmicos de perda de mineral e desnaturação gradual das fibrilas colágenas (Yoshiyama *et al.* 2002), ocasionando aumento da porosidade na dentina intertubular, prejudicando a hibridização sobre o substrato cariado (Wang *et al.* 2007), como evidenciado pela análise nas imagens em MEV para todas as condições deste grupo.

Nanoinfiltração (NI)

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 de cada substrato, 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.

Com relação à nanoinfiltração, é esperada uma relação inversamente proporcional à resistência de união que ocorreu no presente estudo, já que, quando comparados os substratos, menores valores de NI foram encontrados para os substratos hígidos. Isto é justificado pelo fato de que substratos cariado e erosionado apresentam uma exposição da trama colágena de dentina maior em profundidade, diferentemente da dentina hígida, o que dificulta a infiltração dos monômeros resinosos, desfavorecendo a adesão (Zimmerli *et al.* 2012). Isto provavelmente ocorre devido à presença de maior quantidade de água no interior da camada híbrida e na camada adesiva na interface resina-dentina (Tay *et al.* 2002) e também, ao colapso das fibras

colágenas, levando a uma incompleta polimerização dos monômeros adesivos (Zimmerli *et al.* 2012), responsáveis pelo maior grau de NI.

Conclusão/ões

Diante dos resultados obtidos, concluímos que a incorporação do cobre no sistema adesivo universal pode ser uma boa opção visando melhorar suas propriedades físicas, mecânicas e biológicas. Houve um melhor desempenho adesivo em dentina hígida, com o emprego do sistema adesivo contendo cobre, observando 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. Contudo, estudos de longa duração necessitam ser realizados para comprovar o quanto a presença do cobre poderá diminuir a degradação.

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus e a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização do projeto. Ao CNPq, ao meu orientador Alessandro Loguercio e a minha co-orientadora Thalita Paris, pela oportunidade e apoio na elaboração desse trabalho.

Referências

1. THNEIBAT, A. et al. Anticariogenic and antibacterial properties of a copper varnish using an in vitro microbial caries model. **Oper Dent**, v. 33, n. 2, p. 142-8, Mar-Apr 2008.
2. CRUZ, J. B. et al. Eroded dentin does not jeopardize the bond strength of adhesive restorative materials. **Brazilian oral research**, v. 26, n. 4, p. 306-312, 2012.
3. CRUZ, J. B. et al. Bonding stability of adhesive systems to eroded dentin. **Brazilian oral research**, v. 29, n. 1, p. 1-6, 2015.
4. SOUZA, A. P.; GERLACH, R. F.; LINE, S. R. Inhibition of human gelatinases by metals released from dental amalgam. **Biomaterials**, v. 22, n. 14, p. 2025-30, Jul 2001.
5. GUTIÉRREZ, M. et al. Mechanical and microbiological properties and drug release modeling of an etch-and-rinse adhesive containing copper nanoparticles. **Dental Materials**, v. 33, n. 3, p. 309-320, 2017.
6. GOSAU, M. et al. Antimicrobial effect and biocompatibility of novel metallic nanocrystalline implant coatings. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 104, n. 8, p. 1571-1579, 2016.
7. ROSENBAUM, J. et al. Antibacterial properties of nanostructured Cu–TiO 2 surfaces for dental implants. **Biomaterials science**, v. 5, n. 3, p. 455-462, 2017.
8. YOSHIYAMA, M. et al. Bonding of self-etch and total-etch adhesives to carious dentin. **Journal of dental research**, v. 81, n. 8, p. 556-560, 2002.
9. HASS, V. et al. Degradation of dentin-bonded interfaces treated with collagen cross-linking agents in a cariogenic oral environment: An in situ study. **Journal of Dentistry**, v. 49, p. 60-67, 2016.
10. COSTA, A. R. et al. Influence of Different Dentin Substrate (Caries-Affected, Caries-Infected, Sound) on Long-Term μTBS. **Brazilian Dental Journal**, v. 28, n. 1, p. 16-23, 2017