"EFEITO DA INCLUSÃO DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE EM SISTEMAS ADESIVOS UNIVERSAIS NAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E ADESIVAS À DENTINA."

Fernanda Benoski (PIBIC/Fundação Araucária/UEPG), Alessandro Dourado Loguercio (Orientador), e-mail: aloguercio@hotmail.com.
Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Odontologia.

Odontologia – subárea: Materiais Odontológicos – 4.02.09.00-8
Palavras-chave: Adesivos dentinários, Cobre, Resistência à 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 e nanoinfiltração da interface resina-dentina, nas estratégias adesivas convencional (ER) e autocondicionante (SE), bem como a sorção cumulativa de água (SO) e solubilidade (SB). Foi formulada a adição de nanopartículas de cobre a 0,1% no adesivo Ambar Universal. Para os testes de RU e NI, 40 molares humanos foram aleatoriamente distribuídos em 4 condições experimentais com base nas variáveis: concentração de cobre [0 e 0,1%] vs. estratégias adesivas. Aplicado o sistema adesivo, os dentes foram restaurados com resina composta e após 24h, seccionados longitudinalmente para se obter palitos de resina-dentina, testados em tensão a 0,5 mm/min. Para NI, 3 palitos de cada dente foram preparados e analisados em MEV. Para SO e SB, 10 corpos de prova de adesivo de cada condição foram testados durante o período de 56 dias. A inclusão de nanopartículas de cobre na concentração 0,1%, aumentou os valores de RU e melhorou a NI, em ambas as estratégias. Para SO e SB, não apresentou diferenças estatísticas.

Introdução

Desde a introdução da técnica do condicionamento ácido por Buonocore, em 1955, o uso das resinas compostas associadas aos sistemas adesivos tem aumentado significativamente.

Ainda que estéticas e de amplo uso, as resinas atuais comprometem 50 a 70% das restaurações a curto prazo (Jokstad *et al.* 2001). Numa tentativa de minimizar tais problemas na adesão dentinária, os sistemas adesivos vêm sofrendo grandes avanços e sendo constantemente pesquisados no meio científico (Perdigão 2000).

Logo, adesivos contendo agentes antibacterianos foram desenvolvidos (Melo *et al*. 2018) através da nanotecnologia, que permite incorporar nanopartículas capazes de inibir o crecimento bacteriano, controlando os ácidos do biofilme e melhorando a remineralização (Cheng *et al*. 2015). Nesse sentido, o uso de íons metálicos mostra-se promissor por suas propriedades antimicrobianas e antifúngicas reconhecidas (Allaker 2010; Cocco *et al.* 2015).

Ao que se sabe, as nanopartículas de cobre apresentam significativa atividade antimicrobianapossivelmente pela liberação de íons metálicos que posteriormente geram espécies reativas de oxigênio (EROs), uma potencial alternativa frente aos antibióticos e outros agentes antimicrobianos (Khan e Javed 2018).

A partir disso, o objetivo deste estudo *in vitro* foi investigar o efeito da adição do cobre sobre as propriedades mecânicas e adesivas de um sistema adesivo universal, utilizando ambas estratégias adesivas – convencional (ER; *etch-and-rinse ou total-etch)* e autocondicionante (SE; *self-etch)*.

Materiais e Métodos

INCORPORACÃO DE COBRE NO SISTEMA ADESIVO

O adesivo experimental foi formulado a partir da adição de nanopartículas de cobre (99.9% puro, 40-60nm, SkySpring Nanomaterials, Inc., Houston, TX, EUA) no sistema adesivo Ambar Universal (FGM Prod. Odont., Ltda, Joinville, SC, Brasil), com solvente à base de água e etanol, tendo como embasamento estudos anteriores (Gutiérrez *et al.* 2017; Gutiérrez *et al.* 2017). Após pesado em balança analítica de precisão (AY220 Marte/Shimadzu, Tóquio, Japão) em ambiente escuro e 6 mg de cobre, que corresponde a concentração de 0,1%, foi adicionado ao sistema adesivo.

Posteriormente, realizamos os seguintes testes:

SORÇÃO CUMULATIVA DE ÁGUA (SO) E SOLUBILIDADE (SB)

Após confecção de 10 corpos-de-prova de adesivo de cada condição experimental (n = 10) (0% e 0,1%) em uma matriz metálica cilíndrica (5,0 mm de diâmetro x 1,0 mm de espessura), determinamos a sorção e solubilidade seguindo protocolo proposto por (Malacarne *et al.* 2006).

PREPARO DOS DENTES

Para testar as propriedades adesivas, 40 molares humanos hígidos obtidos do Banco de Dentes Humanos da UEPG foram utilizados. Após desinfetados em cloramina 0,5%,os dentes tiveram sua porção de esmalte dentário removida e foram aleatoriamente distribuídos em quatro condições experimentais com base na combinação das variáveis: concentração de cobre no sistema adesivo [0 e 0,1%] *vs*. estratégias adesivas [*ER* e *SE*].

PROCEDIMENTO RESTAURADOR E OBTENÇÃO DOS PALITOS DE RESINA-DENTINA

Os sistemas adesivos foram aplicados de acordo com as recomendações do fabricante. Em seguida, esses dentes foram incrementalmente restaurados com resina composta, armazenados em água destilada a 37 ºC por 24 h e fixados com cera pegajosa aquecida para inserção em máquina de corte, produzindo palitos.

RESISTÊNCIA DE UNIÃO A MICROTRACÃO

Com o auxílio de um paquímetro digital (Digimatic Caliper, Mitutoyo, Tóquio, Japão), foi mensurada a área de secção transversal de cada palito, aproximada de 0,8 mm2. Em seguida, os mesmos foram individualmente fixados em garras de Geraldeli (Perdigao *et al.* 2002). O conjunto garra – palito foi acoplado na máquina de ensaios universais (Kratos Dinamometros, Cotia, SP, Brasil) e testado a 0,5 mm/min de tensão, com uma carga de 100 N, até a ruptura da interface adesiva, para obter valores de RU em MPa. Classificou-se a falha de cada palito segundo o tipo de fratura: coesiva em dentina (CD); coesiva em resina (CR); adesiva/mista (A/M) e falhas prematuras (palitos que fraturaram antes dos testes).

NANOINFILTRACÃO (NI)

Três palitos de cada dente foram imersos em solução amoniacal de nitrato de prata a 50 % em peso (Tay *et al.* 2002) por 24 h em ambiente escuro protegido da luz. Após esse processo, os palitos foram lavados em água destilada e armazenados em solução reveladora sob luz fluorescente por 8 h para que houvesse redução dos íons de prata ao longo das microporosidades na interface de união. Em seguida, os palitos foram fixados em *stubs* de alumínio e polidos com lixas de SiC de diferentes granulações e pastas diamantadas (Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA), com banho 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 (MED 010, Balzers Union, Balzers, Liechtenstein), e analisados em MEV.

Resultados e Discussão

Em estudo de Gutiérrez et al (Gutiérrez *et al.* 2017) a incorporação de nanopartículas de cobre na formulação de um adesivo convencional, mostrou uma grande atividade antimicrobiana sobre *S. mutans*, em todas as suas concentrações (0,0075; 0,015; 0,060; 0,1; 0,5 e 1%) quando comparado com o adesivo controle (0% de cobre). Além disso, o estudo evidenciou que a concentração de 0,1% de cobre apresentou atividade antimicrobiana, além de não alterar as propriedades mecânicas e adesivas, o que justifica a utilização dessa concentração nos testes realizados.

Há um consenso na literatura de que o pré-condicionamento do esmalte melhora a força de adesão dos adesivos universais, mas não há um consenso quanto à dentina (Lawson *et al*. 2015). Apesar disso, Lawson et al (Lawson *et al*. 2015) relatou em um estudo classificações mais satisfatórias de restaurações realizadas utilizando adesivo universal e estratégia convencional (ER) aos 24 meses, apresentando 100% de retenção.

A partir dos testes realizados nesse estudo, em relação a sorção e solubilidade, a adição de cobre não alterou significativamente nenhuma propriedade do adesivo. Apesar de ambos os grupos apresentarem inicialmente absorção de quantidade significativa de água, isso se repetiu em outros estudos (Reis *et al.* 2007; Gutiérrez *et al.* 2017). Isso pode ser explicado pelo fato de a afinidade dos monômeros hidrofílicos contidos na formulação dos adesivos universais poderem resultar em polímeros mais propensos a sorção quando comparados aos polímeros de natureza hidrofóbica (Wagner *et al.* 2014).

Com relação à RU, valores maiores foram obtidos no grupo contendo cobre 0,1%. Quanto à nanoinfiltração, a incorporação de 0,1% de cobre no sistema adesivo reduziu significativamente os valores de NI. Alguns estudos indicam que o cobre pode aumentar a resistência da rede de colágeno, devido a enzima reticuladora de colágeno, a lisila-oxidase (LOX), que é cobre dependente, tendo assim, o cobre, um efeito indireto como agente reticulador. Isto poderia ajudar a aumentar a resistência do colágeno e deixá-lo menos susceptível aos efeitos das enzimas proteolíticas, como as metaloproteinases (MMPs) e catepsinas cisteína (CTs) (Gutiérrez *et al.* 2017), e assim melhorar a RU e diminuir a NI. Esse resultado é condizente com estudo de Gutiérrez et al (Gutiérrez *et al.* 2017), onde observou-se uma diminuição da nanoinfiltração no grupo do adesivo com cobre em concentrações de 0,1; 0,5 e 1% no tempo imediato, quando comparados com o controle.

A partir dos resultados obtidos nesse estudo, observamos que a incorporação de cobre no sistema adesivo universal, melhorou algumas propriedades do adesivo, e não interferiu negativamente nas demais, demonstrando características positivas para uso. Porém são necessários estudos demonstrando a longevidade dos resultados obtidos. Além disso, é um estudo *in vitro*, e devem ser consideradas divergências. As metodologias experimentais realizadas in vitro apresentam vantagens e desvantagens. Alguns fatores relacionados diretamente com a metodologia podem vir a ser de difícil padronização (Tomazinho *et al*. 2007).

Conclusões

Com base no estudo, melhor desempenho adesivo foi verificada 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.

Não houve diferença significativa entre as técnicas adesivas.

Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador Alessandro Dourado Loguercio pela oportunidade de ser sua orientada, e toda a atenção e disposição no decorrer do projeto, a Taíse Alessandra Hanzen e a Thalita de Paris Matos, por toda dedicação e ensinamentos no decorrer do projeto.

Agradeço a Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela bolsa para iniciação científica concedida, para a realização desse projeto.

Referências

ALLAKER, R. The use of nanoparticles to control oral biofilm formation. **Journal of dental research**, v. 89, n. 11, p. 1175-1186, 2010.

CHENG, L. et al. Nanotechnology strategies for composites and antibacterial and remineralizing adhesives to combat dental disease. **Future Medicine**, v. 10, n. 4, p. 191, fev, 2015.

COCCO, A. R. et al. A systematic review about antibacterial monomers used in dental adhesive systems: Current status and further prospects. **Dental Materials**, v. 31, n. 11, p. 1345-1362, 2015.

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.

GUTIÉRREZ, M. F. et al. The role of copper nanoparticles in an etch-and-rinse adhesive on antimicrobial activity, mechanical properties and the durability of resin-dentine interfaces. **Journal of Dentistry**, v. 61, p. 12-20, 2017.

JOKSTAD, A. et al. Quality of dental restorations FDI Commission Project 2–95. **International dental journal**, v. 51, n. 3, p. 117-158, 2001.

KHAN, K.; JAVED, S. Functionalization of inorganic nanoparticles to augment antimicrobial efficiency: a critical analysis. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 19, 2018.

LAWSON, N. C. et al. “Two-Year Clinical Trial of a Universal Adhesive in Total-Etch and Self-Etch Mode in Non-Carious Cervical Lesions.” **Journal of dentistry**, v. 43, n.10 p. 1229–1234, 2015.

MALACARNE, J. et al. Water sorption/solubility of dental adhesive resins. **Dental Materials**, v. 22, n. 10, p. 973-980, 2006.

MELO, M. A. S. et al. Novo Adesivo Dental Contendo Antibacterianos e Nanopartículas de Fosfato de Cálcio. **Revista de pesquisa de materiais biomédicos**, p. 620-629, jul, 2018.

TAY, F. R. et al. Single-step adhesives are permeable membranes. **J Dent**, v. 30, n. 7-8, p. 371-82, Sep./Nov., 2002.

TOMAZINHO, F. L. et al. Estudo in vitro da atividade antimicrobiana de soluções irrigadoras na eliminação de Enterococcus faecalis. **RSBO Revista Sul-Brasileira de Odontologia**, v 4, n.1, p.12-16, 2007.

WAGNER, A. et al. Bonding performance of universal adhesives in different etching modes. **Journal of Dentistry,** v. 42, n. 7, p. 800-807, 2014.