

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA – MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: DENTÍSTICA RESTAURADORA**

ROMINA ANDREA ÑAUPARI VILLASANTE

**DURABILIDADE DA INTERFACE DE UNIÃO ENTRE ADESIVO E DENTINA:
EFEITO DA ADIÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE**

**PONTA GROSSA
2022**

ROMINA ANDREA ÑAUPARI VILLASANTE

**DURABILIDADE DA INTERFACE DE UNIÃO ENTRE ADESIVO E DENTINA:
EFEITO DA ADIÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE.**

Dissertação apresentada como pré-requisito para obtenção do título mestre em Odontologia pela Universidade Estadual de Ponta Grossa, no Curso de Mestrado em Odontologia - Área de Concentração: Dentística Restauradora. Linha de Pesquisa: Propriedades Físico-Químicas e Biológicas dos Materiais Odontológicos.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Dourado Loguercio
Co-orientador: Prof. Dr. Felipe Gutierrez Reyes

**PONTA GROSSA
2022**

N312 Ñaupari Villasante, Romina Andrea
Durabilidade da interface de união entre adesivo e dentina: efeito da adição de nanopartículas de cobre / Romina Andrea Ñaupari Villasante. Ponta Grossa, 2022.
47 f.

Dissertação (Mestrado em Odontologia - Área de Concentração: Dentística Restauradora), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Dourado Loguercio.

Coorientador: Prof. Dr. Felipe Gutiérrez Reyes.

1. Adesivos convencionais. 2. Dentina. 3. Resistência de união. 4. Nanoinfiltração. 5. Presença de cobre. I. Loguercio, Alessandro Dourado. II. Gutiérrez Reyes, Felipe. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Dentística Restauradora. IV.T.

CDD: 617.6

TERMO DE APROVAÇÃO

ROMINA ANDREA ÑAUPARI VILLASANTE

DURABILIDADE DA INTERFACE DE UNIÃO ENTRE ADESIVO E DENTINA: EFEITO DA ADIÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Stricto sensu em Odontologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração em Dentística Restauradora, linha de pesquisa de Propriedades Físico-Químicas e Biológicas dos Materiais Odontológicos.

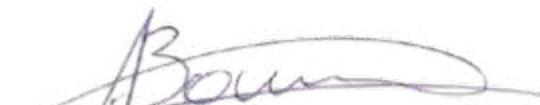
Ponta Grossa, 15 de fevereiro de 2022.



Prof. Dr. Alessandro Dourado Loguercio - Orientador
Universidade Estadual de Ponta Grossa



Profa. Dra. Evelise Machado de Souza
Pontifícia Universidade Católica do Paraná



Prof. Dr. Jose Roberto de Oliveira Bauer
Universidade Federal do Maranhão

DADOS CURRICULARES

ROMINA ANDREA ÑAUPARI VILLASANTE

NASCIMENTO	14 – 09 - 1991 Lima – Lima – Perú
FILIAÇÃO	Liliana Pilar Villasante López Victor Ricardo Ñaupari Sedano
2009 – 2013	Curso de Graduação em Odontologia da Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH), Lima, Perú.
2015 – 2017	Curso de Especialização em Odontologia Restauradora e Estética, Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH), Lima, Perú
2020 – 2022	Curso de Pós-graduação em Odontologia. Área de concentração: Dentística Restauradora. Nível Mestrado em Odontologia. Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), PR, Brasil.

Aos meus pais, Liliana Villasante e Ricardo Ñaupari,

Pelo amor infinito e o apoio incondicional desde sempre, mesmo aceitando a distância nos separar por um tempo, e tudo seja para atingir as minhas metas de crescimento pessoal e profissional. Por sempre acreditarem em mim e me ensinarem o caminho certo. Sem eles eu não seria a pessoa que sou hoje.

Aos meus avós, Irma López e Julio Villasante,

Por que mais que avós, eles são meus pais também. Pelo amor e o carinho de sempre, mesmo na distância. Por me ensinar o que é a responsabilidade, a perseverança e o esforço na vida para os sonhos se tornarem realidade.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar meu caminho e me dar o presente da vida, dia a dia.

Ao meu orientador Prof. Dr. Alessandro D. Loguercio, por me aceitar como orientada e por me ensinar tanto neste caminho. Muito obrigada pelo carinho, pela confiança depositada em mim, pelo apoio e pelas oportunidades que sempre me ofereceu.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa e ao Programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Odontologia, na pessoa da sua coordenadora a Prof^a. Dr^a. Nara Hellen Bombarda.

À minha irmã da vida, minha amiga Paola Lolo, pelo apoio e carinho desde sempre, por fazer que a distância não exista nunca entre as duas, com certeza ter você na minha vida é um presente de Deus.

Ao meu namorado Felipe Gutiérrez, pelo amor, o carinho e o apoio que sempre me deu neste caminho. Por ser meu melhor amigo e parceiro para compartilhar os nossos sonhos e crescer juntos.

À minha amiga e parceira Alejandra Nuñez, pelo carinho e a amizade, pela humildade e paciência para me ensinar e pelo abraço quando as coisas se tornavam difíceis.

Aos meus amigos que o Brasil me deu, a Taynara Carneiro, Michel Wendlinger, Michael Favoreto e Heloisa Forville, vocês são demais, muito obrigada pela amizade, o carinho e por me ajudarem quando precisei, agradeço muito por ter vocês na minha vida.

A todos os professores do Programa de pós-graduação em Odontologia da UEPG que transmitiram seus conhecimentos durante o curso.

Aos funcionários do Programa de pós-graduação em Odontologia da UEPG.

RESUMO

ÑAUPARI RA. **Durabilidade da interface de união entre adesivo e dentina: efeito da adição de nanopartículas de cobre.** [Dissertação] - Mestrado em Odontologia – Área de Concentração Dentística Restauradora - Universidade Estadual de Ponta Grossa; 2022.

Objetivos: Este estudo avaliou o efeito da adição de nanopartículas de cobre (NpCu), em diferentes concentrações, em um sistema adesivo de condicionamento e lavagem simplificado (Ambar [FGM] na resistência de união resina-dentina (RU), nanoinfiltração (NI), e a presença de nanopartículas de cobre (PC) dentro da camada híbrida, nos tempos imediatos (IM) e após 1 (1A), 2 (2A) e 4 anos (4A) de armazenamento em água. *Material e métodos:* Sete sistemas adesivos experimentais foram formulados de acordo com a concentração de nanopartículas de cobre (0 [controle], 0,0075, 0,015, 0,06, 0,1, 0,5 e 1% em peso) a ser adicionada no adesivo. O esmalte oclusal e periférico de trinta e cinco molares foi removido e os adesivos foram aplicados nas superfícies de dentina após condicionamento com ácido fosfórico a 37% e, em seguida, foram feitas as restaurações de resina composta. Os espécimes foram seccionados longitudinalmente para obtenção de espécimes (palitos) de resina-dentina ($0,8 \pm 0,1 \text{ mm}^2$). Os espécimes foram armazenados em água destilada a 37°C. De cada dente de cada grupo, 4 espécimes foram testados em tensão a 0,5 mm/min (RU) em cada tempo. Já para NI e PC, 1 espécime de cada dente foi preparado e analisado no MEV. Para RU e NI os dados foram submetidos a análise de variância de 2 fatores para medidas repetidas. Foi feito o teste *post hoc* de Tukey para múltiplas comparações. A significância estatística foi definida em $\alpha = 0,05$. *Resultados:* A adição de 0,5% de NpCu no sistema adesivo aumentou significativamente os valores de RU no tempo IM ($p < 0,05$). Após 1A, 2A e 4A, todos os adesivos com cobre mostraram maiores valores de RU ($p < 0,05$), exceto o grupo de 0,075% após 2A. Todos os adesivos apresentaram um decréscimo significativo de RU ao longo do tempo ($p < 0,05$), exceto o grupo de 1% de NpCu ($p \geq 0,05$). Decréscimos significativos nos valores de NI foram observados nos adesivos com cobre no tempo IM ($p < 0,05$). Após 1A, 2A e 4A, os adesivos com 0,075% até 1% de NpCu mostraram valores menores de NI quando comparados ao controle. Os adesivos contendo cobre apresentaram um aumento significativo de NI só após 4A ($p < 0,05$). A presença de cobre na camada híbrida foi identificada a partir da concentração de 0,060%, no tempo IM e após 4A. *Conclusão:* A adição de NpCu a partir de concentrações de 0,06% até 0,5% é uma alternativa para melhorar as propriedades adesivas no tempo imediato, e diminuir a degradação da interface adesiva ao longo do tempo.

Palavras-chave: Adesivos Convencionais; Dentina; Resistencia de união; Nanoinfiltração; Presença de cobre.

ABSTRACT

ÑAUPARI RA. **Durability of resin/dentin interfaces: effects of copper-nanoparticles added into an adhesive.** [Dissertation] – Master of Science in Dentistry – Concentration Area: Restorative Dentistry - State University of Ponta Grossa; 2022.

Objectives: This study evaluated the effect of addition of copper nanoparticles (CuNp) at different concentrations into a simplified etch-and-rinse (ER) adhesive system (Ambar [FGM]) on the immediate (IM), 1-year (1y), 2-years (2y) and 4-years (4y) resin-dentin bond strength (μ TBS), nanoleakage (NL), and presence of copper nanoparticles (PC) within the hybrid layer. *Methods:* Seven experimental adhesive systems were formulated according to the addition of CuNp concentration (0 [control], 0.0075, 0.015, 0.06, 0.1, 0.5 and 1%). The occlusal enamel of thirty-five molars were removed and adhesives were applied to dentin surface after 37% phosphoric acid etching, followed by composite resin restorations. The specimens were longitudinally sectioned to obtain resin-dentin beam-like ($0.8 \pm 0,1 \text{ mm}^2$) and were stored in distilled water at 37°C. From each tooth from each group, four specimens were tested in tension at 0.5mm/min at each time (μ TBS). As for NL and PC, 1 resin-dentin beam-like of each tooth was prepared and analyzed by SEM. The μ TBS and NL data of each adhesive were subjected to two-way repeated measures ANOVA. Tukey's post hoc test was used for pair-wise comparisons ($\alpha = 0.05$). *Results:* Addition of 0.5% CuNp in the adhesive system significantly increased the μ TBS at IM ($p < 0.05$). After 1y, 2y and 4y, copper-containing adhesives showed higher values of μ TBS ($p < 0.05$), excepted for 0.075% CuNp after 2y. All adhesives showed a significant decrease in μ TBS over time ($p < 0.05$), except for 1% CuNp ($p \geq 0.05$). Significant decreases in the NL values were observed in the copper-containing adhesives at IM ($p < 0.05$). After 1y, 2y and 4y, adhesives with 0.075% to 1% of CuNp showed significant decrease in NL values. Copper-containing adhesives showed a significant increase in NL only after 4y ($p < 0.05$). Presence of copper within the hybrid layer was identified from 0.06% concentration at IM and after 4y. *Conclusion:* The addition of copper nanoparticles in concentrations from 0.06% to 0.5% is an alternative to improve the adhesive properties at immediate time and to decrease the degradation of the adhesive interface over time.

Keywords: Etch-and-rinse; Adhesives; Dentin; Copper; Microtensile bond strength; Nanoleakage; Presence of copper.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Diagrama explicativo do delineamento do estudo. Fonte: O autor.....	23
Figura 2.	Preparo da superfície de dentina. Fonte: Gutiérrez MF 2017.....	24
Figura 3.	Estratégia adesiva condicionamento e lavagem. Fonte: Gutiérrez MF 2017.	25
Figura 4.	Restauração dos dentes após aplicação das variáveis adesivas. Fonte: Gutiérrez MF 2017.	25
Figura 5.	Sequência de corte para a obtenção dos palitos. Fonte: Gutiérrez MF. 2017.	26
Figura 6.	Sequência para o teste de microtração. Fonte: O autor.....	27
Figura 7.	Preparação de amostras para NI. Fonte: O autor.	28
Figura 8.	Imagens (MEV) representativas da interface de união à dentina, obtidas em cada condição experimental, no tempo imediato (A0-G0) e após 1 ano (A1-G1), 2 anos (A2-G2) e 4 anos (A4-G4). Fonte: O autor.	33
Figura 9.	Análise composicional das nanopartículas de cobre, obtida por Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS). Fonte: O autor.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Sistema adesivo utilizado, composição, modo de aplicação e número de lote.....	22
Tabela 2.	Médias e desvios-padrão da resistência de união à microtração (MPa) obtida em cada condição experimental.....	30
Tabela 3.	Tipo de fratura das interfaces resina-dentina obtidas após o teste de resistência de união à microtração em cada condição experimental.....	31
Tabela 4.	Médias e desvios-padrão da nanoinfiltração (%) obtida em cada condição experimental.....	32

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

1A	1 ano
2A	2 anos
4A	4 anos
A	Fratura adesiva
C	Fratura coesiva
COEP	Comitê de ética em pesquisa
CON	Estratégia adesiva de condicionamento e lavagem
EDX	Espectroscopia de energia dispersiva de raios X, pela frase em inglês <i>Energy-dispersive X-ray spectroscopy</i>
FP	Fratura prematura
IM	Imediato
LED	Diodo emissor de luz, pela frase em inglês <i>Light Emitting Diode</i>
M	Fratura mista
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NI	Nanoinfiltração
NpCu	Nanopartículas de cobre
N° ou n	Número
PC	Presença de cobre
RU	Resistência de união

LISTA DE SÍMBOLOS E UNIDADES

#	Número
%	Porcentagem
=	Igual
<	Menor que
>	Maior que
≥	Maior ou igual que
±	Mais ou menos
≈	Aproximadamente
μm	Micrometro
s	Segundo (s)
min	Minuto (s)
MPa	Mega Pascal
mm	Milímetro (s)
mm ²	Milímetro (s) quadrado (s)
mm/min	Milímetro (s) por minuto
mW	MiliWatts
mW/cm ²	MiliWatts por centímetro (s) quadrado
°C	Grau (s) Celsius
n	Número de corpos de prova
N	Newton
X	Número de vezes
rpm	Rotações por minuto
h	Hora (s)
α	Nível de significância
p	Valor de probabilidade

SUMARIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	LONGEVIDADE DAS RESTAURAÇÕES EM RESINA COMPOSTA.....	15
2.2	OS SISTEMAS ADESIVOS.....	16
2.2.1	Degradação da camada híbrida.....	17
2.2.1.1	Degradação dos monômeros resinosos.....	18
2.2.1.2	Degradação da matriz de colágeno.....	18
2.3	ESTRATÉGIAS PARA PREVENIR OU DIMINUIR A DEGRADAÇÃO DA INTERFASE ADESIVA	19
2.3.1	Adição de nanopartículas no sistema adesivo.....	19
2.3.2	Nanopartículas de cobre.....	19
3	OBJETIVOS	21
3.1	OBJETIVO GERAL.....	21
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
4	MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1	SISTEMAS ADESIVOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	22
4.1.1	Preparação dos dentes e procedimentos adesivos	23
4.1.2	Teste de resistência de união à dentina por microtração (RU).....	26
4.1.3	Avaliação da Nanoinfiltração (NI) por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	27
4.1.4	Identificação da presença de cobre na camada híbrida	29
4.2	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	29
5	RESULTADOS	30
5.1	RESISTÊNCIA DE UNIÃO À MICROTRAÇÃO (RU).....	30
5.2	AVALIAÇÃO DA NANOINFILTRAÇÃO (NI).....	32
5.3	PRESENÇA DE COBRE NA CAMADA HÍBRIDA.....	34
6	DISCUSSÃO	35
7	CONCLUSÃO	38
	REFERÊNCIAS	39
	ANEXO A – APROVAÇÃO DO PROJETO PELA COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA (COEP / UEPG)	44

1 INTRODUÇÃO

A resina composta é o material de eleição para a maioria das restaurações diretas (Demarco et al. ¹ 2012), mostrando uma boa sobrevida, com uma taxa de falha anual de até 5% (Demarco et al. ² 2017). Entretanto, quando essas restaurações falham, as principais causas são as lesões de cárie adjacente à margem da restauração, e fratura (Opdam et al. ³ 2014). A necessidade de troca devido às falhas leva a um aumento dos custos em saúde pública para refazer estas restaurações. Só nos Estados Unidos, das 170 milhões das restaurações com materiais diretos colocados a cada ano, 60% delas são substituições de restaurações consideradas degradadas, em geral por que houve um diagnóstico de uma “lesão cariosa” adjacente à margem da restauração (Spencer et al. ⁴ 2019; Eltahlah et al. ⁵ 2018). Em relação ao impacto econômico mundial, o custo indireto de tratamento relacionado a restauração de lesões de cárie dentária é cerca de 21 bilhões de dólares, sem se considerar o impacto na qualidade de vida dos pacientes acometidos por esta doença (Righolt et al. ⁶ 2018).

O processo adesivo é a base da retenção das resinas compostas à estrutura dentária, que requer da infiltração dos monômeros resinosos presentes no adesivo entre as fibrilas de colágeno e dentina subjacente, gerando uma zona de interdifusão resina-dentina, também chamada de camada híbrida (Nakabayashi et al. ⁷ 1991). No entanto apesar da maioria dos sistemas adesivos mostrarem uma boa retenção imediata ao substrato dentário, a eficácia da interface adesiva à dentina diminui significativamente ao longo do tempo (Frassetto et al. ⁸ 2016). Fatores como a sorção de água e hidrólise dos monômeros resinosos, o baixo grau de conversão de monômero para polímero, bem como a infiltração incompleta dos monômeros resinosos, e a incompleta evaporação do solvente, podem impedir a formação de uma interface adesiva mais resistente e estável (Spencer et al. ⁹ 2010). Além destes fatores, a degradação das fibras colágenas na área de dentina desmineralizada e não infiltrada pelos monômeros resinosos pela ação das metaloproteinases da matriz dentinária (MMPs) (Huang et al. ¹⁰ 2018), torna a interface adesiva menos resistente à desafios físicos, químicos e mecânicos presentes na boca (Spencer et al. ¹¹ 2012). Assim, a degradação da interface adesiva é o principal fator para a diminuição da longevidade de restaurações adesivas ao longo do tempo (Tjäderhane ¹² 2015).

Diferentes mecanismos para melhorar a estabilidade da interface adesiva em dentina estão sendo estudados. A adição de inibidores das MMPs, agentes de reticulação, agentes antimicrobianos (Zhou et al. ¹³ 2019), ou a incorporação de partículas bioativas para a remineralização da interface adesiva (Braga e Fronza ¹⁴ 2020), tem sido algumas destas estratégias. Mais recentemente a adição de nanopartículas metálicas tem se destacado. O pequeno tamanho de partícula e alta área de superfície das nanopartículas oferecem vantagens quando incorporadas ao adesivo. Altos níveis de íons terapêuticos são liberados com baixas concentrações de partículas de carga, sem comprometer as propriedades mecânicas do adesivo, além de sua capacidade de infiltrar entre as fibrilas de colágeno e os túbulos dentinários (Elkassas e Arafa ¹⁵ 2017).

Entre as diferentes nanopartículas já avaliadas (Braga e Fronza ¹⁴ 2020), as nanopartículas de cobre (NpCu) tem se destacado, em especial devido a sua excelente atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas e gram-negativas (Ingle et al. ¹⁶ 2014). Além disso, o cobre parece atuar como um inibidor da atividade da MMP-2, o que poderia influenciar na preservação da matriz extracelular (de Souza et al. ¹⁷ 2000). Assim, quando as nanopartículas de cobre foram incorporadas em um adesivo, estas melhoraram as propriedades antimicrobianas e adesivas, além de prevenir a degradação da interface de união após 2 anos de armazenagem *in vitro* (Gutierrez et al. ¹⁸ 2017; Gutierrez et al. ¹⁹ 2017). Mais recentemente, um estudo clínico mostrou que a adição de NpCu em um adesivo universal diminui as discrepâncias marginais em restaurações de lesões cervicais não cariosas, depois de 18 meses de avaliação (Matos et al. ²⁰ 2019).

Contudo, infelizmente, até a extensão do conhecimento dos autores, não existem estudos que avaliem se esses efeitos promissores das NpCu na preservação da camada híbrida continuam ao longo do tempo. Assim, o objetivo deste estudo é avaliar o efeito da incorporação de NpCu no sistema adesivo de condicionamento e lavagem simplificado, nas propriedades adesivas após 4 anos de armazenagem *in vitro*. A identificação da presença de cobre na camada híbrida também foi avaliada.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 LONGEVIDADE DAS RESTAURAÇÕES EM RESINA COMPOSTA

A cárie dentária continua sendo uma das doenças crônicas globais mais prevalentes. O tratamento dessa doença depende do estágio reversível ou irreversível das lesões; nesse último, os tecidos desmineralizados são removidos e substituídos por um material restaurador (Pitts et al. ²¹ 2017). Atualmente, as resinas compostas são o material de eleição para as restaurações diretas, devido a suas propriedades estéticas e aos bons resultados relacionados ao comportamento clínico do material (Demarco et al. ¹ 2012), sendo também globalmente utilizadas para alterações de forma, tamanho e da cor dos dentes (Rangreez e Mobin ²² 2019).

As restaurações com resina composta têm uma boa sobrevivência clínica tanto em dentes anteriores como em posteriores, com uma taxa de falha anual de até 5%. Contudo, estas taxas de sobrevida podem ser negativamente influenciadas pelos seguintes fatores: a) risco de cárie, bruxismo e hábitos parafuncionais, idade, nível socioeconômico e a sua demanda estética); b) a experiência clínica do operador, e c) a sensibilidade da técnica restauradora (Demarco et al. ² 2017). Uma análise de estudos longitudinais demonstrou que as principais causas de falha das restaurações são a cárie adjacente à margem da restauração e a fratura, as quais aparecem durante os primeiros 6 anos e aumentam ao longo do tempo (Opdam et al. ³ 2014).

Devido as falhas das restaurações com resina composta, o reparo ou a troca delas torna-se necessária (Kanzow et al. ²³ 2016), o que leva o aumento dos custos em saúde pública. Tem sido reportado, que só nos Estados Unidos, das aproximadamente 170 milhões de restaurações com materiais diretos colocados a cada ano, quase o 60% delas são substituições de restaurações consideradas insuficientes, onde a principal causa é o diagnóstico de lesão cariiosa adjacente à margem da restauração, seguindo de fratura e descoloração marginal (Spencer et al. ⁴ 2019; Eltahlah et al. ⁵ 2018). Nesse sentido, o tratamento relacionado à restauração de lesões de cárie dentária tem um impacto importante na economia mundial, desde que a perda de produtividade por parte de pacientes acometidos pela doença, além de outros custos indiretos são ao redor de 21 bilhões de dólares/ano, sem considerar os custos intangíveis em termos de qualidade de vida dos pacientes (Righolt et al. ⁶ 2018).

A cárie adjacente à margem da restauração, também chamada de cárie secundária, é um processo complexo e multifatorial, onde as várias causas da cárie interatuam com as características específicas da restauração e do material restaurador; envolvendo a desmineralização do esmalte e dentina, e a dissolução enzimática do componente orgânico da dentina, mas modificados pela presença de uma restauração (Askar et al. ²⁴ 2020). As lesões de cárie secundária podem consistir em duas partes: uma lesão externa (desenvolvida na superfície do dente próximo à margem da restauração), e uma lesão na parede da cavidade (ao longo da interface dente-restauração), a qual pode-se desenvolver como consequência de microinfiltração, mesmo na ausência de uma lesão externa (Nedeljkovic et al. ²⁵ 2015).

O biofilme formado ao redor das restaurações de resina composta apresenta uma maior proporção de *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) e de *Lactobacillus* (Thomas et al. ²⁶ 2008), dos quais, o *S. mutans*, principal bactéria cariogênica, teria uma interação particular com a resina composta, tornando-as mais vulneráveis à degradação. Os mecanismos reportados são: a) o aumento da rugosidade superficial da resina composta, levando a um maior acúmulo de biofilme, e b) a degradação da matriz resinosa por meio da ação de esterases bacterianas, resultando em uma falha na interface, o que leva à microinfiltração bacteriana, e finalmente ao aumento da susceptibilidade à cárie secundária (Bourbia et al. ²⁷ 2013; Nedeljkovic et al. ²⁸ 2017). Por sua vez, a hidrólise dos monômeros resinosos libera subprodutos que modulam a expressão do gene das esterases no *S. mutans*, aumentando sua produção, o que resulta em uma atividade hidrolítica elevada do *S. mutans*. Todos estes fatores levam a uma aceleração da degradação das resinas compostas e adesivos, e potencialmente aumentando a taxa de cárie secundária e a troca de restauração (Huang et al. ²⁹ 2018).

2.2 OS SISTEMAS ADESIVOS

Os sistemas adesivos mostram uma boa retenção imediata ao substrato dentário permitindo o uso de técnicas restauradoras conservadoras. São compostos em geral por um ácido (para a remoção de cristais e exposição das fibrilas de colágeno), um *primer* (solução hidrofílica que permite a infiltração dos monômeros

resinosos na dentina), e um adesivo (monômeros resinosos que penetram nas superfícies tratadas com o *primer*) (Breschi et al. ³⁰ 2018).

Os sistemas adesivos podem se classificar de acordo com o tratamento de superfície da dentina, nos seguintes grupos: sistemas adesivos de condicionamento e lavagem, que removem completamente a lama dentinária ou *smear layer*, pelo condicionamento com ácido ortofosfórico. Estes adesivos são subdivididos em sistemas de condicionamento e lavagem de dois ou três passos, dependendo da aplicação combinada e simplificada (dois passos) ou separada (três passos) do *primer* e adesivo. Sistemas adesivos autocondicionantes, aqueles modificam o *smear layer* e incorpora-o no processo adesivo (sem o uso de condicionamento ácido da dentina), e são divididos em sistemas autocondicionantes de dois passos (o *primer* e o adesivo resinoso em frascos separados), ou simplificado de apenas um passo (o *primer* e o adesivo combinados). Por último, surgiram os sistemas adesivos universais, que são aqueles que podem ser utilizados no modo condicionamento e lavagem ou autocondicionante (Van Meerbeek et al. ³¹ 2020).

Independentemente da estratégia utilizada, o processo adesivo depende da formação da camada híbrida, uma zona de interdifusão resina-dentina formada pela infiltração dos monômeros resinosos do adesivo entre as fibrilas de colágeno previamente expostas por condicionamento ácido (Nakabayashi et al. ⁷ 1991), fornecendo uma adesão contínua e estável entre o adesivo e a dentina. Assim, a camada híbrida poderia ser a primeira defesa contra substâncias e patógenos que podem penetrar e prejudicar a restauração de resina composta. Entretanto, ela pode se degradar ao longo do tempo devido a muitos fatores, sendo considerada o link mais fraco na interface adesivo-dentina (Spencer et al. ⁹ 2010).

2.2.1 Degradação da camada híbrida

Os principais mecanismos de falha da camada híbrida são a degradação dos monômeros resinosos, e a degradação das fibrilas de colágeno (Perdigão et al. ³² 2013).

2.2.1.1 Degradação dos monômeros resinosos.

A degradação envolve a hidrólise e lixiviação dos monômeros resinosos infiltrados na matriz dentinária desmineralizada pela presença de água na interface adesiva. Isso ocorre devido ao fato de que os componentes hidrofílicos apresentem uma limitada conversão monômero/polímero devido em especial a separação de fases do adesivo (Spencer e Wang ³³ 2002). Isto leva a formação de um polímero menos resistente e suscetível à degradação enzimática (Kostoryz et al. ³⁴ 2009). A polimerização incompleta da fase hidrofílica e a sorção de água do material permitem uma degradação rápida no ambiente aquoso. Isto promove a hidrólise química das ligações éster em materiais adesivos. Com o tempo as enzimas esterases salivares e de bactérias como o *S. mutans* aceleram a degradação. A hidrólise é considerada a principal causa de degradação resinosa dentro da camada híbrida, contribuindo a redução da resistência de união ao longo do tempo (Frassetto et al. ⁸ 2016).

2.2.1.2 Degradação da matriz de colágeno.

A degradação da camada híbrida afeta também a matriz de colágeno. A incompleta penetração dos monômeros resinosos no adesivo entre as fibrilas de colágeno resulta em uma incompleta hibridação, deixando as fibrilas de colágeno expostas à degradação hidrolítica (Betancourt et al. ³⁵ 2019), e zonas microporosas dentro da camada híbrida que resultam em nanoinfiltração (Tay et al. ³⁶ 2005). A rede de colágeno exposta é vulnerável à degradação hidrolítica e proteolítica, principalmente pela ação das metaloproteinases da matriz (MMPs). Além disso, as MMPs na dentina poderiam ser ativadas pela acidez induzida pelos sistemas adesivos de condicionamento e lavagem e autocondicionantes quando aplicados à dentina durante o processo adesivo. O baixo pH fornece as condições para a inibição da atividade dos inibidores de tecido de metaloproteinases (TIMPs), aumentando a atividade colagenolítica e gelatinolítica das MMPs na dentina (MMP-2 e MMP-9); e também a ativação das cisteína catépsinas, envolvidas na degradação da camada híbrida ao longo do tempo (Mazzoni et al. ³⁷ 2015).

2.3 ESTRATÉGIAS PARA PREVENIR OU DIMINUIR A DEGRADAÇÃO DA INTERFACE ADESIVA

Diferentes estratégias têm sido desenvolvidas ou estudadas com o objetivo de diminuir ou prevenir a degradação da interfase adesiva, intervindo nos mecanismos de ação nos diferentes fatores envolvidos. Algumas estratégias envolvem o uso de inibidores das MMPs, ou o uso de agentes de ligação cruzada do colágeno para prevenir a perda de colágeno da camada híbrida (Tjäderhane ¹² 2015). Outras estratégias são desenvolvidas na modificação dos sistemas adesivos pela adição de moléculas bioativas, agentes remineralizantes, antibacterianos ou anti-MMPs na composição dos sistemas adesivos (Zhou et al. ¹³ 2019; Braga e Fronza ¹⁴ 2020).

2.3.1 Adição de nanopartículas no sistema adesivo.

Diferentes tipos de nanopartículas terapêuticas têm sido incorporados nos adesivos resinosos (Imazato et al. ³⁸ 2014). O pequeno tamanho de partícula e a maior área de superfície das nanopartículas oferece como vantagem a obtenção de um alto nível de íons terapêuticos liberados com menor concentração de partículas de carga sem comprometer as propriedades do adesivo. Assim, é de fundamental importância a definição da concentração ideal de nanopartículas para a obtenção do efeito terapêutico desejado, sem comprometer as propriedades mecânicas do adesivo e a capacidade de adesão ao substrato dentário. (Elkassas e Arafa ¹⁵ 2017).

2.3.2 Nanopartículas de cobre

O cobre é um conhecido agente biocida eficaz contra bactérias gram-positivas e gram-negativas (Ingle et al. ¹⁶ 2014). Dada sua ação antibacteriana, a adição de nanopartículas de cobre em um sistema adesivo poderia ajudar a reduzir a cárie secundária e melhorar a longevidade das restaurações (Chen et al. ³⁹ 2018). De acordo com estudos *in vitro*, a adição de nanopartículas de cobre em um adesivo de condicionamento e lavagem simplificado produziu um material adesivo com propriedades antimicrobianas contra o *S. mutans*, sem reduzir as propriedades mecânicas do adesivo (Gutierrez et al. ¹⁸ 2017; Gutierrez et al. ¹⁹ 2017), e sem aumentar o efeito de citotoxicidade no adesivo, uma vez que foi demonstrado que a

adição de nanopartículas de cobre numa concentração de 0,1% não tem efeito nocivo contra células osteoblásticas quando comparado a um adesivo sem nanopartículas (Gutierrez et al. ⁴⁰ 2019).

Por outro lado, o cobre tem a capacidade de interatuar com enzimas, como a lysyl oxidase, uma enzima responsável pela ligação cruzada entre as fibrilas de colágeno, que são cobre dependentes (Rucker et al. ⁴¹ 1998). Isto colabora na melhoria da resistência da rede de colágeno por meio de uma ação indireta do cobre como agente de ligação cruzada do colágeno (Gutierrez et al. ¹⁸ 2017). Além disso, o cobre tem a habilidade de inibir a MMP-2 da dentina (de Souza et al. ¹⁷ 2000), e estimular a secreção de inibidores teciduais (TIMPs) de MMPs (Siméon et al. ⁴² 2000), causando um menor padrão de degradação na interface adesiva.

A respeito as propriedades adesivas da interface resina-dentina formuladas com o adesivo contendo nanopartículas de cobre, estas mostraram uma melhora significativa quando comparadas com as formuladas com o adesivo sem nanopartículas de cobre, resultando em um aumento da resistência de união e uma diminuição da nanoinfiltração. Adicionalmente, a presença de cobre na camada híbrida e na camada adesiva minimizou a degradação da interface, mesmo após dois anos de armazenamento em água (Gutierrez et al. ¹⁸ 2017). Também vale mencionar que um recente estudo clínico mostrou que a incorporação de nanopartículas de cobre em um adesivo universal manteve (estratégia de condicionamento e lavagem) ou melhorou (estratégia autocondicionante) o desempenho clínico de restaurações em lesões cervicais não cariosas, após 18 meses de avaliação (Matos et al. ²⁰ 2019).

Apesar de todas estas informações positivas sobre os efeitos da adição de nanopartículas de cobre na composição dos sistemas adesivos quanto às propriedades mecânicas e adesivas da camada híbrida, ainda faltam estudos que tragam informações sobre a durabilidade desses efeitos ao longo prazo. Baseados no exposto, o objetivo deste estudo é avaliar o efeito da incorporação de NpCu no sistema adesivo de condicionamento e lavagem simplificado, nas propriedades adesivas, bem como a identificação da presença de cobre na camada híbrida, após 4 anos de armazenagem *in vitro*. A hipótese nula é que não há diferença entre os sistemas adesivos contendo as diferentes concentrações de NpCu e o adesivo controle nas propriedades adesivas e na presença de cobre na camada híbrida após 4 anos de armazenagem em água.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Determinar o efeito da incorporação de nanopartículas de cobre (NpCu) em diferentes concentrações, em um sistema adesivo de condicionamento e lavagem simplificado nas propriedades adesivas à dentina após 4 anos de armazenamento em água.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

3.2.1 Avaliar o efeito da adição de diferentes concentrações de cobre (0%, 0,0075%; 0,015%; 0,060%; 0,1%; 0,5% e 1%) em um sistema adesivo de condicionamento e lavagem simplificado na resistência de união, no tempo imediato e após 1, 2 e 4 anos.

3.2.2 Avaliar o efeito da adição de diferentes concentrações de cobre (0%, 0,0075%; 0,015%; 0,060%; 0,1%; 0,5% e 1%) em um sistema adesivo de condicionamento e lavagem simplificado na nanoinfiltração, no tempo imediato e após 1, 2 e 4 anos.

3.2.3 3.2.3 Avaliar a presença de cobre na camada híbrida do sistema adesivo de condicionamento e lavagem simplificado com as diferentes concentrações de cobre (0%, 0,0075%; 0,015%; 0,060%; 0,1%; 0,5% e 1%), no tempo imediato e após 4 anos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi previamente aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa, com parecer sob número 1.065.446 (Anexo A).

4.1 SISTEMAS ADESIVOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os adesivos experimentais foram formulados utilizando o sistema adesivo de condicionamento e lavagem simplificado Ambar (FGM Prod. Odont., Ltda, Joinville, SC, Brasil). Esse adesivo que se apresenta em frasco único com solvente à base de água e etanol, e preconiza a técnica de condicionamento ácido previamente à aplicação do adesivo. A Tabela 1 mostra a sua composição, modo de aplicação e número de lote.

Tabela 1. Sistema adesivo utilizado, composição, modo de aplicação e número de lote.

Adesivo	Composição	Modo de aplicação	Número de lote
Ambar (FGM Prod. Odontológicos, Joinville, SC, Brasil)	Monômeros	1. Aplicar ácido fosfórico na dentina por 15 s.	260714
	metacrilatos	2. Lavar por 15 s. Secar com um jato de ar.	260813
	(UDMA e MDP),	Manter a dentina úmida.	
	fotoiniciadores, co-	3. Aplicar vigorosamente duas camadas de adesivo por 20 s (10 s por cada camada).	
	iniciadores,	4. Aplicar suavemente jato de ar por 10 s para evaporar o solvente.	
estabilizantes,	5. Polimerizar por 10 s.		
nanopartículas de sílica inerte e etanol.			

UDMA = Dimetacrilato de uretano; **MDP** = di-hidrogenofosfato de metacrilóiloxidecil.

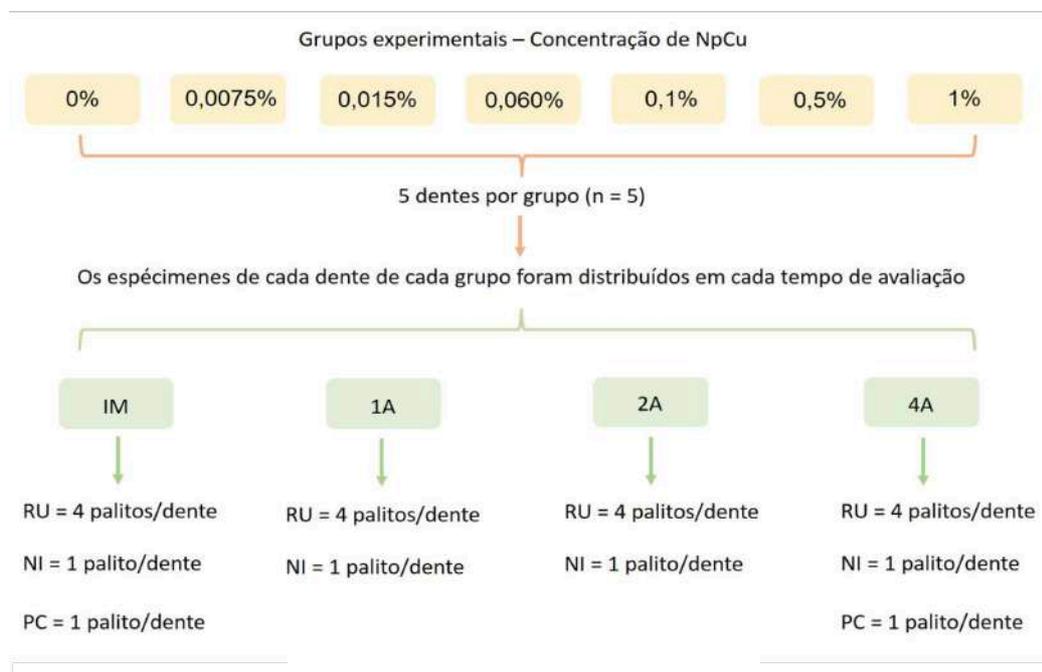
Fonte: O Autor.

Nanopartículas de cobre (99.9% puro, 40 – 60 nm, SkySpring Nanomaterials, Inc., Houston, TX, EUA) foram adicionadas ao sistema adesivo em diferentes concentrações (% em peso): 0 % (controle, adesivo comercial); 0,0075%; 0,015%; 0,06%; 0,1%; 0,5% e 1% (adesivos experimentais). A incorporação das nanopartículas à solução do adesivo foi feita por agitação em um misturador em um

quarto escuro (Gutierrez et al. ¹⁸ 2017). O delineamento do estudo é explicado na Figura 1. O estudo foi dividido em quatro fases descritas a seguir:

- Avaliação imediata das propriedades adesivas, resistência de união e nanoinfiltração.
- Identificação imediata da presença de cobre na camada híbrida.
- Avaliação após 1, 2 e 4 anos de armazenamento em água da resistência de união e nanoinfiltração.
- Identificação após 1, 2 e 4 anos de armazenamento em água da presença de cobre na camada híbrida.

Figura 1. Diagrama explicativo do delineamento do estudo. NpCu: nanopartículas de cobre; IM:



tempo imediato, 1A: após 1 ano de armazenamento em água; 2A: após 2 anos; 4A: após 4 anos; RU: teste de resistência de união; NI: análise de nanoinfiltração; PC: identificação da presença de cobre na camada híbrida. **Fonte:** O autor.

4.1.1 Preparação dos dentes e procedimentos adesivos.

Trinta e cinco molares humanos hígidos foram obtidos do Banco de Dentes Humanos da Universidade Estadual de Ponta Grossa, após a aprovação pela Comissão de Ética em Pesquisa, sob o número de parecer 1.065.446 (Anexo A).

Os dentes foram desinfetados em cloramina T a 0,5% e armazenados em água destilada e trocada semanalmente até sua utilização. Com o auxílio de uma politriz e usando lixa de carbetto de silício de granulação #180, sob irrigação constante. A

seguir o esmalte oclusal foi retirado, até a exposição da dentina. As bordas periféricas de esmalte foram totalmente desgastadas com pontas diamantadas n°4137 (KG Sorensen, Barueri, SP, Brazil) em alta rotação sob irrigação constante deixando unicamente tecido dentinário exposto (Figura 2). Em seguida, foram utilizadas lixas de carbeto de silício de granulação #600 por 60 s para a padronização da lama dentinária (*smear layer*).

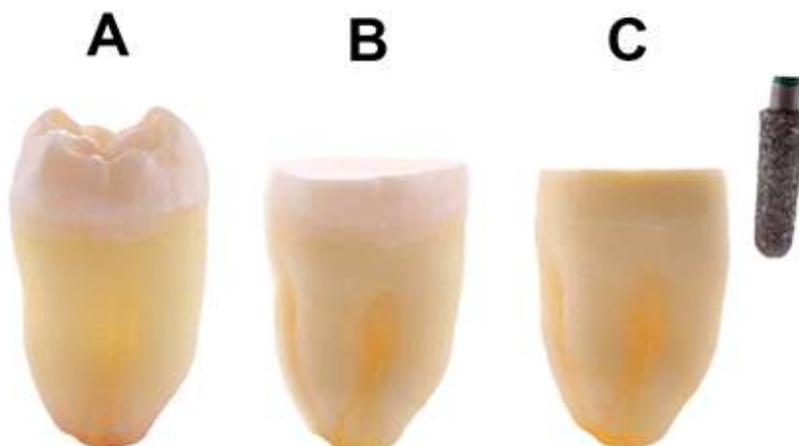


Figura 2. Preparo da superfície de dentina. (A) dente hígido; (B) desgaste oclusal e exposição de dentina; (C) desgaste de todas as bordas periféricas de esmalte. **Fonte:** Gutiérrez MF 2017.

Após o preparo, os adesivos com e sem adição de NpCu nas concentrações de 0%; 0,0075%; 0,015%; 0,060%; 0,1%; 0,5% e 1% foram aplicados seguindo as indicações do fabricante na estratégia adesiva de condicionamento e lavagem (Tabela 1). A fotoativação dos sistemas adesivos foi por 10 s usando um aparelho fotopolimerizador a base de LED com uma intensidade de 1200 mW/cm² (Radium-cal, SDI, Baywater, Victoria, Austrália) (Figura 3). A seguir, os dentes foram restaurados com 2 incrementos de aproximadamente 1,5 mm de espessura de resina composta (Opalis, FGM Dent. Prod., Joinville, SC, Brasil) e fotoativadas por 20 s cada camada com o mesmo aparelho fotopolimerizador (Figura 4). Um único operador realizou todos os procedimentos adesivos. Cinco dentes foram utilizados para cada grupo experimental.

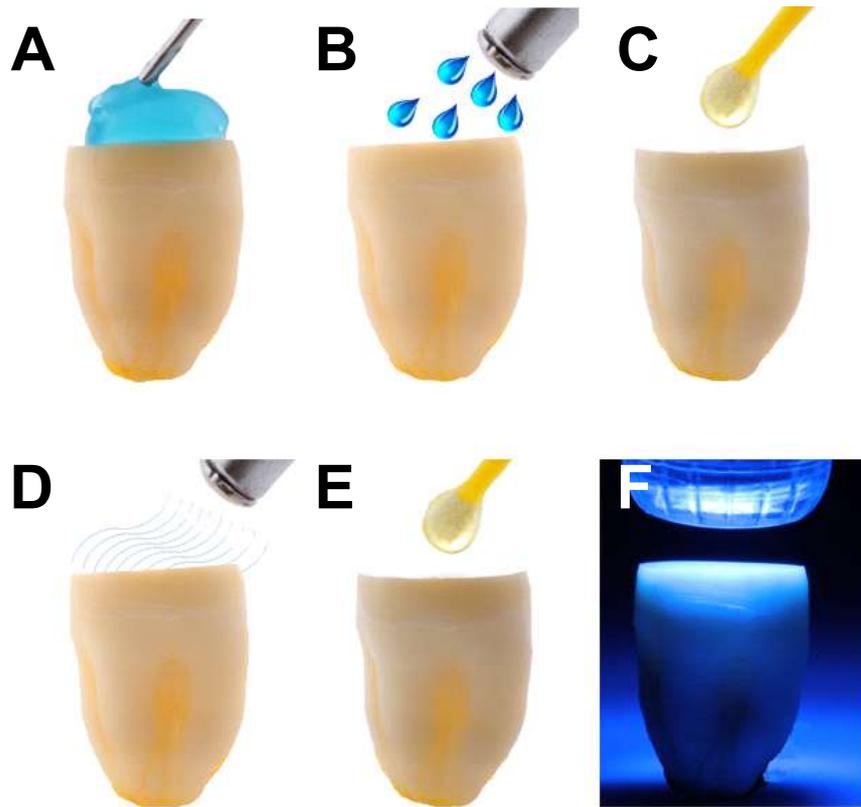


Figura 3. Estratégia adesiva condicionamento e lavagem. (A) Condicionamento ácido; (B) lavagem e secagem; (C) aplicação do adesivo; (D) secagem para evaporação do solvente; (E) aplicação de segunda camada do adesivo; (F) fotoativação. Todos os procedimentos realizados segundo as indicações do fabricante, descritos na Tabela 1. **Fonte:** Gutiérrez MF 2017.

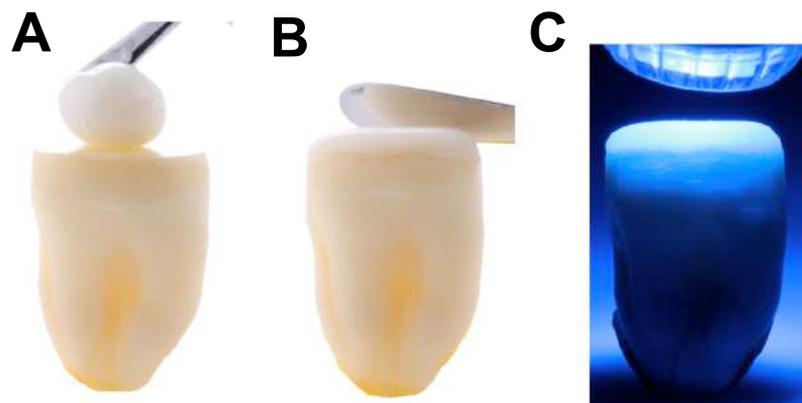


Figura 4. Restauração dos dentes após aplicação das variáveis adesivas. (A) Colocação da resina composta; (B) adaptação de cada incremento (3); (C) fotoativação de cada incremento. **Fonte:** Gutiérrez MF 2017.

Os dentes restaurados foram armazenados em água destilada a 37 °C por 24 h, e levados a uma máquina de corte (Isomet 1000, Buehler Ltd., Lake Bluff, Illinois, EUA), onde foram seccionados com o disco diamantado (15HC-4in, Buehler Ltd., Lake Bluff, Illinois, EUA) sob irrigação a 300 rpm, nos eixos “x” e “y”, para obter espécimes no formato de “palitos” com uma área de secção transversal de $0,8 \pm 0,1 \text{ mm}^2$ (Figura 5). A área de secção transversal foi medida com um paquímetro digital (Digimatic Caliper, Mitutoyo, Kanagawa, Tóquio, Japão) e registrada para o subsequente cálculo de microtração. Os palitos de cada dente foram distribuídos aleatoriamente para ser testados imediatamente [IM] (24 h), após 1 ano [1A], 2 anos [2A], e após 4 anos [4A] de armazenamento em água destilada a 37 °C. A água destilada foi trocada e seu pH monitorado mensalmente.

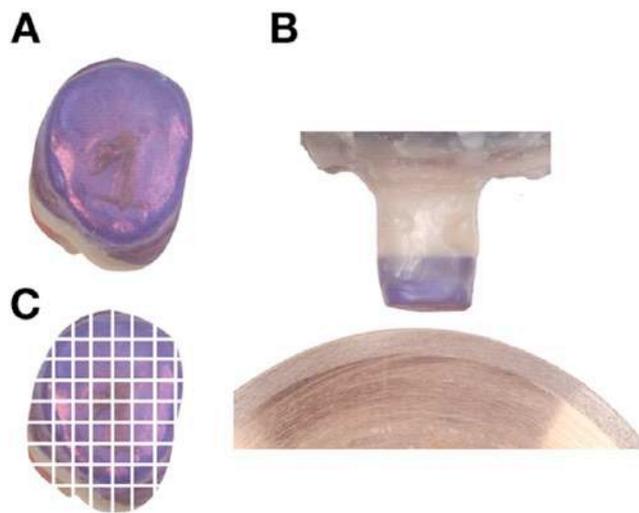


Figura 5. Sequência de corte para a obtenção dos palitos. (A) Superfície oclusal da restauração de resina composta pintada com caneta marcadora permanente para identificação dos palitos de cada grupo. (B) dente fixado com cera pegajosa ao dispositivo da máquina de corte montada com um disco diamantado; (C) duas sequências perpendiculares de corte, uma no eixo “x” e outra no eixo “y”, permitiram a obtenção dos palitos. **Fonte:** Gutiérrez MF. 2017

4.1.2 Teste de resistência de união à dentina por microtração (RU)

Quatro palitos provenientes de cada dente de cada grupo e tempo (imediate, após 1, 2 e 4 anos), foram colocados individualmente em garras tipo Geraldeli (Odeme Biotechnology, Joaçaba, Santa Catarina, Brasil), com cola de cianocrilato gel (IC-Gel, bSi Inc., Atascadero, CA, USA) aplicando em cada um dos extremos do palito. As garras com os palitos foram acopladas na máquina de ensaios universal de

testes de microtração (Instron 3343; Instron Norwood, Mass, EUA) e foram testados com uma velocidade de 0,5 mm/min e 100 N de carga até ruptura (Figura 6).

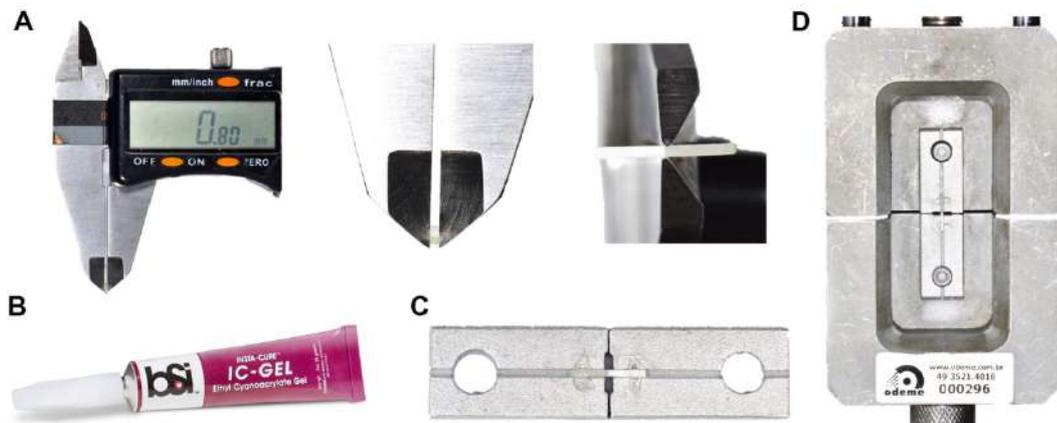


Figura 6. Sequência para o teste de microtração. (A) Mensuração da largura e da espessura do palito, com paquímetro digital, para o cálculo da área da interface adesiva. (B) cola de cianocrilato em gel. (C) aplicação da cola nas extremidades do palito, protegendo a interface e posicionamento do palito nas garras de microtração deixando a interface adesiva no espaço central da garra; (D) adaptação das garras na máquina de ensaios universais após a polimerização da cola. **Fonte:** O Autor.

Uma lupa estereoscópica com 100x de magnificação (Olympus SZ40, Shinjuku-ku, Tóquio, Japão) foi utilizada para classificar a falha de cada palito segundo o tipo de fratura, como:

- Adesiva (A), falha na interface adesiva dente/restauração.
- Coesiva em dentina, falha exclusivamente em dentina.
- Coesiva em resina, falha exclusivamente em resina composta.
- Adesiva/Mista (A/M), falha na interface adesiva dente/restauração, mas que incluiu falha coesiva dos substratos vizinhos.
- Falhas prematuras (FP), palitos que quebraram antes dos testes.

4.1.3 Avaliação da Nanoinfiltração (NI) por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Um palito proveniente de cada dente de cada grupo e tempo (imediato, após 1, 2 e 4 anos), foi reservado para análise de NI. Os palitos foram imersos em eppendorfs (OA12, Odeme Biotechnology, Joaçaba, SC, Brasil) com uma solução aquosa (pH = 7,0) de nitrato de prata amoniacal 50% em peso e armazenados por 24

h em ausência de luz. Após, os palitos foram lavados em água destilada e imersos em solução reveladora (Rochester, Nova Iorque, EUA) por 8 h sob luz fluorescente, para a redução dos íons de prata ao longo das nanoporosidades da interface de união.

Os palitos foram novamente lavados em água e fixados com cianocrilato em *stubs* de alumínio para facilitar o polimento das amostras, realizado com uma politriz de bancada (ALM 4, Arotec, Cotia, São Paulo, Brasil) sob escoamento contínuo da água com lixas de granulações 1000, 1200, 1500, 2000, 2500 e 4000, e pastas diamantadas com granulações decrescentes de 6, 3, 1 e 0,25 μm (Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA). As amostras foram lavadas em cuba ultrassônica por 8 minutos seguidos de escoamento de água sobre a superfície por 2 minutos, entre cada lixa e as pastas de polimento. As amostras foram deixadas então por 30 minutos em cuba ultrassônica. Para o processo de desidratação, as amostras foram deixadas em um dessecador contendo sílica coloidal por 24 h, e depois foram metalizadas em carbono/ouro (MED 010, Balzers Union, Balzers, Liechtenstein) (Figura 7).

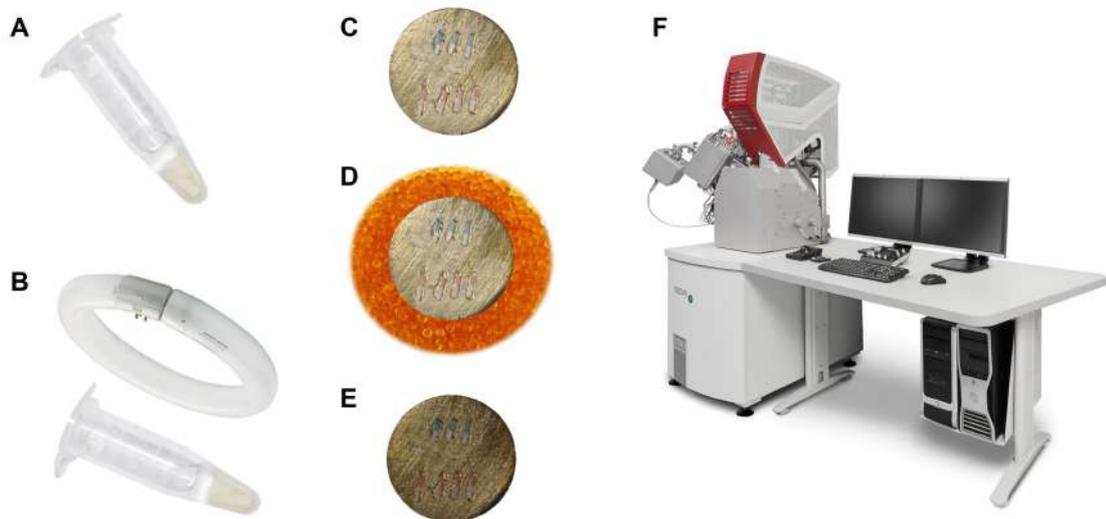


Figura 7. Preparação de amostras para NI: (A) Palitos imersos em uma solução aquosa de nitrato de prata (pH=7,0) armazenados por 24 h sob total escuridão; (B) após lavagem, imersos em solução reveladora por 8 h sob luz fluorescente; (C) palitos revelados, montados em *stubs* de alumínio para facilitar o polimento uniforme; (D) palitos dessecados em sílica por 24 h; (E) palitos metalizados para a análise de MEV (F). **Fonte:** O Autor.

As interfaces resina-dentina foram analisadas em um microscópio eletrônico de varredura de emissão de campo (VEGA SB; Tescan, Warrendale, PA, EUA) em

modo de elétrons retroespalhados. Um operador, que desconhecia a origem dos palitos, realizou três fotomicrografias com aumento 1200X da interface dente-restauração de cada palito. Para padronizar a aquisição das imagens, foram realizadas uma no centro da interface e as outras duas 3 μm à esquerda e à direita do centro. A porcentagem relativa de nitrato de prata nas áreas ocupadas pela camada híbrida e camada de adesivo foram consideradas na mensuração automatizada da NI por meio do Image J software (National Institute of Health, EUA) (Schneider et al. ⁴³ 2012) operado por um avaliador que desconhecia o grupo experimental de cada imagem. Assim, foram obtidas as médias dos valores percentuais de NI dos palitos, no tempo IM e após 1A, 2A e 4A.

4.1.4 Identificação da presença de cobre na camada híbrida.

Um palito proveniente de cada dente de cada grupo e tempo (imediate e após 4 anos), foram utilizados para identificação da presença de cobre na camada híbrida. A análise do conteúdo de cobre em cada palito selecionado foi realizada em um microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo (FE-SEM) (MIRA 3 TESCAN, Shimadzu, Tóquio, Japão) acoplado a um espectrômetro de energia dispersiva de raios X (EDS). A área da interface resina-dentina foi observada e a análise foi focada no meio da camada híbrida. Um local por palito foi aleatoriamente determinado e examinado.

4.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A unidade experimental no estudo foi o dente, uma vez que os palitos de um mesmo dente foram testados nos diferentes tempos de armazenamento em água. Os valores de RU e NI de todos os palitos do mesmo dente foi a média para fins estatísticos. A distribuição normal dos dados foi analisada com o teste de Kolmogorov-Smirnov. Após a confirmação da normalidade, as médias e os desvios padrão da RU (MPa) e NI (%) foram calculados para todas as condições experimentais, e foram submetidos a análise de variância de dois fatores (adesivo vs. tempo), sendo o fator tempo considerado como medida repetida. Foi feito o teste post hoc de Tukey para múltiplas comparações. A significância estatística foi predefinida em $\alpha = 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 RESISTÊNCIA DE UNIÃO À MICROTRAÇÃO (RU)

Todos os espécimes foram testados sem apresentar fraturas prematuras. Os resultados de resistência de união a microtração dos diferentes grupos experimentais são apresentados na Tabela 2. Verificou-se um aumento significativo da resistência de união a microtração no grupo do adesivo com cobre na concentração de 0,5% no tempo imediato, quando comparadas com o controle ($p < 0,05$). Apesar de haver um decréscimo significativo de RU ao longo do tempo para todos os grupos ($p < 0,05$), em todos os tempos (1, 2 e 4 anos) observou-se valores significativamente maiores na resistência de união a microtração em todos os grupos do adesivo com cobre quando comparado com o grupo controle ($p < 0,5$). Os diferentes tipos de fratura são apresentados na Tabela 3.

Tabela 2. Médias e desvios-padrão da resistência de união à microtração (MPa) obtida em cada condição experimental.

Adesivo	Resistência de união (MPa)			
	IM	1A	2A	4A
0% (controle)	33,6 ± 3,7 B a	27,3 ± 2,1 C a,b	21,1 ± 2,5 C b,c	16,4 ± 1,5 B c
0,0075% NpCu	39,0 ± 1,9 B a	40,7 ± 2,5 B a	30,5 ± 1,5 B,C b	25,3 ± 1,7 A c
0,015% NpCu	39,9 ± 2,4 B a	40,9 ± 2,8 B a	32,5 ± 2,0 A,B b	26,1 ± 3,1 A b
0,060% NpCu	40,1 ± 2,4 A,B a	42,6 ± 2,5 A,B a	35,6 ± 5,9 A,B a,b	28,9 ± 2,5 A b
0,1% NpCu	41,3 ± 0,9 A,B a	42,8 ± 0,9 A,B a	34,9 ± 3,1 A,B b	29,6 ± 3,2 A b
0,5% NpCu	49,8 ± 3,5 A a	48,2 ± 2,3 A a,b	43,1 ± 1,4 A b	32,7 ± 2,3 A c
1% NpCu	38,0 ± 5,3 B a	40,8 ± 2,7 B a	41,7 ± 6,6 A a	28,3 ± 2,8 A b

(*) As comparações são válidas apenas dentro de cada coluna ou fileira. As médias identificadas com as mesmas letras maiúsculas (coluna) ou minúsculas (fileira) são estatisticamente similares (teste de Tukey, $p \geq 0,05$). **Fonte:** O Autor.

Tabela 3. Porcentagens (%) dos tipos de fratura das interfaces resina-dentina obtidas após o teste de resistência de união à microtração em cada condição experimental.

Adesivos	Tipo de fratura															
	IM				1A				2A				4A			
	CD	CR	A	M	CD	CR	A	M	CD	CR	A	M	CD	CR	A	M
0% (controle)	-	-	96	4	-	5	95	-	-	-	100	-	-	-	100	-
0,0075% NpCu	-	4	96	-	-	12	88	-	16	-	84	-	6	12	82	-
0,015% NpCu	-	5	95	-	-	-	100	-	-	7	93	-	7	-	93	-
0,060% NpCu	-	18	78	4	-	12	88	-	6	6	88	-	-	-	100	-
0,1% NpCu	11	16	68	5	-	12	88	-	5	-	90	5	-	-	100	-
0,5% NpCu	4	13	83	-	-	25	75	-	5	-	90	5	-	7	93	-
1% NpCu	12	19	69	-	-	21	79	-	10	20	70	-	8	-	92	-

(*) CD: coesiva em dentina, CR: coesiva em resina, A: adesiva, M: mista.

5.2 AVALIAÇÃO DA NANOINFILTRAÇÃO (NI)

Os resultados de nanoinfiltração (NI) na interface de união à dentina dos diferentes grupos experimentais são apresentados na Tabela 4. Observou-se uma diminuição significativa nos valores de nanoinfiltração nos grupos de adesivo contendo cobre, quando comparado ao grupo controle no tempo IM ($p < 0,05$). Apesar de haver um acréscimo significativo de NI ao longo do tempo para todos os grupos ($p < 0,05$), em todos os tempos (1, 2 e 4 anos) observou-se valores significativamente menores de nanoinfiltração em todos os grupos do adesivo com cobre, quando comparado com o grupo controle ($p < 0,05$). Vale salientar que, o grupo controle apresentou um aumento significativo de NI já a partir de 1^a, enquanto os grupos de adesivo contendo cobre apresentaram um aumento significativo de NI só após 4^a ($p < 0,05$) (Figura 8).

Tabela 4. Médias e desvios-padrão da nanoinfiltração (%) obtida em cada condição experimental.

Adesivo	NI			
	IM	1 A	2 A	4 A
0% (controle)	17,8 ± 2,9 B a	30,4 ± 4,6 C b	32,5 ± 3,6 E b,c	38,9 ± 4,8 D c
0,0075% NpCu	11,2 ± 4,0 A a	14,3 ± 3,1 B a	15,1 ± 3,8 D a	22,3 ± 3,1 B,C b
0,015% NpCu	10,6 ± 2,7 A a	13,3 ± 5,3 A,B a	13,3 ± 3,8 B,C,D a	23,8 ± 5,5 C b
0,060% NpCu	10,5 ± 1,3 A a	12,8 ± 2,5 A,B a	14,3 ± 2,3 C,D a	19,9 ± 2,9 B,C b
0,1% NpCu	9,1 ± 0,2 A a	9,7 ± 0,8 A,B a	9,6 ± 3,8 A,B,C a	18,7 ± 1,7 A,B b
0,5% NpCu	4,9 ± 2,0 A a	7,8 ± 1,5 A a	9,3 ± 3,3 A,B a	13,8 ± 3,0 A b
1% NpCu	4,9 ± 1,7 A a	8,4 ± 1,7 A a	8,8 ± 3,7 A a	16,0 ± 3,9 A b

(*) As comparações são válidas apenas dentro de cada coluna ou fileira. As médias identificadas com as mesmas letras maiúsculas (coluna) ou minúsculas (fileira) são estatisticamente similares (teste de Tukey, $p \geq 0,05$). **Fonte:** O autor

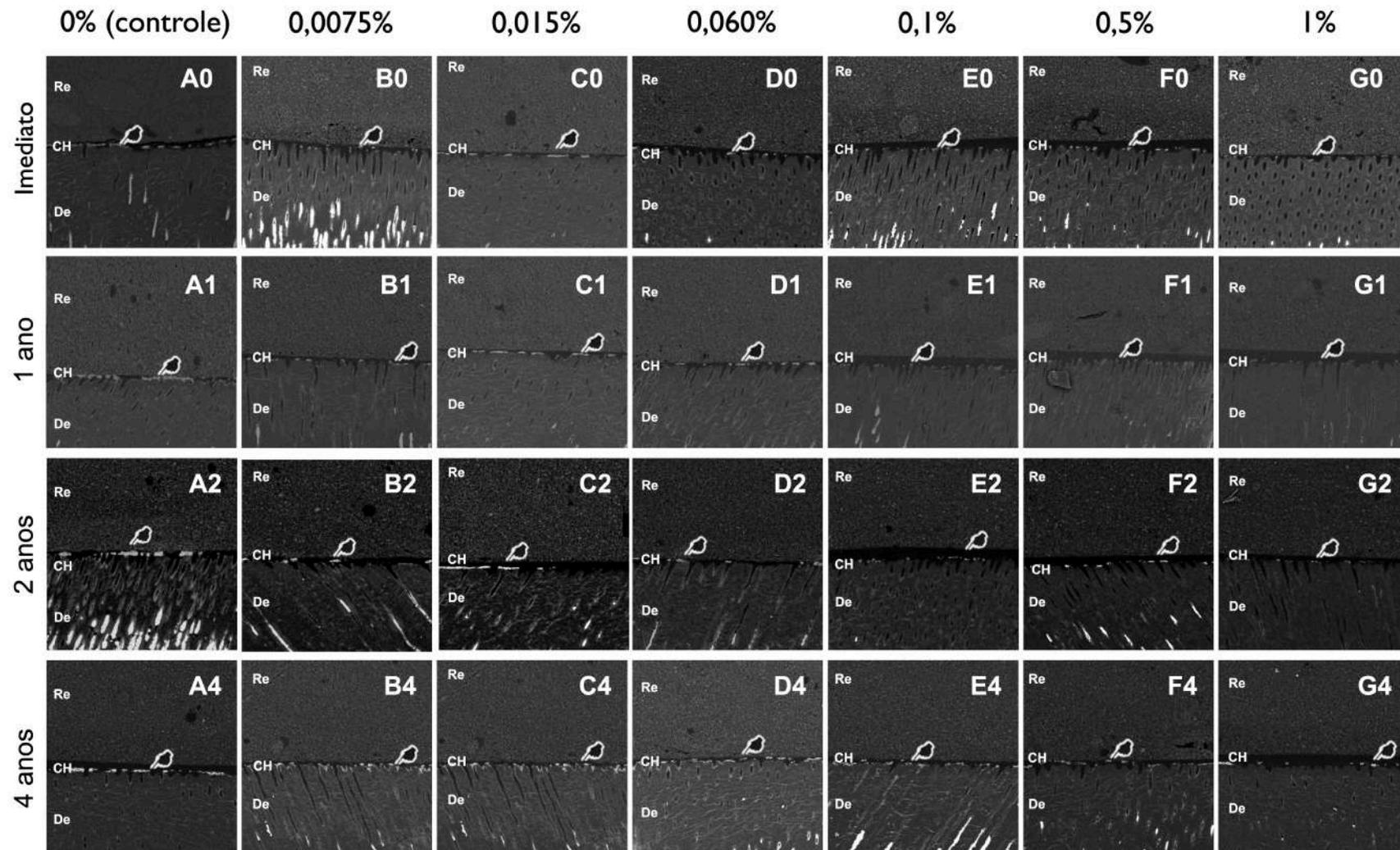


Figura 8. Imagens (MEV) representativas da interface de união à dentina, obtidas em cada condição experimental, no tempo imediato (A0-G0) e após 1 ano (A1-G1), 2 anos (A2-G2) e 4 anos (A4-G4). RE, resina; CH, camada híbrida; DE, dentina. Fonte: O Autor

5.3 PRESENÇA DE COBRE NA CAMADA HÍBRIDA

As análises composicionais da interface adesiva conduzidas por espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) e realizadas no tempo imediato (IM) e após 4 anos (4A) revelaram a presença de cobre na camada híbrida a partir da concentração de 0,060% (Figura 9).

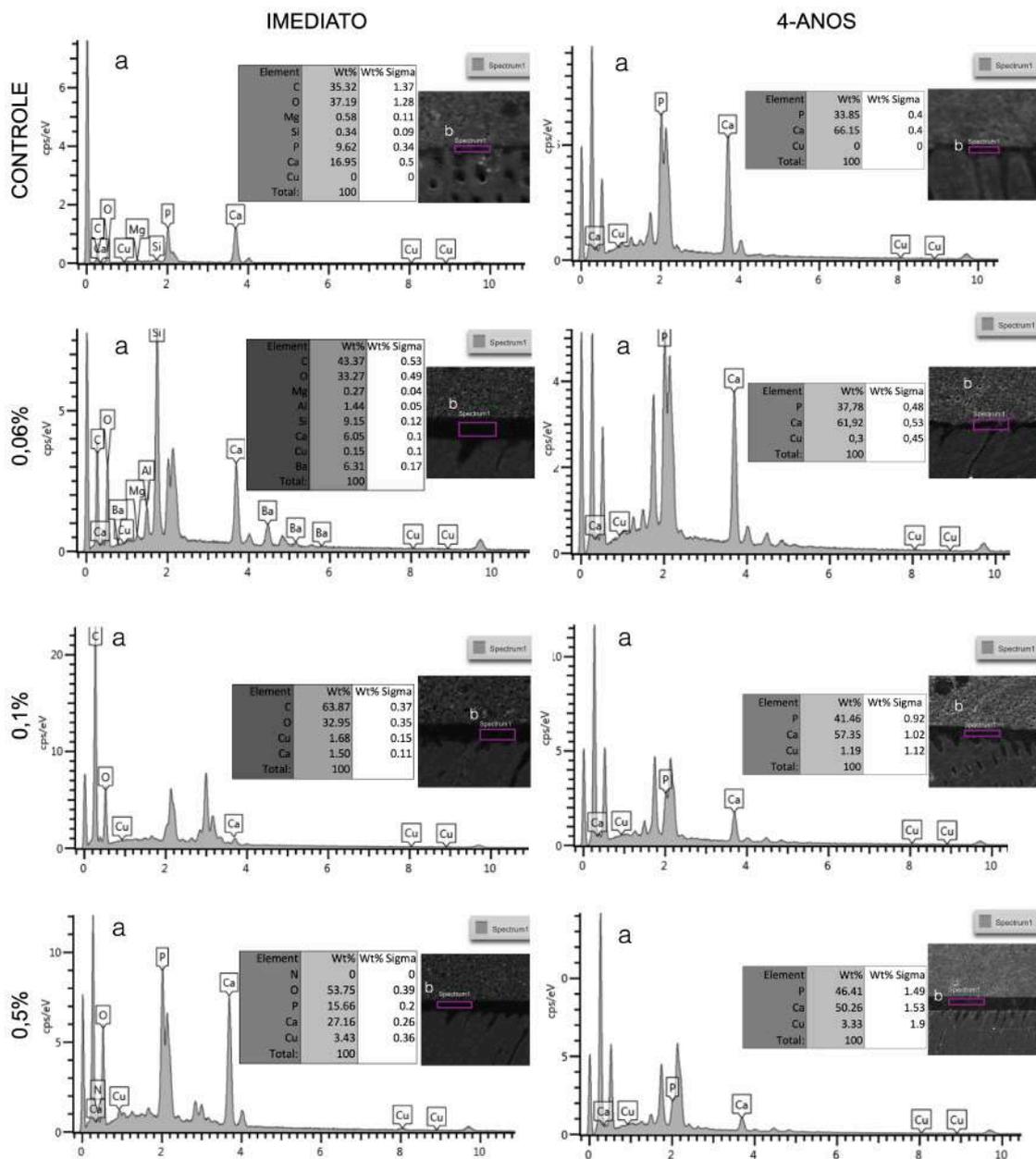


Figura 9. Análise composicional das nanopartículas de cobre, obtida por Espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS). **Fonte:** O Autor.

6 DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que a incorporação de cobre na formulação do sistema adesivo aumenta a resistência de união resina-dentina e reduz a nanoinfiltração na interface adesiva, quando comparado com o adesivo controle (0% de cobre), no tempo imediato e após 4 anos de armazenamento em água. Assim, a hipótese nula foi rejeitada.

O efeito do cobre no aumento da resistência de união resina-dentina pode ser explicado por sua atividade indireta como agente de reticulação (cross-linker). A lisil oxidase é uma amina oxidase dependente de cobre (Rucker et al. ⁴¹ 1998) que medeia a reticulação covalente entre os telopeptídeos e domínios de tripla hélice de vários tipos de colágeno, resultando na formação de ligações cruzadas inter e intramoleculares e intermicrofibrilares (Matos et al. ⁴⁴ 2017). Essa reticulação é a base para a estabilidade, viscoelasticidade e resistência das fibrilas de colágeno (Bedran-Russo et al. ⁴⁵ 2014), o que melhora as propriedades biomecânicas da dentina e tornando-a menos propensa à degradação (Breschi et al. ³⁰ 2018; Vallet e Ricard-Blum ⁴⁶ 2019).

A capacidade das nanopartículas de cobre de formar uma rede de colágeno resistente (Song et al. ⁴⁷ 2016) dentro da camada híbrida é tão eficaz que num recente estudo *in situ* foi observado um aumento no módulo de elasticidade e na nanodureza da camada híbrida quando utilizado um adesivo contendo cobre, comparado ao adesivo comercial inalterado, mesmo sendo expostos a um desafio cariogênico (Vidal et al. ⁴⁸ 2021). Ao mesmo tempo, estudos anteriores mostraram que a incorporação de NpCu em sistemas adesivos melhora as propriedades mecânicas e aumenta a resistência de união resina-dentina (Gutierrez et al. ¹⁸ 2017; Gutierrez et al. ¹⁹ 2017; Hanzen et al. ⁴⁹ 2022).

Vale ressaltar que houve um aumento significativo na resistência de união resina-dentina imediata quando 0,5% de cobre foi incorporado, seguido de valores superiores obtidos pelas concentrações de 0,06% e 0,1%. No entanto, esse aumento não foi observado quando 1% de NpCu foi incorporado. Isso pode estar relacionado ao efeito da alta concentração de cobre atuando como plastificante dentro da rede polimérica, o que foi relatado em estudos anteriores onde o sistema adesivo com 1% de NpCu passou por um processo de plastificação dentro do mesmo frasco do

adesivo, significando que a adição de cobre em altas concentrações pode interferir com a mistura bem balanceada de monômero/solvente (Gutierrez et al. ¹⁸ 2017; Gutierrez et al. ¹⁹ 2017).

Idealmente, a interface resina-dentina deve apresentar qualidade a curto prazo e durabilidade a longo prazo, com uma alta resistência de união e sem nanoinfiltração (Hashimoto et al. ⁵⁰ 2004). A quantidade de nanoinfiltração tem o potencial de servir como via para o movimento da água dentro da interface adesivo-dentina ao longo do tempo, o que poderia extrair monômeros livres do adesivo resinoso ou da camada híbrida e contribuir para a redução da resistência de união. Portanto, a avaliação da absorção de prata fornece uma adequada resolução espacial dos defeitos submicrônicos na infiltração de resina ou de uma polimerização inadequada (Tay et al. ³⁶ 2005; De Munck et al. ⁵¹ 2003). A adição de NpCu poderia melhorar a rede de colágeno e diminuir a presença de espaços vazios dentro da camada híbrida onde o nitrato de prata pode se infiltrar resultando em valores de nanoinfiltração reduzidos, como observado neste estudo, independentemente do tempo de avaliação e da concentração de cobre, o adesivo com a menor concentração de NpCu proporcionou menores quantidades de captação de nitrato de prata quando comparados ao adesivo controle (Figura 8).

A perda da resistência de união à dentina causada pela degradação hidrolítica do adesivo e do colágeno na camada híbrida está relacionada ao tempo (Tjäderhane ¹² 2015), portanto, é importante que o mecanismo de ação do cobre na melhoraria das propriedades adesivas da interface resina-dentina continuem eficazes ao longo do tempo, como observado no presente estudo. Embora todos os adesivos, com e sem cobre, tenham diminuído suas propriedades adesivas ao longo do tempo, os adesivos contendo cobre, ainda na menor concentração (0,0075%), foram capazes de manter os valores de resistência de união após 1 ano, diminuindo após 2 e 4 anos, mas apresentando diferença significativa quando comparado ao controle. Do mesmo jeito, todos os adesivos contendo cobre conseguiram manter os valores de nanoinfiltração, aumentando significativamente só após 4 anos, mas sendo significativamente menores do que o adesivo controle.

Além disso, todas as concentrações de NpCu mostraram propriedades adesivas melhoradas após 4 anos em comparação com o adesivo controle. Estes resultados de durabilidade podem ser relacionados ao efeito do cobre devido à identificação da presença de NpCu dentro da camada híbrida tanto no tempo imediato

como após 4 anos. A presença de cobre só tem sido observada em concentrações iguais ou superiores a 0,06%, iguais ou superiores a 0,06%. Acredita-se que à menor quantidade de cobre no adesivo dificulta a identificação pelo MEV (Figura 9), sem influenciar os efeitos das NPCu dentro da camada híbrida ao longo do tempo. Os resultados apresentados neste estudo mostraram que mesmo as concentrações mais baixas de NpCu (0,0075% e 0,015%) não mostraram um aumento significativo na resistência de união à dentina no tempo imediato, e uma redução significativa nos valores de nanoinfiltração foi observada.

A estabilidade química e as propriedades físicas do cobre podem ser a resposta para este comportamento, uma vez que as NpCu sofrem oxidação e formam nanopartículas de óxido de cobre sendo facilmente misturadas com os polímeros, que por sua vez atuam como estabilizantes reduzindo a tendência do cobre a se aglomerar (Usman et al. ⁵² 2013), resultando em uma solução homogênea. Além disso, foi relatado que as NpCu no adesivo apresentam uma liberação lenta, mas contínua, durante um período longo de avaliação, o que garante um efeito prolongado. Em teoria, essa liberação prolongada poderia manter o cobre em concentrações baixas no adesivo por muito tempo, sendo capaz de melhorar o selamento e a retenção da interface (Gutierrez et al. ¹⁸ 2017; Gutierrez et al. ¹⁹ 2017).

Como limitações deste estudo, sabe-se que os estudos laboratoriais apresentam algumas limitações técnicas que restringem a extrapolação desses resultados para um cenário clínico. Mesmo quando um estudo clínico recente mostrou que a incorporação de NpCu 0,1% a um sistema adesivo universal é uma alternativa viável para melhorar ou manter o desempenho clínico de restaurações cervicais após 18 meses de avaliação (Matos et al. ²⁰ 2019), novos estudos ainda são necessários para definir se os adesivos contendo cobre produzem interfaces menos propensas à degradação após longos períodos de tempo. Do mesmo jeito, estudos futuros são necessários para avaliar a longevidade das NpCu comparadas com a longevidade de outras nanopartículas bioativas quando adicionadas aos sistemas adesivos.

7 CONCLUSÃO

A adição de nanopartículas de cobre a partir de concentrações de 0,06% até 0,5% em um sistema adesivo de condicionamento e lavagem simplificado pode ser uma alternativa para melhorar as propriedades adesivas no tempo imediato, e diminuir a degradação da interface adesiva ao longo do tempo.

REFERÊNCIAS

1. DEMARCO FF, CORREA MB, CENCI MS, MORAES RR, OPDAM NJ. Longevity of posterior composite restorations: not only a matter of materials. *Dental Materials*. 2012; Jan;28(1):87-101.
2. DEMARCO FF, COLLARES K, CORREA MB, CENCI MS, MORAES RR, OPDAM NJ. Should my composite restorations last forever? Why are they failing? *Brazilian oral research* 2017; Aug 28;31(suppl 1):e56.
3. OPDAM NJ, VAN DE SANDE FH, BRONKHORST E, CENCI MS, BOTTENBERG P, PALLESEN U, et al. Longevity of posterior composite restorations: a systematic review and meta-analysis. *Journal of dental research* 2014; Oct;93(10):943-9.
4. SPENCER P, YE Q, SONG L, PARTHASARATHY R, BOONE K, MISRA A, et al. Threats to adhesive/dentin interfacial integrity and next generation bio-enabled multifunctional adhesives. *Journal of biomedical materials research Part B, Applied biomaterials* 2019; Nov;107(8):2673-83.
5. ELTAHLAH D, LYNCH CD, CHADWICK BL, BLUM IR, WILSON NHF. An update on the reasons for placement and replacement of direct restorations. *Journal of dentistry* 2018; May;72:1-7.
6. RIGHOLT AJ, JEVDJEVIC M, MARCENES W, LISTL S. Global-, Regional-, and Country-Level Economic Impacts of Dental Diseases in 2015. *Journal of dental research* 2018; May;97(5):501-7.
7. NAKABAYASHI N, NAKAMURA M, YASUDA N. Hybrid layer as a dentin-bonding mechanism. *Journal of esthetic dentistry* 1991; Jul-Aug;3(4):133-8.
8. FRASSETTO A, BRESCHI L, TURCO G, MARCHESI G, DI LENARDA R, TAY FR, et al. Mechanisms of degradation of the hybrid layer in adhesive dentistry and therapeutic agents to improve bond durability--A literature review. *Dental Materials*. 2016; Feb;32(2):e41-53.
9. SPENCER P, YE Q, PARK J, TOPP EM, MISRA A, MARANGOS O, et al. Adhesive/Dentin interface: the weak link in the composite restoration. *Annals of biomedical engineering* 2010; Jun;38(6):1989-2003.
10. HUANG B, CVITKOVITCH DG, SANTERRE JP, FINER Y. Biodegradation of resin-dentin interfaces is dependent on the restorative material, mode of adhesion, esterase or MMP inhibition. *Dental Materials*. 2018; Sep;34(9):1253-62.
11. SPENCER P, JONGGU PARK QY, MISRA A, BOHATY BS, SINGH V, PARTHASARATHY R, et al. Durable bonds at the adhesive/dentin interface: an impossible mission or simply a moving target? *Brazilian dental science* 2012; Jan;15(1):4-18.
12. TJÄDERHANE L. Dentin bonding: can we make it last? *Operative dentistry* 2015; Jan-Feb;40(1):4-18.

13. ZHOU W, LIU S, ZHOU X, HANNIG M, RUPF S, FENG J, et al. Modifying Adhesive Materials to Improve the Longevity of Resinous Restorations. *International journal of molecular sciences* 2019; Feb 8;20(3).
14. BRAGA RR, FRONZA BM. The use of bioactive particles and biomimetic analogues for increasing the longevity of resin-dentin interfaces: A literature review. *Dental materials journal* 2020; Jan 31;39(1):62-8.
15. ELKASSAS D, ARAFA A. The innovative applications of therapeutic nanostructures in dentistry. *Nanomedicine*. 2017; May;13(4):1543-62.
16. INGLE AP, DURAN N, RAI M. Bioactivity, mechanism of action, and cytotoxicity of copper-based nanoparticles: a review. *Applied microbiology and biotechnology* 2014; Feb;98(3):1001-9.
17. DE SOUZA AP, GERLACH RF, LINE SR. Inhibition of human gingival gelatinases (MMP-2 and MMP-9) by metal salts. *Dental Materials*. 2000; Mar;16(2):103-8.
18. GUTIERREZ MF, MALAQUIAS P, HASS V, MATOS TP, LOURENCO L, REIS A, 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* 2017; Jun;61:12-20.
19. GUTIERREZ MF, MALAQUIAS P, MATOS TP, SZESZ A, SOUZA S, BERMUDEZ J, et al. Mechanical and microbiological properties and drug release modeling of an etch-and-rinse adhesive containing copper nanoparticles. *Dental Materials* 2017; Mar;33(3):309-20.
20. MATOS TP, GUTIERREZ MF, HANZEN TA, MALAQUIAS P, DE PAULA AM, DE SOUZA JJ, et al. 18-month clinical evaluation of a copper-containing universal adhesive in non-cariou cervical lesions: A double-blind, randomized controlled trial. *Journal of dentistry*. 2019; Nov;90:103219.
21. PITTS NB, ZERO DT, MARSH PD, EKSTRAND K, WEINTRAUB JA, RAMOS-GOMEZ F, et al. Dental caries. *Nature reviews Disease primers*. 2017; May 25;3:17030.
22. RANGREEZ TA, MOBIN R. 13 - Polymer composites for dental fillings. In: Asiri AM, Inamuddin, Mohammad A, editors. *Applications of Nanocomposite Materials in Dentistry*: Woodhead Publishing; 2019. p. 205-24.
23. KANZOW P, WIEGAND A, SCHWENDICKE F. Cost-effectiveness of repairing versus replacing composite or amalgam restorations. *Journal of dentistry* 2016; Nov;54:41-7.
24. ASKAR H, KROIS J, GÖSTEMEYER G, BOTTENBERG P, ZERO D, BANERJEE A, et al. Secondary caries: what is it, and how it can be controlled, detected, and managed? *Clinical oral investigations* 2020; May;24(5):1869-76.

25. NEDELJKOVIC I, TEUGHELIS W, DE MUNCK J, VAN MEERBEEK B, VAN LANDUYT KL. Is secondary caries with composites a material-based problem? *Dental Materials* 2015; Nov;31(11):e247-77.
26. THOMAS RZ, VAN DER MEI HC, VAN DER VEEN MH, DE SOET JJ, HUYSMANS MC. Bacterial composition and red fluorescence of plaque in relation to primary and secondary caries next to composite: an in situ study. *Oral microbiology and immunology* 2008; Feb;23(1):7-13.
27. BOURBIA M, MA D, CVITKOVITCH DG, SANTERRE JP, FINER Y. Cariogenic bacteria degrade dental resin composites and adhesives. *Journal of dental research* 2013; Nov;92(11):989-94.
28. NEDELJKOVIC I, DE MUNCK J, UNGUREANU AA, SLOMKA V, BARTIC C, VANANROYE A, et al. Biofilm-induced changes to the composite surface. *Journal of dentistry* 2017; Aug;63:36-43.
29. HUANG B, SADEGHINEJAD L, ADEBAYO OIA, MA D, XIAO Y, SIQUEIRA WL, et al. Gene expression and protein synthesis of esterase from *Streptococcus mutans* are affected by biodegradation by-product from methacrylate resin composites and adhesives. *Acta biomaterialia*. 2018; Nov;81:158-68.
30. BRESCHI L, MARAVIC T, CUNHA SR, COMBA A, CADENARO M, TJÄDERHANE L, et al. Dentin bonding systems: From dentin collagen structure to bond preservation and clinical applications. *Dental Materials*. 2018; Jan;34(1):78-96.
31. VAN MEERBEEK B, YOSHIHARA K, VAN LANDUYT K, YOSHIDA Y, PEUMANS M. From Buonocore's Pioneering Acid-Etch Technique to Self-Adhering Restoratives. A Status Perspective of Rapidly Advancing Dental Adhesive Technology. *The journal of adhesive dentistry* 2020;22(1):7-34.
32. PERDIGÃO J, REIS A, LOGUERCIO AD. Dentin adhesion and MMPs: a comprehensive review. *Journal of esthetic and restorative dentistry* 2013; Aug;25(4):219-41.
33. SPENCER P, WANG Y. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions. *Journal of biomedical materials research* 2002; Dec 5;62(3):447-56.
34. KOSTORYZ EL, DHARMALA K, YE Q, WANG Y, HUBER J, PARK JG, et al. Enzymatic biodegradation of HEMA/bisGMA adhesives formulated with different water content. *Journal of biomedical materials research Part B, Applied biomaterials* 2009; Feb;88(2):394-401.
35. BETANCOURT DE, BALDION PA, CASTELLANOS JE. Resin-Dentin Bonding Interface: Mechanisms of Degradation and Strategies for Stabilization of the Hybrid Layer. *International journal of biomaterials* 2019;2019:5268342.
36. TAY FR, PASHLEY DH, SUH BI, HIRAISHI N, YIU CK. Water treeing in simplified dentin adhesives--dèjà vu? *Operative dentistry* 2005; Sep-Oct;30(5):561-79.

37. MAZZONI A, TJÄDERHANE L, CHECCHI V, DI LENARDA R, SALO T, TAY FR, et al. Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability. *Journal of dental research* 2015; Feb;94(2):241-51.
38. IMAZATO S, MA S, CHEN JH, XU HH. Therapeutic polymers for dental adhesives: loading resins with bio-active components. *Dental Materials*. 2014; Jan;30(1):97-104.
39. CHEN L, SUH BI, YANG J. Antibacterial dental restorative materials: A review. *American journal of dentistry*. 2018; Nov 15;31(Sp 1s B):6b-12b.
40. GUTIERREZ MF, ALEGRIA-ACEVEDO LF, MENDEZ-BAUER L, BERMUDEZ J, DAVILA-SANCHEZ A, BUVINIC S, et al. Biological, mechanical and adhesive properties of universal adhesives containing zinc and copper nanoparticles. *Journal of dentistry*. 2019; Mar;82:45-55.
41. RUCKER RB, KOSONEN T, CLEGG MS, MITCHELL AE, RUCKER BR, URIUHARE JY, et al. Copper, lysyl oxidase, and extracellular matrix protein cross-linking. *The American journal of clinical nutrition*. 1998; May;67(5 Suppl):996s-1002s.
42. SIMÉON A, EMONARD H, HORNEBECK W, MAQUART FX. The tripeptide-copper complex glycyl-L-histidyl-L-lysine-Cu²⁺ stimulates matrix metalloproteinase-2 expression by fibroblast cultures. *Life sciences* 2000; Sep 22;67(18):2257-65.
43. SCHNEIDER CA, RASBAND WS, ELICEIRI KW. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature methods* 2012; Jul;9(7):671-5.
44. MATOS AB, TREVILIN LT, SILVA B, FRANCISCONI-DOS-RIOS LF, SIRIANI LK, CARDOSO MV. Bonding efficiency and durability: current possibilities. *Brazilian oral research*. 2017; Aug 28;31(suppl 1):e57.
45. BEDRAN-RUSSO AK, PAULI GF, CHEN SN, MCALPINE J, CASTELLAN CS, PHANSALKAR RS, et al. Dentin biomodification: strategies, renewable resources and clinical applications. *Dental Materials*. 2014; Jan;30(1):62-76.
46. VALLET SD, RICARD-BLUM S. Lysyl oxidases: from enzyme activity to extracellular matrix cross-links. *Essays Biochemistry* 2019; Sep 13;63(3):349-64.
47. SONG HB, SOWAN N, SHAH PK, BARANEK A, FLORES A, STANSBURY JW, et al. Reduced shrinkage stress via photo-initiated copper(I)-catalyzed cycloaddition polymerizations of azide-alkyne resins. *Dental Materials*. 2016; 2016/11/01;32(11):1332-42.
48. VIDAL O, DE PARIS MATOS T, NÚÑEZ A, MÉNDEZ-BAUER L, SUTIL E, ÑAUPARI-VILLASANTE R, et al. A universal adhesive containing copper nanoparticles improves the stability of hybrid layer in a cariogenic oral environment: An in situ study. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 2021; Dec 2;126:105017.
49. HANZEN TA, GUTIÉRREZ MF, DE PARIS MATOS T, MARA DE PAULA A, FIGUEREDO DE SIQUEIRA FS, MILLÁN CARDENAS AF, et al. A universal dental adhesive containing copper nanoparticles stabilizes the hybrid layer in eroded dentin

after 1 year. *International Journal of Adhesion and Adhesives*. 2022; 2022/03/01/;113:103041.

50. HASHIMOTO M, DE MUNCK J, ITO S, SANO H, KAGA M, OGUCHI H, et al. In vitro effect of nanoleakage expression on resin-dentin bond strengths analyzed by microtensile bond test, SEM/EDX and TEM. *Biomaterials*. 2004; Nov;25(25):5565-74.

51. DE MUNCK J, VAN MEERBEEK B, YOSHIDA Y, INOUE S, VARGAS M, SUZUKI K, et al. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *Journal of dental research*. 2003; Feb;82(2):136-40.

52. USMAN MS, EL ZOWALATY ME, SHAMELI K, ZAINUDDIN N, SALAMA M, IBRAHIM NA. Synthesis, characterization, and antimicrobial properties of copper nanoparticles. *International journal of nanomedicine* 2013;8:4467-79.

ANEXO A - APROVAÇÃO DO PROJETO PELA COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA (COEP / UEPG)

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
PONTA GROSSA - UEPG



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito da inclusão de nanopartículas de cobre em sistemas adesivos convencionais.

Pesquisador: Paulo Vitor Farago

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 44731915.3.0000.0105

Instituição Proponente: Universidade Estadual de Ponta Grossa

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.065.446

Data da Relatoria: 28/05/2015

Apresentação do Projeto:

Reincidência de cárie adjacentes às margens é a biodegradação das interfaces adesivas tem sido o foco de estudos recentes. Para tentar resolver esses problemas, tem sido incorporados antimicrobianos e inibidores de MMPs e CTs, ao protocolo adesivo ou aos adesivos. Alguns autores recentemente estudaram a incorporação de nanopartículas de prata (NAg) em adesivos dentinários, mas a incorporação de nanopartículas de cobre não tem sido estudada.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a inclusão de nanopartículas de cobre, variando a concentração, em diferentes sistemas adesivos como forma de possibilitar uma maior durabilidade das restaurações adesivas.

Objetivo Secundário:

Avaliar a inclusão de nanopartículas de cobre sobre a resistência máxima à tração (RT) dos adesivos. Avaliar a inclusão de nanopartículas de cobre sobre a solubilidade (SO) dos adesivos. Avaliar a inclusão de nanopartículas de cobre sobre a

Endereço: Av. Gen. Carlos Cavalcanti, nº 4748. UEPG, Campus Uvaranas, Bloco M, Sala 100.

Bairro: Uvaranas

CEP: 84.030-900

UF: PR

Município: PONTA GROSSA

Telefone: (42)3220-3108

E-mail: coep@uepg.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
PONTA GROSSA - UEPG 

Continuação do Parecer: 1.065.446

sorção de água (SA) dos adesivos. Avaliar a inclusão de nanopartículas de cobre sobre a resistência de união à microtração (RU) da interfase resina-dentina. Avaliar a inclusão de nanopartículas de cobre sobre a nanoinfiltração (NI) da interfase resina-dentina. Avaliar a inclusão de nanopartículas de cobre sobre o grau de conversão (GC) do adesivo na interfase resina-dentina

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Não apresenta riscos para os pesquisadores.

Benefícios:

Os Benefícios para a ciência serão o possível desenvolvimento de um adesivo que poderia ser usado para manter a estabilidade da camada híbrida na interfase resina-dentina. Aquele adesivo representa uma contribuição social e científica na área de Materiais Dentários e Cariologia

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O objetivo deste estudo será avaliar o efeito da incorporação de nanopartículas de cobre, em diferentes concentrações, em diferentes sistemas adesivos convencionais, nas propriedades de resistência máxima à tração (RT), sorção de água (SA), solubilidade (SO), resistência de união à microtração (RU), nanoinfiltração (NI) e grau de conversão (GC). As nanopartículas serão incluídas nos sistemas adesivos Ambar [AM] (FGM) e Single Bond Universal [SBU] (3M). Para RT (n = 8 para cada grupo), as amostras de adesivo serão construídas numa matriz metálica em forma de ampulheta. Metade das amostras serão testadas depois de 24 horas e após 6, 12 e 18 meses de armazenamento em água. Para SA e SO (n = 7 para cada grupo), discos de adesivos serão preparados em uma matriz metálica. Após a desidratação, os espécimes serão pesados e armazenados em água destilada para avaliação da SA, SO e liberação cumulativa de cobre.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Falta a carta de doação dos dentes molares no banco de dentes

Necessário definir o número real de dentes molares a serem utilizados

Endereço: Av. Gen. Carlos Cavalcanti, nº 4748. UEPG, Campus Uvaranas, Bloco M, Sala 100.

Bairro: Uvaranas

CEP: 84.030-900

UF: PR

Município: PONTA GROSSA

Telefone: (42)3220-3108

E-mail: coep@uepg.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
PONTA GROSSA - UEPG 

Continuação do Parecer: 1.065.446

Recomendações:

De acordo com as considerações dos termos obrigatórios

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pendencia de acordo com a falta a carta de doação dos dentes molares no banco de dentes

Necessário definir o numero real de dentes molares a serem utilizados

Situação do Parecer:

Pendente

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

PONTA GROSSA, 15 de Maio de 2015

Assinado por:
ULISSES COELHO
(Coordenador)

Endereço: Av. Gen. Carlos Cavalcanti, nº 4748. UEPG, Campus Uvaranas, Bloco M, Sala 100.

Bairro: Uvaranas

CEP: 84.030-900

UF: PR

Município: PONTA GROSSA

Telefone: (42)3220-3108

E-mail: coep@uepg.br