

**BRUNA MARIA MOREIRA**

**EFEITO DA CARBODIMIDA NA RESISTÊNCIA AO MICROCISALHAMENTO DA  
DENTINA AFETADA DE DENTES DECÍDUOS**

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Programa: Odontopediatria

Área de Concentração: Odontopediatria

**Orientador:** Profa. Dra. Silmara Ap. Milori Corona

Ribeirão Preto  
2019

## **AUTORIZAÇÃO PARA REPRODUÇÃO**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

## **FICHA CATALOGRÁFICA**

Moreira, Bruna Maria.

Efeito da carbodimida na resistência ao microcisalhamento da dentina afetada de dentes decíduos

83p. :30 cm

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientador: Corona, Silmara Ap. Milori

1. Dentes decíduos; 2. Carbodimida; 3. Dentina afetada; 4. Microcisalhamento; 5. Adesivo universal.

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Moreira MM. **Efeito da Carbodimida na Resistência ao Microcislamento da Dentina Afetada de dentes Decíduos**. 2019. 83f. Dissertação (Mestrado em Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Programa: Odontopediatria

Área de Concentração: Odontopediatria

Aprovado em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/ 2019

### BANCA EXAMINADORA

**Prof.(a) Dr.(a)** \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

**Prof.(a) Dr.(a)** \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

**Prof.(a) Dr.(a)** \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

**Prof.(a) Dr.(a)** \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_



## **BRUNA MARIA MOREIRA**

### **DADOS CURRICULARES**

**Nascimento** 30 de janeiro de 1990 – Ribeirão Preto – SP

**Filiação** Sérgio Francisco Moreira  
Sílvia Luiz Antonio

**2011-2017** Curso de Graduação em Odontologia  
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP



# *Dedicatória*

## **A Deus e ao Universo,**

Agradeço pela vida e pelos momentos de felicidade que me ajudaram a perceber a beleza e grandeza das coisas pequenas do dia-a-dia aproveitando o pequeno milagre de acordar com saúde todos os dias. Agradeço também pelos momentos de dificuldade e de tristeza que tanto me ajudaram a amadurecer. Obrigado pelos dias chuvosos, porque o Sol sempre brilhou de maneira mais bela, após a chuva.

## **A minha família,**

Minha mãe **Silvia Luiz Antônio**, pelo amor e apoio incondicional em cada conquista da minha vida. Agradeço pela oportunidade de nascer sua filha e crescer ao seu lado todos os dias sempre descobrindo algo novo. Você é o meu exemplo e minha inspiração como mãe e pessoa e se hoje sigo o caminho da pós-graduação foi porque você nunca desistiu de acreditar na minha capacidade mesmo com todas as vicissitudes da vida. Obrigada por acreditar em mim e por nunca desistir de lutar pelos seus ideais.

Minha irmã **Beatriz Luiz Antônio**, pelo companheirismo, carinho e oportunidade de ver você crescer. A grande diferença de idade entre nós foi diminuindo aos poucos enquanto você crescia e hoje ainda adolescente você se destaca pela sua maturidade e interesse em assuntos filosóficos e psicológicos. Agradeço por colaborar com o seu crescimento da mesma forma que você colabora com o meu. Continue crescendo e lutando pelos seus sonhos.





Ao **Instituto Niten** representado pelo **Sensei Jorge Kishikawa**, agradeço pela existência do Instituto e por todo o trabalho duro do Sensei e de sua família para criar-lo e mantê-lo até os dias atuais, pois isso é o que me permitiu ter a honra e oportunidade de conhecer o Instituto no meu primeiro ano de graduação. Agradeço pelo caminho e pelo conhecimento que adquiri com o Sensei Jorge Kishikawa que tanto me inspira a seguir em frente lutando com energia pelos meus sonhos.

Aos meus amigos **Marcelo Cappato Filipecki** e **Cíntia Banzatto Filipecki**, por acompanhar meu crescimento me apoiando desde o cursinho pré-vestibular até os dias atuais. Agradeço muito a Deus por ter vocês no meu caminho e não tenho palavras para agradecer o quanto a presença de vocês na minha vida é importante. Obrigado por me apoiarem nos momentos difíceis e me ajudarem a direcionar meu olhar e energia para tudo aquilo que me traz muita alegria nos dias atuais.

Ao meu amigo **Felipe Marzola**, por acreditar no meu trabalho e me ajudar a crescer na minha profissão e como pessoa. Obrigada.



# *Agradecimento Especial*

A minha Orientadora **Profa. Dra. Silmara Aparecida Milori Corona,**

Querida professora que é um exemplo de pessoa e orientadora. Tive a oportunidade de ser sua aluna durante a graduação e acompanhar seu desempenho sempre atencioso e profissional como professora e cirurgiã-dentista. Na pós-graduação tive a oportunidade de ser sua orientada e aprender mais com seu vasto conhecimento científico. Agradeço pela oportunidade de crescer mais com cada sugestão que você me deu durante esses anos de pós-graduação e por sempre estar sorrindo mostrando que sempre existe esperança mesmo nos momentos mais difíceis e que a gratidão sempre é a melhor escolha diante das vicissitudes da vida.

*In Memoriam* a **Profa. Dra. Mamie Mizusaki Iyomasa,**

Querida professora, sua ausência na faculdade sempre será sentida por todos aqueles que tiveram a oportunidade de conviver com você. Agradeço pela oportunidade de fazer minha primeira iniciação científica com você e aprender ao seu lado a manusear todas as ferramentas que necessito para fazer minha pesquisa até hoje. Exemplo de professora, orientadora e pessoa nunca se negou a auxiliar e dar atenção mesmo quando muito atarefada. Agradeço a Deus por me permitir a honra de te conhecer e aprender muito com você. Mesmo que já não esteja mais na Terra você sempre viverá nos corações daqueles que caminharam ao seu lado. Obrigada por irradiar sua luz e alegria no meu caminho.



# *Agradecimentos*

À Universidade de São Paulo, representada pelo Excelentíssimo Senhor Reitor **Prof. Dr. Vahan Agopyan** e pelo Vice-Diretor **Prof. Dr. Antônio Carlos Hernandes**.

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, representada pela Digníssima Diretora **Profa. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva** e pelo Vice-Diretor **Prof. Arthur Belém Novaes Júnior**.

À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa da Coordenadora **Prof. Dra. Raquel Assed Bezerra Segato** e da Vice-Coordenadora **Profa. Dra. Lea Assed Bezerra da Silva**.

À **Profa. Dra. Aldevina Campos de Freitas**,

Meus anos de graduação não seriam os mesmo sem sua atenção e suporte. Agradeço pelas horas extras que você dedicou me explicando conceitos que eu tinha dúvida e pelo auxílio na clínica. Você é um exemplo de professora, cirurgiã-dentista e pessoa e posso dizer com certeza que seu apoio durante a graduação foi fundamental para o meu ingresso na pós-graduação. Obrigada.

Aos **Professores do Departamento de Clínica Infantil da FORP-USP**,

**Prof. Dr. Alberto Consolaro**, **Prof. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva**, **Prof. Dra. Raquel Assed Bezerra da Silva**, **Prof. Dra. Alexandra Mussolino de Queiroz**, **Prof. Dr. Paulo Nelson Filho**, **Prof. Dra. Aldevina Campos de Freitas**, **Prof. Dra. Andíara De Rossi Daldegan**, **Prof. Dr. Fabrício Kitazono de Carvalho**, **Prof. Dra. Kranya Victoria Díaz Serrano**, **Prof. Dra. Maria Cristina Borsatto**, **Dr. Francisco Wanderley Garcia de Paula e Silva**, **Prof. Dra. Maria da Conceição Pereira Saraiva**, **Prof. Dr. Fábio Lourenço Romano**, **Prof. Dr. José Tarcísio Lima Ferreira**, **Prof. Dra. Maria Bernadete Sasso Stuaní**, **Prof. Dra. Mirian Aiko Nakane Matsumoto**.



Aos **Funcionários do Departamento de Clínica Infantil**, que tanto nos ajudam no dia-a-dia sem pre com atenção e educação.

Aos **Funcionários da FORP/USP**, obrigada pelo trabalho duro e atenção de vocês.

Às **mínhas amigas de Mestrado e Doutorado** do Programa de Pós-graduação em Odontopediatria,  
Em especial à Amanda Bertasso, Maria Cecília Gorita dos Santos, Fernanda Liévana, Giovanna Martins,  
Ana Beatriz Chicalé Ferreira, Marjorie Omori e Andréa Arantes com quem tive o prazer de aprender e  
dividir os bons momentos da pós-graduação.

Aos **meus amigos de Mestrado e Doutorado** do Programa de Pós-graduação em Odontologia  
Restauradora,  
Em especial à Fabiana Almeida Curylofo Zotti, Reinaldo Dias, Thiago Vinicius Cortez, Isabela Ziotti e  
Mirian Saavedra com quem tive o prazer de dividir vários aprendizados.

À **Cordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela bolsa  
concedida.





"IN DREAMS BEGIN RESPONSIBILITIES "

Delmore Schwartz





A Parte experimental desta Dissertação foi desenvolvida nos Laboratórios de Pesquisa em Dentística do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

**O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001**





## RESUMO

Moreira BM. **Efeito da Carbodimida na resistência ao microcissalhamento da dentina afetada de dentes decíduos**. 2019. 83f. Dissertação (Mestrado em Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

A cárie dentária ainda é a doença multifatorial que afeta 80% das crianças e adolescentes. Atualmente a intervenção mais adequada para as lesões de cárie dentária em crianças é pautada pela odontologia minimamente invasiva que recomenda a preservação da dentina afetada por cárie que será utilizada como substrato para adesão da resina composta. A adesão nos dentes decíduos é um fator crítico devido suas características micromorfológicas e constituição mineral que dificultam a formação e estabilização da camada híbrida; Esse estudo teve por objetivo avaliar o efeito da biomodificação com carbodiimida 0,5 mol/L na resistência adesiva na dentina afetada de dentes decíduos, após 24 horas e 3 meses de envelhecimento hidrolítico. Foram selecionados 52 molares decíduos hígidos do Biobanco de Dentes da FORP-USP. Os dentes selecionados tiveram o esmalte removido e a dentina superficial foi planificada e os espécimes foram submetidos à ciclagem de pH por 14 dias (solução desmineralizadora de pH 4.8 por 8 horas e solução remineralizadora pH 7.0 por 16 horas). Após a ciclagem de pH, os espécimes foram aleatoriamente distribuídos em 4 grupos (n=10) de acordo com a biomodificação da dentina (sem biomodificação e com carbodiimida 0,5 mol/L) e envelhecimento hidrolítico (24 horas e 3 meses). Para análise de microscopia eletrônica de varredura foram elaborados espécimes (n=3) dos grupos acima descritos. A carbodiimida (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, EUA) foi preparada com uma concentração de 0,5mol/L, para isso 2,3 mg de EDC-HCL foi diluído em 230 µl de água MiliQ, resultando em uma solução com pH 7,34. Todos os espécimes foram condicionados com ácido fosfórico a 35% (Ultra-Etch Ultradent, SP, Brazil), sendo que os espécimes do grupo com biomodificação receberam o condicionamento ácido antes da biomodificação, enquanto que os do controle receberam o condicionamento antes da aplicação do adesivo. Nos espécimes com biomodificação foi realizada a aplicação de 20µL de EDC 0,5mol/L sobre a superfície dentinária por 60 segundos, lavado com água destilada por 20 segundos e secos com papel absorvente, após essa etapa eles foram restaurados. Para realização da restauração todos os espécimes receberam uma camada de adesivo Single Bond Universal (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) aplicado com microbrush nº 2 (KG Sorensen, São Paulo, SP, Brazil) na superfície da dentina por 20 segundos com posterior evaporação do solvente; Em seguida foi realizada a fotopolimerização (Optilight Max (1200 mW/cm<sup>2</sup>), Gnatus Ltda, Ribeirão Preto, SP,



Brasil) por 10 segundos. As superfícies de dentina foram restauradas com resina composta Filtek Z250 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA), incluída em incrementos de 1 mm na matriz bipartida (diâmetro de 1,2 mm e altura de 1 mm) com auxílio de sonda periodontal (Duflex SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Todos os grupos foram submetidos ao teste de microcisalhamento utilizando uma máquina de ensaios universal (EMIC, Instron Corporation, Canton-Massachusetts, EUA) a uma velocidade de 0,5 mm / min até que ocorresse a fratura. Para análise da interface adesiva em microscopia eletrônica de varredura (EVO 50; Carl Zeiss, Cambridge, Inglaterra). Os dados obtidos na análise de microcisalhamento foram analisados através do teste T de Student e teste de Shapiro-Wilk ( $\alpha = 0.05$ ) através do IBM SPSS software (Versão 21.0, Armonk, NY: IBM Corporation). A análise estatística dos dados mostrou que não houve diferença estatisticamente significativa na resistência adesiva ao microcisalhamento da dentina biomodificada com EDC após 24 horas ( $p=0,16$ ) e 3 meses ( $p=0,054$ ) de envelhecimento hidrolítico. As imagens da MEV mostraram formação de poucos tags de resina em todos os grupos. Não houve diferença morfológica em função da biomodificação e envelhecimento. Concluímos que a resistência adesiva na dentina afetada de dentes decíduos e as características micromorfológicas não foram influenciadas pela biomodificação com EDC e tempo de envelhecimento hidrolítico.

.

**Palavras Chaves:** Dentes Decíduos; Carbodimida; Dentina afetada; Microcisalhamento; Adesivo universal.





## ABSTRACT

Moreira BM. Effect of Carbodiimide on the microshear bond strenght of the affected dentin in primary teeth. 2019. 83f. Dissertation (Masters in Pediatric Dentistry) - School of Dentistry of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Dental caries is still the multifactorial disease that affects 80% of children and adolescents. Currently, the most appropriate intervention for dental caries lesions in children is guided by minimally invasive dentistry, which recommends the preservation of the affected dentin which will be used as a substrate for adhesion of the composite resin. Adhesion on primary teeth is a critical factor due to its micromorphological and mineral constitution characteristics that make it difficult to form and stabilize the hybrid layer; The aim of this study was to evaluate the effect of biomodification with carbodiimide 0.5 mol / L on the microshear bond strenght in the affected dentin of primary teeth after 24 hours and 3 months of hydrolytic aging. Forty-five healthy primary molars were selected from the FORP-USP Teeth Bank. The selected teeth had the enamel removed and the superficial dentin was planed and the specimens were submitted to pH cycling for 14 days (demineralizing solution pH 4.8 for 8 hours and pH 7.0 remineralizing solution for 16 hours). After pH cycling, the specimens were randomly distributed into 4 groups (n = 10) according to the biomodification of the dentin (without biomodification and carbodiimide 0.5 mol / L) and hydrolytic aging (24 hours and 3 months). For scanning electron microscopy analysis specimens (n = 3) were prepared from the groups described above. Carbodiimide (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) was prepared with a concentration of 0.5 mol / L, for this, 2.3 mg of EDC-HCL was diluted in 230 µl of MiliQ water, resulting in a solution at pH 7.34. All specimens were conditioned with 35% phosphoric acid (Ultra-Etch Ultradent, SP, Brazil), and the specimens from the group with biomodification received acidic conditioning prior to biomodification, whereas those from the control group received the conditioning before the application of the adhesive. In the specimens with biomodification, 20 µL of EDC 0,5 mol / L was applied to the dentin surface for 60 seconds, washed with distilled water for 20 seconds and dried with absorbent paper. After this stage they were restored. All specimens received a single-bond adhesive (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) applied with microbrush No. 2 (KG Sorensen, São Paulo, SP, Brazil) on the dentin surface for 20 seconds with subsequent evaporation of the solvent; Afterwards, the photopolymerization (Optilight Max (1200 mW / cm<sup>2</sup>), Gnatus Ltda, Ribeirão Preto, SP, Brazil) was carried out for 10 seconds. The dentin surfaces were restored with Filtek Z250 composite resin (3M ESPE, St. Paul, MN, USA), included in increments of 1 mm in the bipartite matrix (1.2 mm diameter and 1 mm height) with the aid of a periodontal probe (Duflex SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brazil). All groups were submitted to the microshear bond strenght test using



a universal test machine (EMIC, Instron Corporation, Canton-Massachusetts, USA) at a rate of 0.5 mm / min until fracture occurred. For analysis of the adhesive interface in scanning electron microscopy (EVO 50; Carl Zeiss, Cambridge, England). The data obtained in the microshear bond strength analysis were analyzed using Student's T-test and Shapiro-Wilk test ( $\alpha = 0.05$ ) using the IBM SPSS software (Version 21.0, Armonk, NY: IBM Corporation). Statistical analysis of the data showed that there was no statistically significant difference in the microshear bond strength of EDC biomodified dentin after 24 hours ( $p = 0.16$ ) and 3 months ( $p = 0.054$ ) of hydrolytic aging. MEV images showed formation of few resin tags in all groups. There was no morphological difference due to biomodification and aging. We concluded that the bond strength in the affected dentin of primary teeth and the micromorphological characteristics were not influenced by the biomodification with EDC and hydrolytic aging time.

.

**Keywords:** Primary teeth; Carbodiimide; Affected Dentin; Microshear bond strength; Universal Adhesive



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	31
2. PROPOSIÇÃO .....	37
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	41
4. RESULTADOS .....	55
5. DISCUSSÃO .....	63
6. CONCLUSÃO .....	69
REFERÊNCIAS .....	73
ANEXO .....	81



# *Introdução*

---





## 1. INTRODUÇÃO

A cárie dentária é uma doença multifatorial que ainda afeta quase 80% das crianças e adolescentes (6-18 anos) e 90% dos adultos (Brazzelli et. al., 2006) sendo caracterizada como um desequilíbrio ecológico no biofilme dental. Durante este desequilíbrio ocorre favorecimento de bactérias acidogênicas e acidúricas devido a frequente ingestão de carboidratos, havendo predomínio das bactérias cariogênicas no biofilme dental que são produtoras de ácidos (Schwendicke et. al., 2016, 2017; Giacaman et. al., 2018), levando ao aparecimento da lesão de cárie.

A adesão em dentes decíduos é um desafio (Senawongse et. al., 2004; Courson et. al., 2005), uma vez que, com a remoção seletiva de tecido cariado a adesão irá ocorrer em dentina afetada, que apresenta-se parcialmente desmineralizada e com maior grau de porosidade que a dentina hígida, dificultando a adesão aos materiais restauradores. A abordagem conservativa em dentes decíduos é preferível, pois possibilita maior conservação da estrutura dental remanescente e reduz o risco de exposição pulpar (Giacaman et. al., 2018).

Comparando a microestrutura dentinária e a composição química entre dentes decíduos e permanentes verifica-se que os decíduos apresentam túbulos dentinários de menor diâmetro (Hirayama et. al., 1986), menor quantidade de túbulos dentinários (Garberoglio e Brännström, 1976; Koutsi et. al. 1994; Schilke et. al., 2000), diminuição da área de dentina intertubular (Sumikawa et. al., 1999) e menor concentração de cálcio e fósforo (Hirayama, 1990), fatores que podem influenciar na resistência adesiva. Essas desvantagens na manutenção da interface adesiva em dentes decíduos podem ser amenizadas através da utilização de biomodificadores na dentina que previnem ou desaceleram a deterioração da interface adesiva (Bedran-Russo et. al., 2014) estabilizando-as (Bedran-Russo et. al., 2010). As substâncias biomodificadoras foram desenvolvidas com o intuito de melhorar a resistência mecânica do colágeno, principal componente da dentina, aumentar a resistência à degradação hidrolítica e enzimática das fibras colágenas utilizadas como suporte para o estabelecimento das interfaces adesivas (Bedran-Russo et. al., 2014; Schefel et. al., 2014a).

O uso de substância biomodificadora aplicada diretamente na dentina afetada melhorou a resistência de adesão e as propriedades mecânicas da dentina, além de manter a integridade estrutural da interface resina / dentina ao longo do tempo

prevenindo a degradação enzimática e / ou hidrolítica, devido sua ação formadora de crosslinks inter e intra-moleculares (Bedran-Russo et. al. 2010).

Dentre os biomodificadores que realizam ligações cruzadas ou crosslinks existe a carbodiimida ou cloridrato de 1-etil-3 (3-dimetilaminopropil) que é um agente cross linking sintético, sendo capaz de produzir ligações cruzadas estáveis. A carbodiimida é um grupo funcional constituído pela fórmula ( $RN = C = NR$ ) (Singh et. al., 2016) capaz de formar ligações peptídeo covalente entre proteínas inespecíficas sem incorporar outros grupos no processo da ligação. A reação ocorre através da ativação dos grupos carboxilo livres nos ácido glutâmico e aspártico presentes nas moléculas de proteínas (Zeeman et.al., 1999; Scheffel et. al., 2014b; Scheffel et. al., 2015a). A reação química resulta na formação de um intermediário, o O-acilisourea (Ekambaram et. al., 2015; Singh et. al., 2016). O intermediário O-acilisourea pode reagir com um grupo amino não proteico e uma cadeia de proteína adjacente para formar uma ligação amida covalente estável entre proteínas (Tomihata e Ikada, 1996; Bedran-Russo et. al., 2010) tendo como subproduto final a ureia.

A EDC apresenta baixa citotoxicidade (Scheffel et. al., 2015b), atua em um amplo espectro de enzimas do tipo collagenase (MMPs, catepsinas e outras) evitando a utilização de diferentes tipos de agentes para cada uma destas enzimas (Mazzoni et. al., 2014). Dentre as vantagens específicas promovida pelo EDC existe a inativação do local catalítico das proteases, redução da mobilidade das enzimas criando uma nova ligação peptídica entre os péptidos adjacentes e inativação da atividade das MMPs (Bedran-Russo et. al., 2010; Tezvergil-Mutluay et. al., 2012; Scheffel et. al., 2015a). A inativação das MMPs ocorre através de vários mecanismos como mudanças conformacionais na estrutura tridimensional da enzima (Liu et. al., 2011) e inativação dos locais ativos das proteases da dentina reduzindo a mobilidade molecular do local ativo (Singh et. al., 2016). Essa propriedade de inativação das MMPs pode aumentar a durabilidade das interfaces adesivas (Bedran-Russo et. al., 2010), pois a atividade das MMPs é um dos fatores responsáveis pela degradação da interface adesiva em dentes decíduos (Hashimoto et. al., 2000).

As características benéficas do EDC podem indicar sua utilização em tecido dentinário desmineralizado de dentes decíduos / dentina afetada de dentes decíduos para melhorar a estabilidade mecânica e estrutural do colágeno dentinário, permitindo a formação de uma rede estável de matriz dentinária, a qual poderá ser infiltrada com

resina, promovendo uma camada híbrida estável e com maior longevidade (Mazzoni et. al., 2013) como observado por Mazzoni et. al. (2013) e Angeloni et. al. (2014) que observou preservação da interface adesiva após 1 ano de armazenamento em saliva artificial com redução da atividade das enzimas coleolanólicas.

Os benefícios citados anteriormente podem ser capazes de melhorar a adesão e estabilizar a interface adesiva na dentina afetada de dentes decíduos. Vários autores testaram biomodificadores em dentes permanentes ou bovinos (Ekambaram, Yiu e Matinlinna, 2015; Leme et. al., 2015; Kim et. al., 2017), mas a literatura científica não possui estudos que avaliaram biomodificadores em dentina afetada de dentes decíduos.

Frente às dificuldades de adesão à dentina afetada de dentes decíduos e os benefícios que a biomodificação com carboidimida pode proporcionar, torna-se importante avaliar sua utilização frente a degradação hidrolítica a fim de comprovar se ocorre melhoria na interface adesiva.



*Proposição*

---



## **2. PROPOSIÇÃO**

O presente estudo in vitro tem como objetivo geral avaliar o efeito da biomodificação com carbodiimida 0,5 mol/L na dentina afetada de dentes decíduos, após 24 horas e 3 meses de envelhecimento hidrolítico. Para tal, o estudo teve os seguintes objetivos específicos:

- Avaliar a resistência adesiva por meio de teste de microcisalhamento.
- Analisar a interface adesiva, por meio de microscopia eletrônica de varredura.





# *Material e Métodos*

---



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto de pesquisa do presente estudo foi enviado para avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/ USP – FORP (protocolo: nº 74699117.8.0000.5419) (Anexo A).

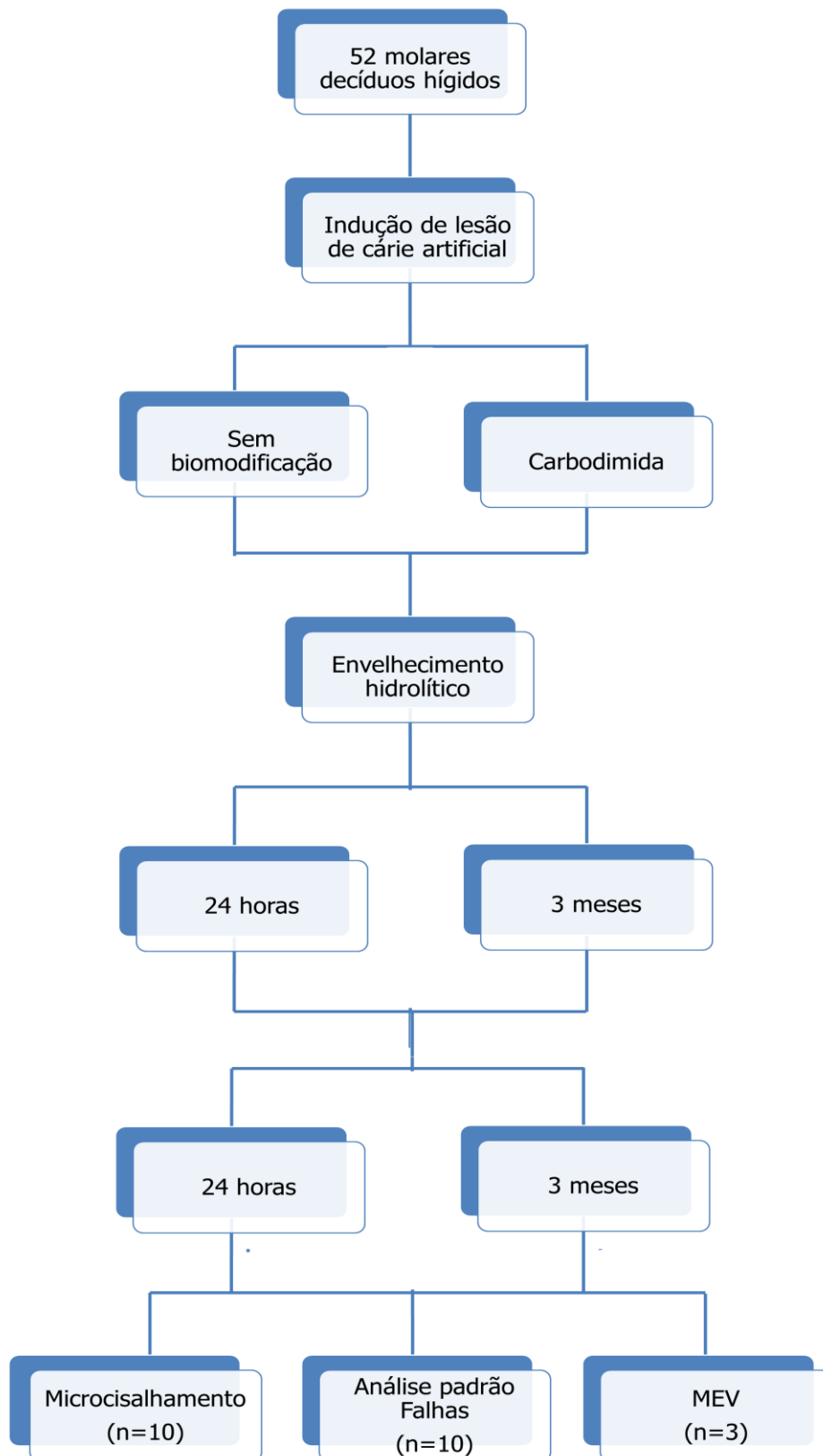
Foram utilizados molares decíduos hígidos limpos com pedra pomes e água, imersos em solução bacteriostática / bactericida de cloramina 0,5% a 4°C por uma semana. Posteriormente, os dentes foram lavados em água corrente por 24 horas e examinados macroscopicamente com auxílio de lupa estereoscópica (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha) em aumento de 20x. Foram selecionados 52 molares decíduos hígidos que não apresentavam restaurações, fraturas, trincas ou hipoplasias.

#### **Delineamento Experimental**

Os fatores do estudo foram a biomodificação da dentina em dois níveis: EDC 0,5 mol/L e sem biomodificação e envelhecimento hidrolítico, em dois níveis: 24 horas e 3 meses. A amostra do experimento foi composta por 52 molares decíduos hígidos divididos aleatoriamente em 4 grupos.

O delineamento foi realizado em blocos completos casualizados. As variáveis de resposta quantitativa foram: 1) Análise da resistência ao microcisalhamento (n=10), análise do padrão de falhas (n=10) e análise qualitativa da interface adesiva por meio de microscopia eletrônica de varredura da superfície dentinária (n=3). O fluxograma do experimento está ilustrado na Figura 1.

Figura 1 - Ilustração esquemática do delineamento experimental.

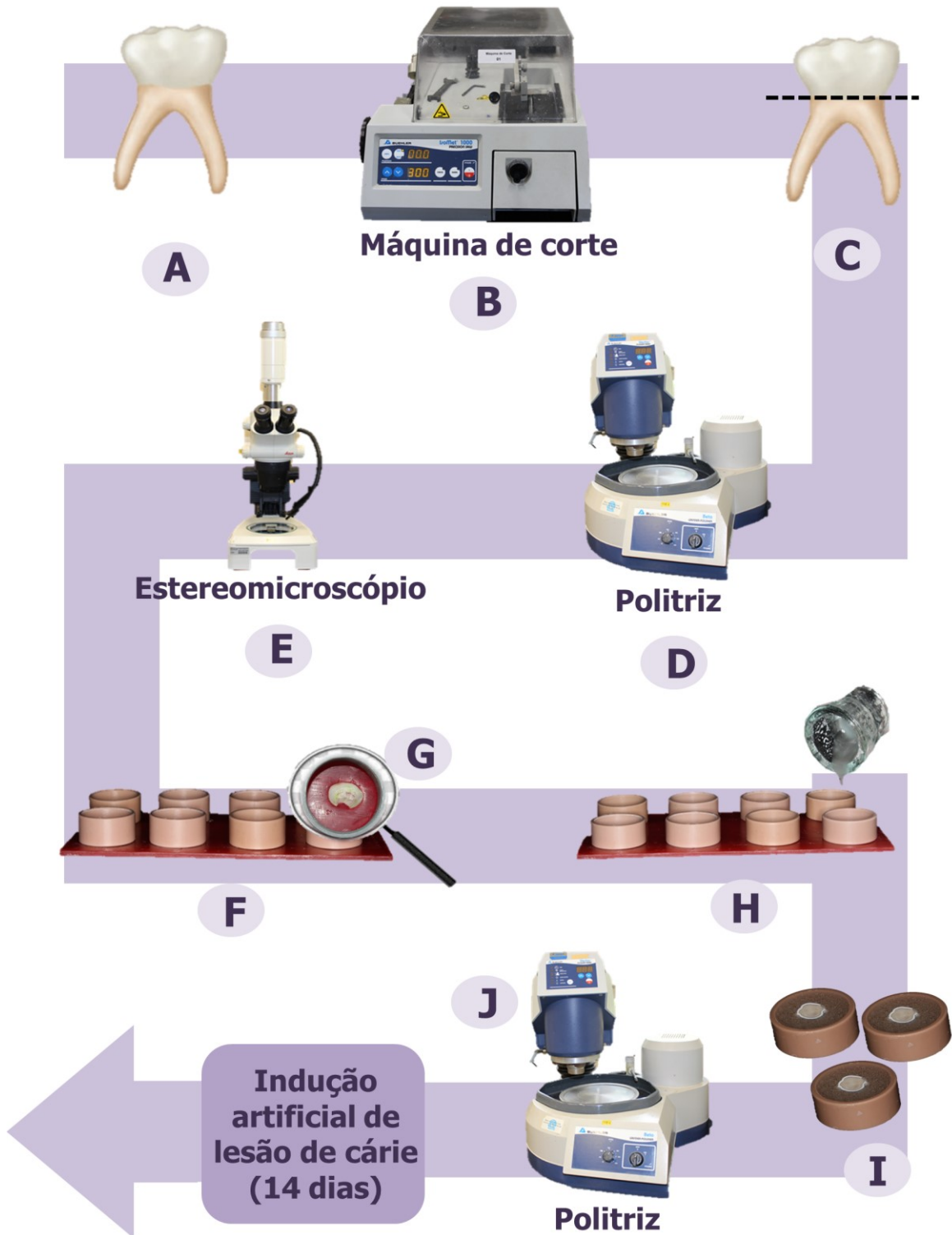


## Preparo da Amostra

Os dentes selecionados foram seccionados transversalmente na junção amelocementária para separar as coroas das raízes, utilizando disco diamantado montado em máquina de corte (Isomet 1000 – Buehler Ltd, Illinois, EUA). Posteriormente, as coroas dentais foram planificadas em politriz giratória (DP-9U2; Struers S/A, Copenhague, Dinamarca) refrigerada à água com lixa de carvão de silício de granulação 600 (Hermes Abrasives Ltd., VA, EUA) e observadas em estereomicroscópico (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha) para confirmação da remoção de todo esmalte.

As coroas dentais planificadas foram devidamente embutidas em matrizes com resina acrílica incolor (Jet, Clássico, São Paulo) utilizando uma placa cera como aparato, de forma que a superfície da dentina permanecesse voltada para a placa de cera. Posteriormente, os espécimes imbutos foram polidos em Politriz giratória (DP-9U2, Struers S/A, Copenhague, Dinamarca) refrigerada à água com lixas d'água de granulação 600 e 1200 (Hermes Abrasives Ltd., VA, EUA) para padronização da *smear layer* e feltro polidor (ATM, Altenkirchen, Alemanha) com pasta de alumina 0.3 $\mu$ m e 0.05 $\mu$ m (Arotec S/A Ind. Com., São Paulo, Brasil). O Protocolo completo do preparo da amostra está exposto no fluxograma da Figura 2.

**Figura 2** – Fluxograma da inclusão dos espécimes em resina acrílica. A) Dente inicial, B-C) Dente levado á máquina de corte de precisão para secção das raízes. D) Planificação da superfície dentinária em Politriz giratória. E) Observação da superfície dentinária em estereomicroscópio. F) Superfícies dentinárias posicionadas na placa de cera. G) Visão em maior aumento mostrando a superfície dentária voltada para cera. H) Inclusão dos espécimes com resina acrílica incolor. I) Aspecto dos espécimes obtidos. J) Polimento dos espécimes com feltro polidor e pasta de alumina.



### Indução de lesão de cárie artificial

A indução de lesões artificiais em dentina foram criadas através da ciclagem de pH, segundo protocolo descrito por Marquezan et. al. (2009).

A solução desmineralizante foi composta por 2 mM de  $\text{CaCl}_2$ , 2.2 mM de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  50 mM de ácido acético com pH ajustado para 4.8. A solução remineralizante foi composta por 1.5 mM de  $\text{CaCl}_2$ , 0.9 mM de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  e 0.15M de KCl com pH em torno de 7.0. Cada espécime foi ciclado em 10 mL de solução, sendo 8h em solução desmineralizante e 16h em solução remineralizante. Este procedimento foi realizado por 14 dias em temperatura ambiente sem agitação, após esta etapa os espécimes foram armazenados na geladeira em umidade relativa até o momento do seu uso.

**Figura 3** – Imagem da dentina afetada por cárie, após ciclagem de pH



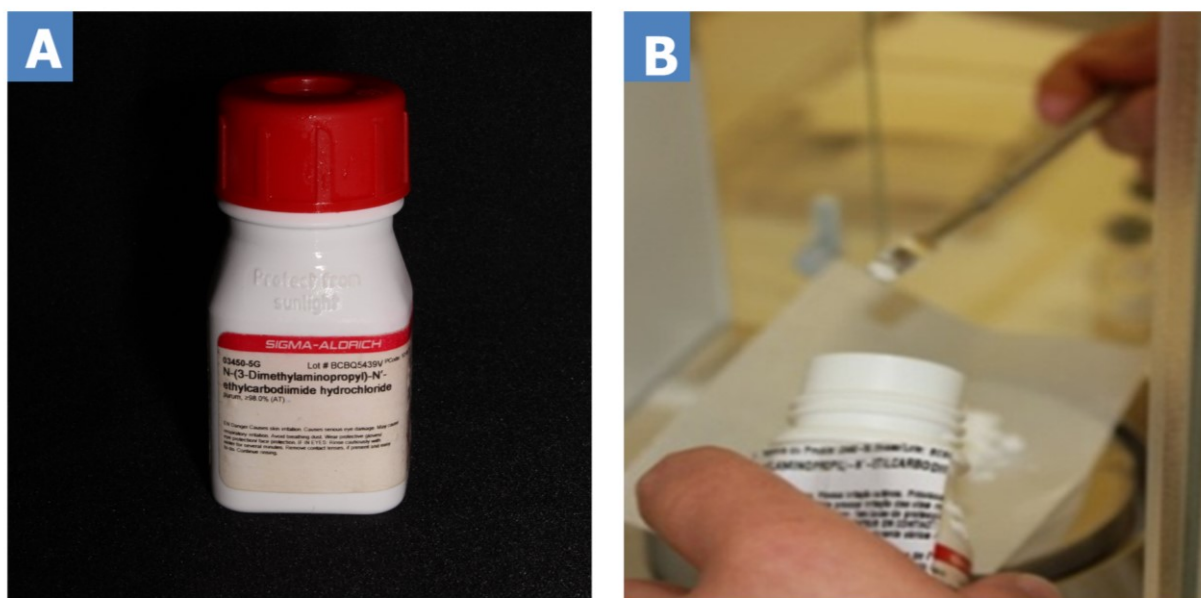
### Divisão dos grupos experimentais

Os 52 espécimes de dentina afetada foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos de acordo com o tratamento da dentina em: sem biomodificação ou EDC 0,5 mol/L; e de acordo com o tempo de envelhecimento hidrolítico em 24 horas ou 3 meses; Dos 52 espécimes, 40 foram destinados à análise de resistência ao microcisalhamento e subsequente análise do padrão de falhas e 12 espécimes destinados à análise em MEV da superfície dentinária.

## Preparo da carbodimida (EDC) e biomodificação da dentina

A solução de carbodiimida ou EDC-HCl (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, EUA) foi preparada no momento de ser utilizada. A solução de carbodimida com concentração de 0,5mol/L foi preparada com 2,3 mg de EDC-HCL pesado em balança de precisão (Unibloc AUY220, Shimadzu, Kyoto, Japão) e então diluído em 230  $\mu$ l de água MiliQ (Merck Millipore, Burlington, MA, EUA), resultando em uma solução com pH 7,34. No grupo biomodificação da dentina 24 horas e 3 meses a superfície dentinária foi biomodificada, após a aplicação do condicionamento ácido por 15 segundos. A dentina afetada foi biomodificada com 20 $\mu$ L de EDC 0,5mol/L aplicado na superfície por 60 seg (Scheffel et. al., 2015b), seguido de lavagem com água destilada por 10 segundos e remoção do excesso de água com papel absorvente. Após essa etapa de biomodificação da dentina, foi aplicado o adesivo Single Bond Universal na superfície dentinária.

**Figura 4** – Carbodimida (A) Apresentação comercial do EDC-HCl da Sigma – Aldrich. (B) Medição da quantidade de carbodiimida que foi utilizada.



## Procedimento restaurador

A superfície dentinária dos espécimes de todos os grupos foram condicionados com ácido fosfórico a 35% (Ultra-Etch Ultradent, SP, Brazil) por 7 segundos (Torres,

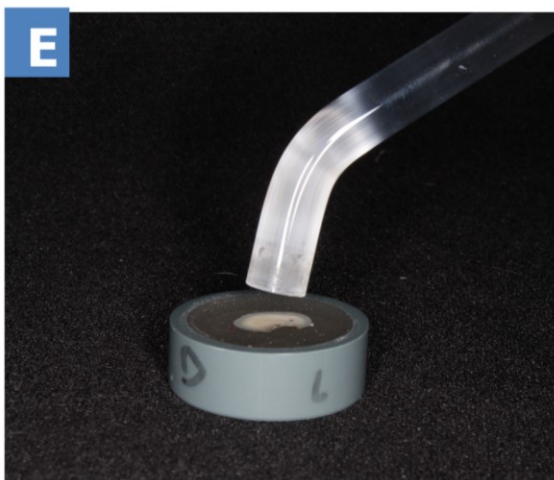
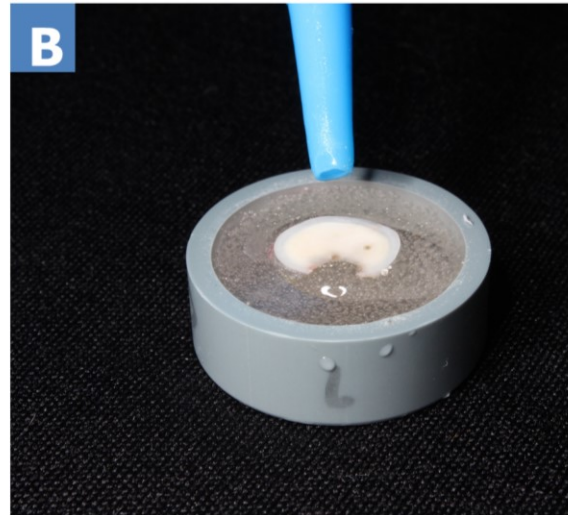
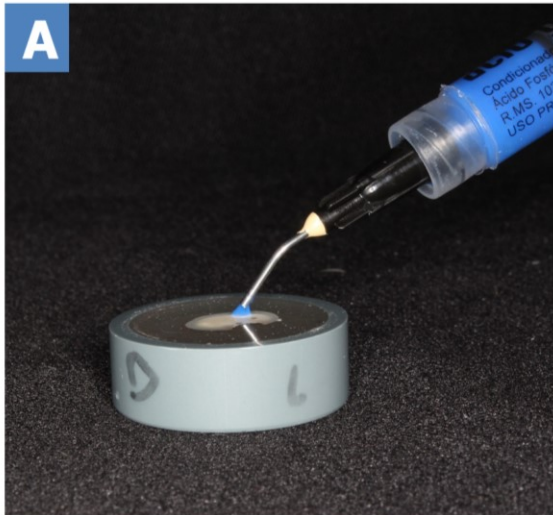


et. al., 2007), após foi realizada a lavagem com água destilada e o excesso de água foi removida com papel absorvente.

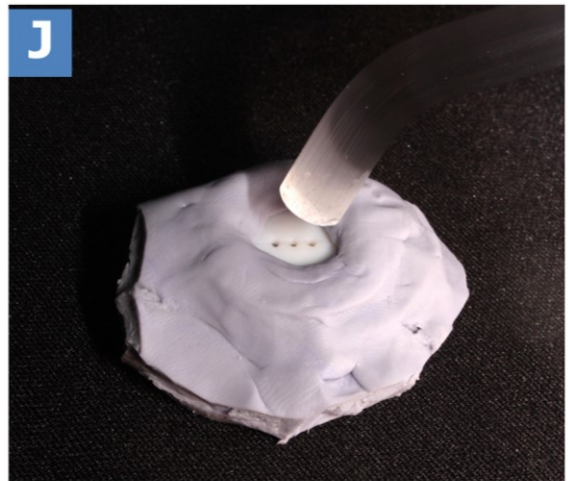
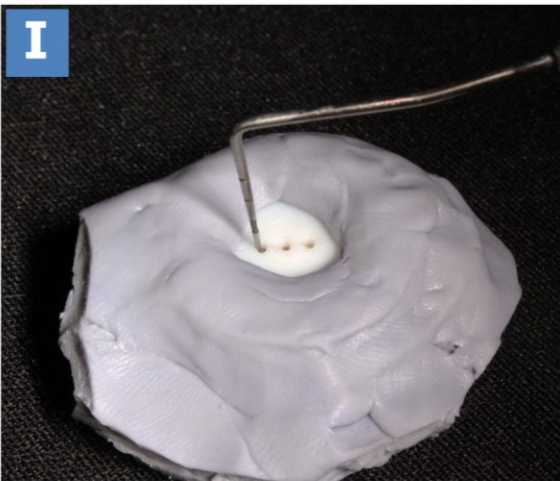
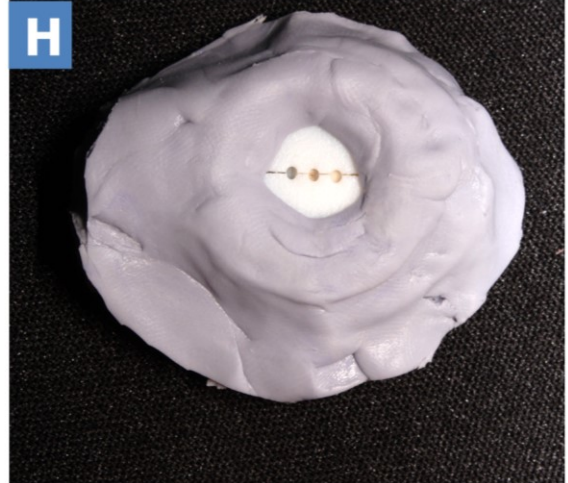
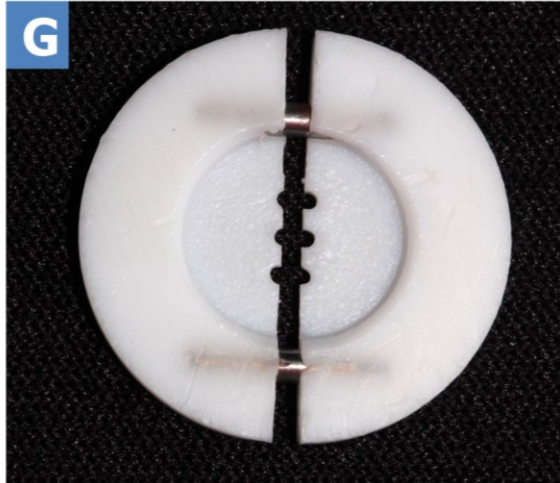
Foi aplicado o adesivo Single Bond Universal (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) na superfície dentinária com microbrush nº 2 (KG Sorensen, São Paulo, SP, Brazil) por 20 segundos com posterior evaporação do solvente. Em seguida, foi realizada a fotopolimerização por 10 segundos (Optilight Max (1200 mW/cm<sup>2</sup>), Gnatus Ltda, Ribeirão Preto, SP, Brasil).

Os espécimes foram restauradas com o auxílio de uma matriz de polietileno com diâmetro de 1,2 mm e altura de 1 mm (Figura 6-G) que foi adaptada sobre a superfície da dentina de cada espécime. A matriz de polietileno foi fixada com silicona de adição Variotime Easy Putty (Kulzer, Hanau, Alemanha) para evitar o deslocamento da matriz durante a restauração. A resina composta Filtek Z250 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) foi incluída em incrementos de 1 mm com auxílio de sonda periodontal (Duflex SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) polimerizada por 20 segundos em cada incremento, mantendo-se a extremidade do aparelho à distância de 1mm da superfície de resina com auxílio de dispositivo próprio. Após a finalização da restauração, a silicona foi removida com bisturi e a matriz foi aberta cuidadosamente com o auxílio de espátula de metal (Duflex SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Os espécimes restaurados foram armazenados em água destilada para realização do protocolo de envelhecimento hidrolítico (24 horas e 3 meses).

**Figura 5** – Sequência de condicionamento adesivo. A) Condicionamento ácido por 15 segundos. B) Lavagem com água e remoção do excesso com papel absorvente. C) Condicionamento adesivo por 20 segundos. D) Evaporação do solvente. E) Fotopolimerização por 10 segundos. F) Materiais utilizados nessa fase.



**Figura 6** – Sequência de restauração. G) Imagem da matriz bipartida. H) Estabilização da matriz com silicona. I) Incremento de resina com auxílio de sonda periodontal. J) Fotopolimerização da restauração. K) Remoção da silicona com bisturi. L) Armazenamento em água destilada para envelhecimento hidrolítico por 24 horas e 3 meses.



### **Envelhecimento hidrolítico**

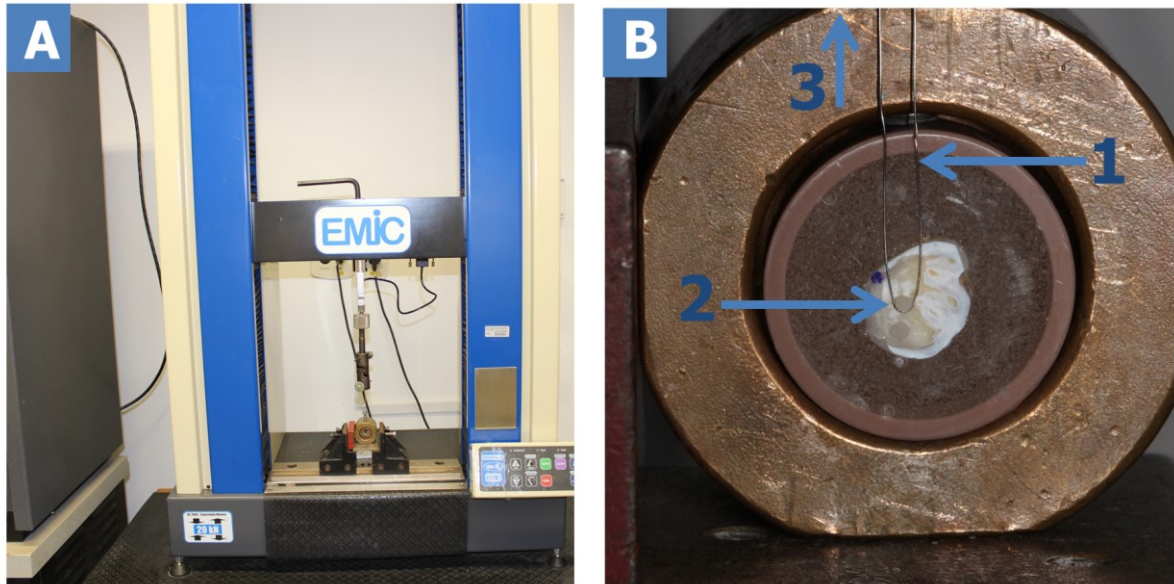
Os 52 espécimes restaurados foram submetidos a 24 horas e 3 meses de envelhecimento hidrolítico da interface, para tal foram armazenados em 20 mL de água destilada a 37°C em estufa por 24 horas ou 3 meses, com troca semanal da água (Profeta et al., 2012).

### **Ensaio de resistência ao microcisalhamento ( $\mu$ SBS)**

Os espécimes restaurados foram posicionados na máquina universal de ensaios (EMIC, Instron Corporation, Canton-Massachusetts, EUA) (Fig.7A) para o ensaio de resistência ao microcisalhamento, seguindo protocolo descrito por Shimada et.al. (2002). Um fio ortodôntico com 0,2 mm de diâmetro foi adaptado em torno do cilindro de resina composta, de maneira que o anel de metal envolva simultaneamente esse cilindro (resina composta) e o prolongamento da célula de carga mantendo contato com a superfície de dentina e o mais próximo possível da interface adesiva (Fig.7B). Os espécimes foram submetidos à força de cisalhamento a uma velocidade de 0,5 mm / min até que ocorra a fratura (Hara et. al., 2001).

Os valores de carga máxima suportada pela união dentina/material restaurador foram dados em Newton (N) e posteriormente convertidos a Mega Pascal (Mpa), considerando a área de adesão de cada espécime mensurado com auxílio do paquímetro digital com precisão de 0,01 mm.

**Figura 7** – Ensaio de microcisalhamento. (A) Máquina de Ensaio Universal EMIC. (B) Imagem de espécime na máquina durante realização do teste de microcisalhamento. 1- Fio metálico, 2- Restauração envolta pelo aro de fio metálico, 3 – Carga 0,5 mm/min.



### **Análise do padrão de falhas**

As superfícies fraturadas dos espécimes foram analisadas em estéreo-microscópio (Leica S6 D Stereozoom, Leica Microsystems AG, Suíça) para classificação quanto ao padrão de falha. As fraturas foram classificadas em adesiva, quando a superfície dentinária estiver coberta por fina camada de material adesivo; coesiva do material, quando a superfície estiver coberta por resina composta; coesiva do substrato, quando a falha ocorrer na dentina; mista, nas situações em que houver a combinação dos tipos adesiva e coesiva e prematura quando ocorre fratura antes da inserção da amostra na máquina de ensaios.

### **Preparo dos espécimes para análise de MEV**

Com objetivo de analisar a interface adesiva após 24h e 6 meses de envelhecimento hidrolítico, os espécimes foram lavados em água destilada, e imersos em solução contendo 2,5% de glutaraldeído em 0,1M de tampão de cacodilato de sódio com pH 7,4 (Merck KGaA, Darmstadt, D-64293, Germany) por 12 horas. Os espécimes foram desidratados em uma sequência crescente de etanol (Labsynth Ltda.,

Diadema, SP, Brasil): 20% (20 min), 50% (20 min), 75% (20 min), 95% (30 min), e 100% (60 min). Em seguida, foram imersos em HDMS (Hexamethyldisilazane — Merck KgaA, Darmstadt, D-64293, Alemanha) por 10 minutos. Após, os espécimes foram fixos em *stubs* metálicos e cobertos com fina camada da liga *ouro-paladium* em aparelho de metalização a vácuo (Bal-Tec AG, Balzers, Liechtenstein).

Foi realizada análise em Microscópio Eletrônico de Varredura (EVO 50; Carl Zeiss, Cambridge, Inglaterra) pertencente ao Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura do Departamento de Biologia Celular e Molecular da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP. A varredura de toda interface adesiva foi realizada e a área mais representativa de cada espécime foi fotografada em aumento de 1.500 ×.

### **Análise estatística**

Todos os dados obtidos foram submetidos ao teste Shapiro-Wilk. Esse teste indicou que os dados não eram paramétricos, por isso os dados obtidos foram transformados em raiz quadrada e novamente avaliados quanto a sua normalidade através do teste Shapiro-Wilk. Uma vez que os dados transformados apresentaram distribuição normal, estes foram, então, analisados estatisticamente por Teste T de Student comparando as intervenções (Controle e Biomofidicação com EDC) a cada tempo experimental (24 horas e 3 meses). Em todos os testes estatísticos foi adotado o nível de significância de 5% e os dados foram analisados por meio do sistema IBM SPSS *software* (Versão 21.0, Armonk, NY: IBM Corporation).

*Resultados*

---





## 4. RESULTADOS

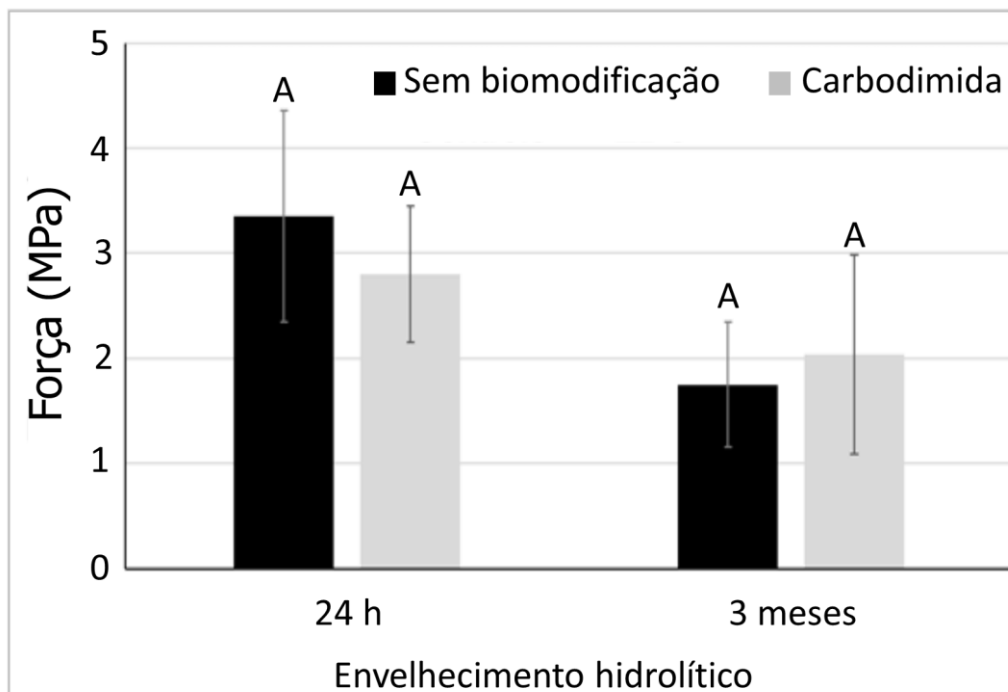
### Ensaio de resistência ao microcisolamento

A figura 8 apresenta as médias dos valores de resistência ao microcisolamento obtida na dentina afetada de dentes deciduos após biomodificação e envelhecimento hidrolítico. Observou-se que a resistência de ao microcisolamento da dentina afetada biomodificada com carboidimida a 0,5mol/L foi similar aos valores obtidos nos grupos sem biomodificação, independente do tempo de armazenamento hidrolítico, 24 horas ( $p=0,16$ ) e 3 meses ( $p=0,054$ ) como mostrado na figura 9.

**Figura 8** – Tabela com os valores médios de resistência de adesão ao microcisolamento (em Mpa – raiz quadrada) e desvios padrão para a interação dos fatores biomodificação e tempo

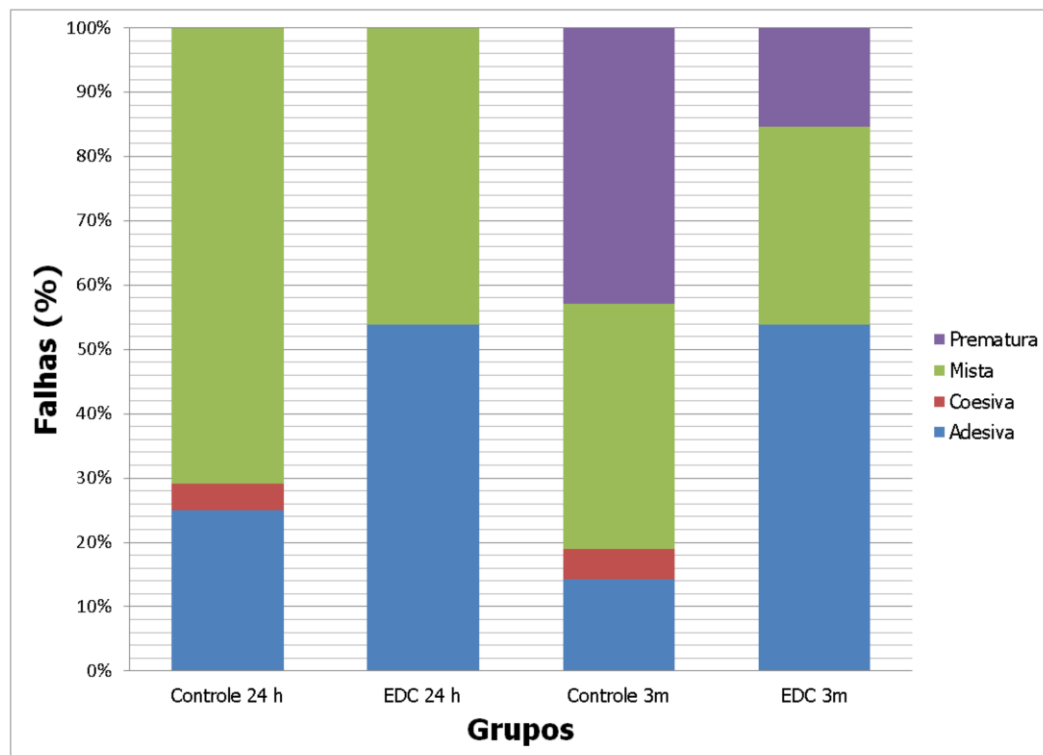
Biomodificação da dentina	Envelhecimento hidrolítico	
	24 horas	3 meses
Sem biomodificação	3,34 ( $\pm 1,0$ )	1,75 ( $\pm 0,64$ )
Carbodiimida	2,80 ( $\pm 0,59$ )	2,03 ( $\pm 0,94$ )

**Figura 9** - Média  $\pm$ DP (n=10) da resistência de união microcisalhamento (Mpa – raiz quadrada) dos grupos Sem biomodificação e Carbodiimida, após 24 horas ou 3 meses de envelhecimento hidrolítico. Letras maiúsculas iguais (A) indicam ausência de significância estatística.



### Análise do padrão de falhas

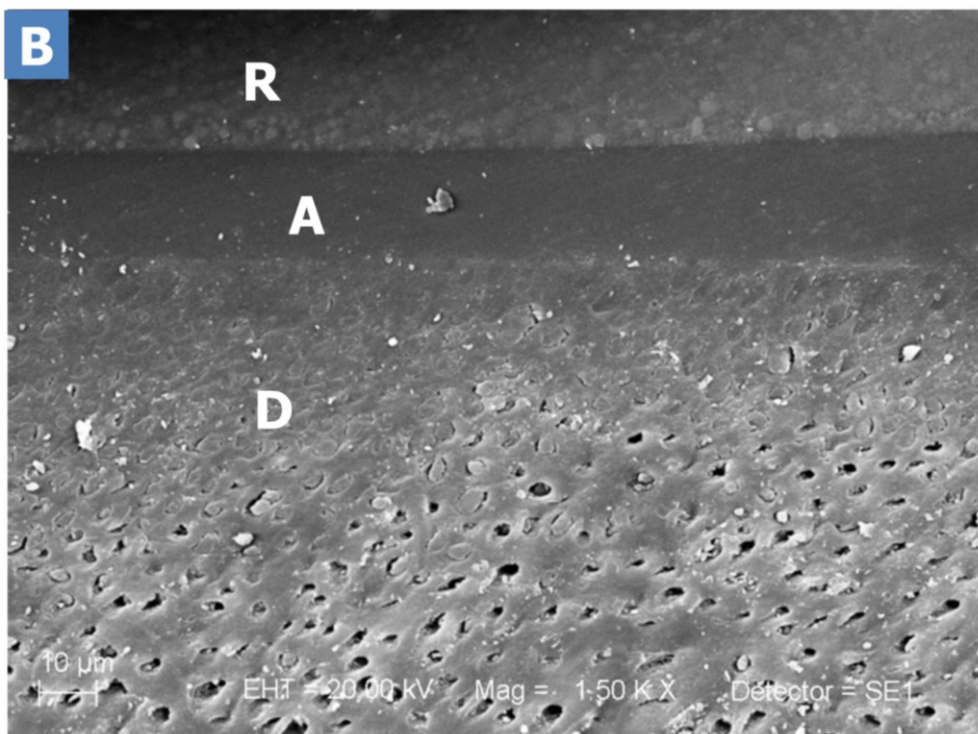
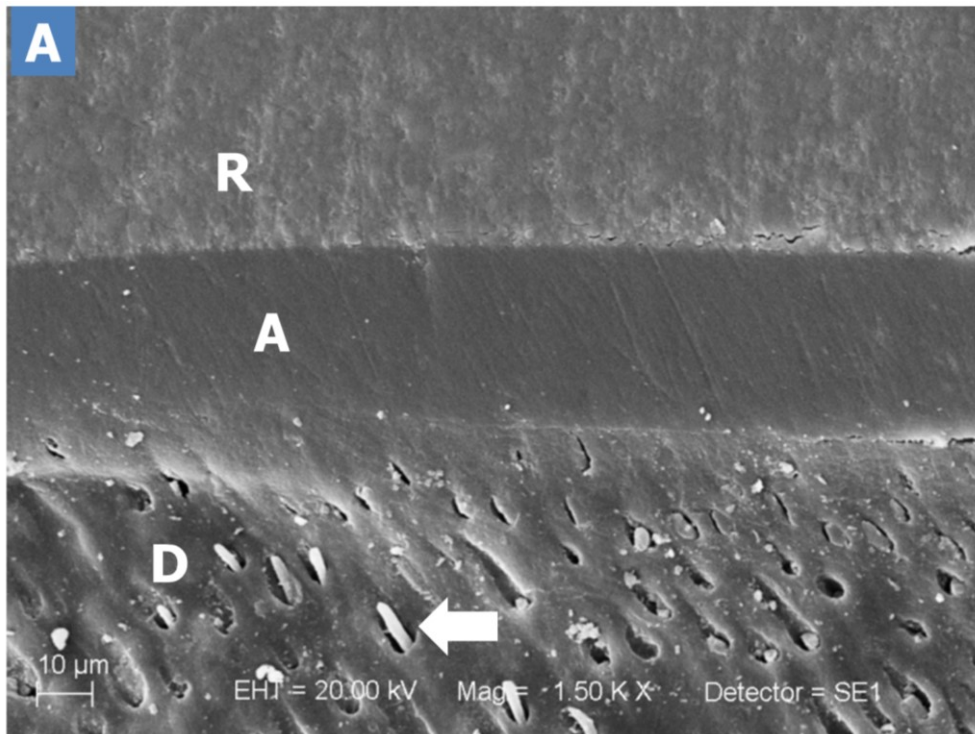
A porcentagem de distribuição do tipo de falha obtido, após o ensaio de resistência de união ao microcisalhamento está ilustrada na Figura 10. A falha mais prevalente em todos os grupos foi a mista seguida da adesiva. A falha adesiva foi o tipo de falha mais prevalente nos espécimes de dentina afetada de decíduos biomodificados com carbodiimida a 0,5mol/L, independente do tempo de degradação hidrolítica, enquanto que a falha mista foi mais prevalente nos espécimes sem biomodificação da dentina, independente do tempo de degradação hidrolítica.

**Figura 10** - Gráfico de barras da porcentagem de distribuição do tipo de falha.

### MEV da superfície dentinária

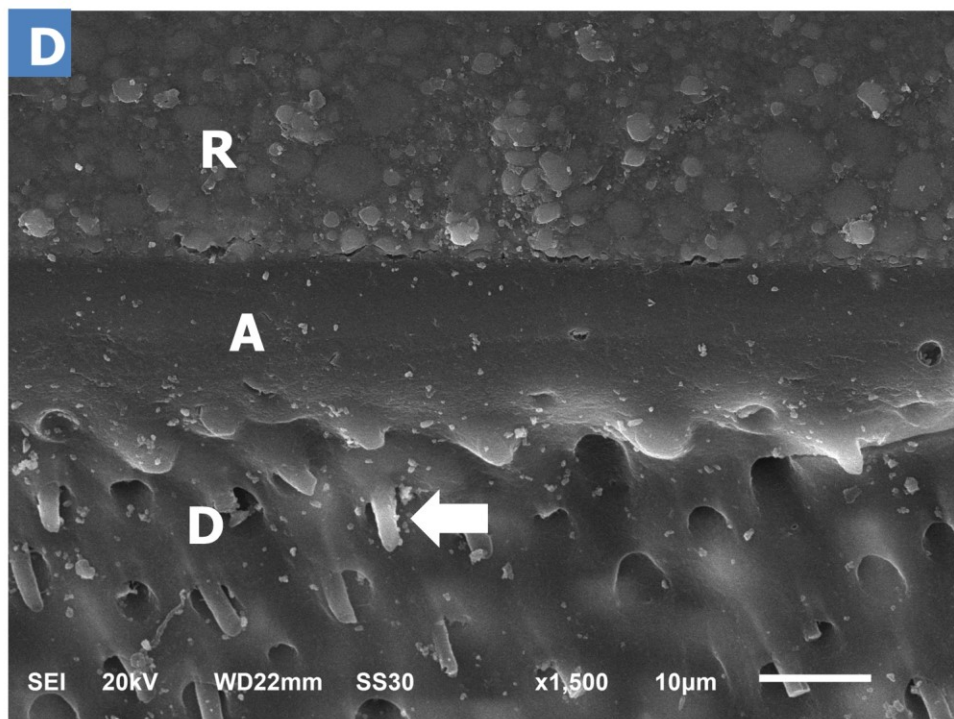
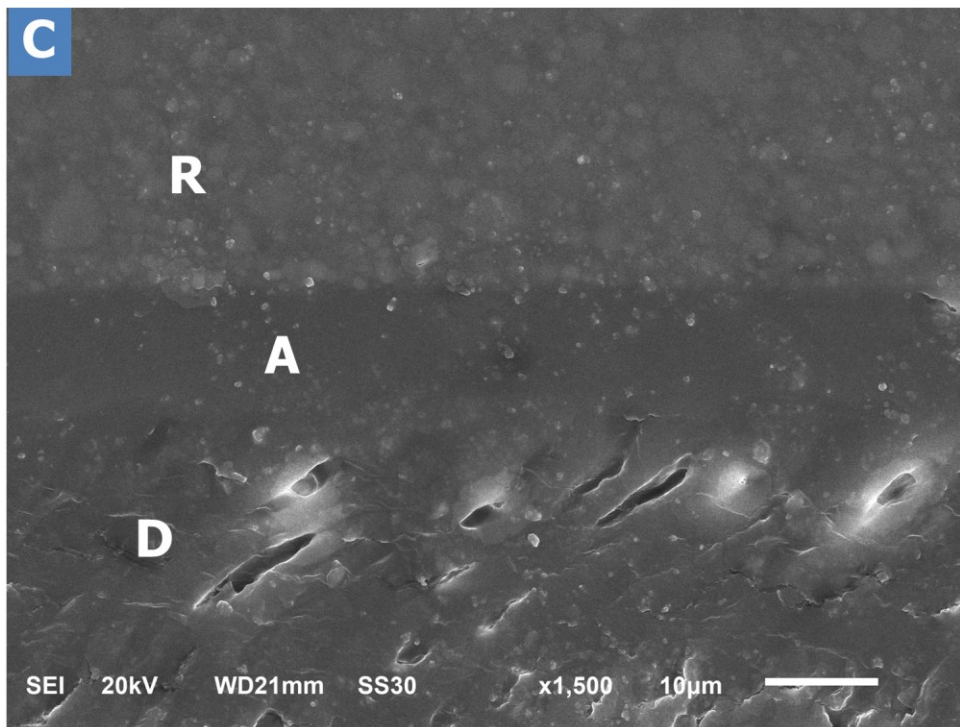
Após 24 horas de armazenamento em água, os achados morfológicos demonstraram que houve pouca formação de *tags* resinosos. Na fotomicrografia são exibidas algumas *tags* curtas e com formato de túnel. Não houve diferenças micromorfológicas quando comparados os grupos controle/ sem biomodificação 24 horas e 3 meses com o carbodiimida 24 horas e 3 meses. (Figura 11)

Figura 11 (Parte 1) - Fotomicrografia da interface adesiva. A) Sem biomodificação 24 horas de envelhecimento hidrolítico; B) Sem biomodificação 3 meses de envelhecimento hidrolítico;



\* R = Resina. A = adesivo. D = dentina remanescente afetada pela cárie.  
⇒ Indica a presença de tags resinosos. Imagens em aumento de 1.500×.

Figura 11 (Parte 2) - Fotomicrografia da interface adesiva. C) Biomodificação 24 horas de envelhecimento hidrolítico; D) Biomodificação 3 meses de envelhecimento



\* R = Resina. A = adesivo. D = dentina remanescente afetada pela cárie.  
⇒ Indica a presença de tags resinosa. Imagens em aumento de 1.500x.



*Discussão*

---





## 5. DISCUSSÃO

A carbodiimida apresenta efeito inibitório das MMPs melhorando a resistência a adesão em longo prazo (Bedran-Russo et.al., 2010; Tezvergil-Mutluay et. al.,2012 ; Mazzoni et. al.,2013). Promove durabilidade e integridade estrutural à interface adesiva preservando sua resistência ao longo do tempo através da formação de *cross-links* inter e intra-moleculares, além disso, é um dos agentes *cross-linkers* menos citotóxicos e mais estáveis (Tjäderhane et. al., 2013). Apesar desses benefícios, o efeito da carbodimida ainda não foi investigado na dentina afetada de dentes decíduos.

Nos estudos realizados em dentina hígida de dentes permanentes observou-se que a biomodificação com carbodiimida melhorou a estabilidade mecânica e estrutural do colágeno da dentina criando uma rede estável de matriz colágena fornecendo uma camada híbrida estável (Al-Ammar et al., 2009; Macedo et al., 2009; Cova et al., 2011; Mazzoni et al., 2013b) este aspecto foi devido a aumento da resistência das matrizes de colágeno não reticuladas ou levemente reticuladas à degradação por colagenases bacterianas (Avila e Navia, 2010; Ma et al., 2010), contribuindo potencialmente para a estabilização da interface resina-dentina ao longo do tempo (Bedran-Russo et al., 2010; Tezvergil-Mutluay et al., 2012; Mazzoni et al., 2013b).

A biomodificação com solução de carbodiimida a 0,5mo/L na dentina afetada de dentes decíduos apresentou resistência adesiva ao microcislamento semelhante a dentina sem biomodificação. Este fato pode ter ocorrido em função das características morfológicas e químicas do substrato dentinário afetado, que apresenta-se com maior grau de porosidade devido à perda mineral, redução dos mineirais na dentina intertubular, apresentando menores valores de resistência de adesiva (Nakajima et. al., 1995; Alves et. al.,2013; Marquezan et. al.,2010) e maior prevalência de fibras colágenas expostas e desprotegidas (Haj-Ali et. al., 2006; Nakajima et. al., 1995), alterando a interação da carbodiimida com este substrado.

Quando comparamos os valores de resistência a adesão entre os grupos sem biomodificação e carbodimida ambos após 24 horas de envelhecimento, notamos que eles não apresentaram diferença estatisticamente significante. Esses dados são

compatíveis aos que a literatura apresenta, pois, os autores que avaliaram os efeitos da carbodiimida demonstram que ela não afeta a resistência à adesão em 24 horas sendo seus resultados perceptíveis em longo prazo (Comba et. al., 2019; Mazzoni et. al., 2018; Singh et. al., 2017). No estudo de Bedran-Russo et.al. (2010) não houve aumento da resistência à adesão nos grupos tratados com carbodiimida, mas os valores se mantiveram estáveis após 12 meses de envelhecimento hidrolítico.

A redução dos valores de resistência a adesão, mesmo não sendo estatisticamente significativa, quando comparados os grupos carbodiimida após 24 horas de envelhecimento e 3 meses, pode ser constatada também nos trabalhos de (Bedran-Russo et al. 2010; Mazzoni et al. 2013; Singh et al. 2015) que apresentaram redução dos valores de adesão com a utilização da carbodiimida. Nesses trabalhos essa redução dos valores da adesão foi pequena (não foi estatisticamente significativa) ou está associada ao tempo de envelhecimento, assim, podemos inferir que a redução da resistência a adesão do grupo carbodiimida 3 meses quando comparado com o 24 horas do nosso estudo pode ter sido causada pela degradação hidrolítica do componente adesivo e a redução do efeito do cross-linker sobre as collagenases causado pelo tempo de envelhecimento. Faz se necessário citar que a segundo Mazzoni et. al. (2017) o uso de EDC tanto em adesivos *etch-and-rinse* como nos *self-etch* foi capaz de reduzir as MMPs, mas não inibiu completamente a atividade à longo prazo da enzima colagenolítica ligada à matriz da camada híbrida.

A carbodiimida é usualmente utilizada com adesivos do tipo *etch-and-rinse* que possuem a etapa de condicionamento ácido (Tjäderhane et. al., 2013). No presente estudo realizamos o condicionamento com ácido fosfórico a 37% na dentina afetada com posterior aplicação do adesivo Single Bond Universal o que pode ter influenciado nos valores de resistência a adesão. Os adesivos do tipo Universais podem ser utilizados com ou sem condicionamento ácido (Munoz et. al., 2013; Mena-Serrano et. al., 2013; Perdigão et. al., 2012). Eles entram na classificação de "ultra suave" (pH= 2,7) e tem a capacidade de desmineralizar parcialmente a dentina deixando uma quantidade substancial de cristais de hidroxiapatita (HAp) ao redor das fibrilas de colágeno, mantendo o colágeno encapsulado e protegido das agressões químicas. A hidroxiapatita também fornece cálcio para a ligação química ao monômero funcional, produzindo uma zona de interação nanométrica com a formação de nano camadas de sais de monômero-cálcio (Van Meerbeek et. al., 2003). A interação do condicionamento ácido com posterior aplicação do adesivo pode ter promovido

maior desmineralização interferindo na quantidade de cristais residuais de apatita para promover a interação desejável com os monômeros funcionais do adesivo prejudicando a adesão (Torii et. al.,2002; Van Landuyt et.al.,2006), este fato pode ter mascarado a ação da carbodiimida. No entanto, no estudo de Lenzi et. al.(2017) a estratégias de adesão (com ou sem condicionamento ácido prévio) do adesivo Single Bond Universal não influenciou o desempenho clínico do adesivo em molares decíduos, após remoção seletiva de tecido cariado, mas eles apontam uma tendência de melhores resultados com a estratégia sem condicionamento ácido. Esses resultados podem ser explicados devido à acidez relativamente baixa do adesivo e a pequena discrepância entre a profundidade em que a dentina afetada pela cárie é desmineralizada e a profundidade na qual o monômero pode se infiltrar (Cardoso et. al.,2011).

Na literatura são escassos os trabalhos que avaliaram resistência ao microcisalhamento na dentina afetada de dentes decíduos. No trabalho de Thanaratikul et. al. (2016) foi avaliada a resistência ao microcisalhamento na dentina hígida de dentes decíduos utilizando o adesivo Single Bond Universal com condicionamento ácido. Os resultados da resistência a adesão foi maior que o do presente estudo devido as diferenças de mineralização entres os substratos, já que Thanaratikul et. al. (2016) utilizou dentina hígida

A observação dos resultados da interface adesiva mostraram mais falhas mistas, seguidas de falhas adesivas resultados que correspondem ao estudo de Memapour et. al. (2018) que também utilizou o adesivo Single Bond Universal no modo *etch-and-rinse* em dentes decíduos, no entanto, nesse estudo não foi avaliada a interação com a carbodiimida.

As imagens da micrografia mostraram poucos tags de resina na dentina afetada de dentes decíduos. Esse resultado pode ser justificado pela desmineralização da dentina associado ao condicionamento com ácido fosfórico que podem ter levado a uma alteração morfológica e química dessa superfície dentinária que não contribuiu para o aumento da resistência adesiva e na interface adesiva apresentou, embora tenha ocorrido formação na interface, predomínio de tags curtos ao longo da interface.



*Conclusão*

---



## **6. Conclusão**

A resistência a adesão e as características micromorfológicas não foram influenciadas pelo fator biomodificação com carbodiimida e tempo de envelhecimento hidrolítico.





*Referências*

---



## 7. REFERÊNCIAS

- Angeloni V, Mazzoni A, Cadenaro M, Santi S, Falconi M, Di Lernada R, Tay FR, Pashley DH, Breschi L. Effect of EDC on the interface of a self-etch adhesive. *Dent Mater*. 2014 Dec; 30 (Suppl 1): e64.
- Al-Amr A, Drummond JL, Bedran-Russo AK. The use of collagen cross-linking agents to enhance dentin bond strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009 Oct;91(1):419-24.
- Alves FB, Lenzi TL, Reis A, Loguercio AD, Carvalho TS, Raggio DP. Bonding of simplified adhesive systems to caries-affected dentin of primary teeth. *J Adhes Dent*. 2013 Oct;15(5):439-45.
- Avila MY, Navia JL. Effect of genipin collagen crosslinking on porcine corneas. *J Cataract Refract Surg*. 2010 Apr;36(4):659-64.
- Bedran-Russo AK, Vidal CM, Dos Santos PH, Castellan CS. Long-term effect of carbodiimide on dentin matrix and resin-dentin bonds. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2010 Jul; 94(1):250-5.
- Bedran-Russo AK, Pauli GF, Chen SN, McAlpine J, Castellan CS, Phansalkar RS, Aguiar TR, Vidal CM, Napolitano JG, Nam JW, Leme AA. Dentin biomodification: strategies, renewable resources and clinical applications. *Dent Mater*. 2014 Jan; 30(1):62-76.
- Brazzelli M, McKenzie L, Fielding S, Fraser C, Clarkson J, Kilonzo M, Waugh N. Systematic review of the effectiveness and cost-effectiveness of HealOzone for the treatment of occlusal pit/fissure caries and root caries. *Health Technol Assess*. 2006 May; 10(16): p. iii-iv, ix-80.
- Cardoso MV, de Almeida Neves A, Mine A, Coutinho E, Van Landuyt K, De Munck J, Van Meerbeek B. Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry. *Aust Dent J*. 2011 Jun;56 Suppl 1:31-44.
- Comba A, Scotti N, Mazzoni A, Maravic T, Ribeiro Cunha S, Michelotto Tempesta R, Carossa M, Pashley DH, Tay FR, Breschi L. Carbodiimide inactivation of matrix metalloproteinases in radicular dentine *J Dent*. 2019 Mar; 82:56-62.
- Courson F, Bouter D, Ruse ND, Degrange M. Bond strengths of nine current dentine adhesive systems to primary and permanent teeth. *J Oral Rehabil*. 2005 Apr;32(4):296-303.
- Ekambaram M, Yiu CK, Matinlinna JP. Effect of Solvents on Dentine Collagen Cross-linking Potential of Carbodiimide. *J Adhes Dent*. 2015 Jun;17(3):219-26.
- Garberoglio R, Brännström M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol*. 1976; 21(6):355-62.
- Giacaman A, Muñoz-Sandoval C, Neuhaus KW, Fontana M, Chalas R. Evidence-based strategies for the minimally invasive treatment of carious lesions: Review of the literature. *Adv Clin Exp Med*. 2018 Jul; 27(7):1009-1016.
- Haj-Ali R, Walker M, Williams K, Wang Y, Spencer P. Histomorphologic characterization of noncarious and caries-affected dentin/adhesive interfaces. *J Prosthodont*. 2006 Mar-Apr;15(2):82-8.

Hara AT, Pimenta LA, Rodrigues AL Jr. Influence of cross-head speed on resin-dentin shear bond strength. *Dent Mater.* 2001 Mar;17(2):165-9.

Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res.* 2000 Jun;79(6):1385-91.

Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. Resin-tooth adhesive interfaces after long-term function. *Am J Dent.* 2001 Aug;14(4):211-5.

Hirayama A, Yamada M, Miake K. An electron microscopy study on dentinal tubules of human deciduous teeth. *Shikwa Gakuho.* 1986 Jun; 86(6):1021-31.

Hirayama A. Experimental analytical electron microscopy studies on the quantitative analysis of elemental concentrations in biological thin specimens and its application to dental science. *Shikwa Gakuho.* 1990 Aug;90(8):1019-36.

Kim GE, Leme-Kraus AA, Phansalkar R, Viana G, Wu C, Chen SN, Pauli GF, Bedran-Russo A. Effect of Bioactive Primers on Bacterial-Induced Secondary Caries at the Tooth-Resin Interface. *Oper Dent.* 2017 Mar/Apr;42(2):196-202.

Koutsis V, Noonan RG, Horner JA, Simpson MD, Matthews WG, Pashley DH. The effect of dentin depth on the permeability and ultrastructure of primary molars. *Pediatr Dent.* 1994 Jan-Feb;16(1):29-35.

Leme AA, Vidal CM, Hassan LS, Bedran-Russo AK. Potential role of surface wettability on the long-term stability of dentin bonds after surface biomodification. *J Biomech.* 2015 Jul; 48(10).

Lenzi TL, Mendes FM, Rocha Rde O, Raggio DP. Effect of shortening the etching time on bonding to sound and caries-affected dentin of primary teeth. *Pediatr Dent.* 2013 Sep-Oct;35(5):E129-33.

Lenzi TL, Soares FZ, Tedesco TK, de Oliveira Rocha R. Is It Possible to induce Artificial Caries-affected Dentin using the Same Protocol to Primary and Permanent Teeth. *J Contemp Dent Pract.* 2015 Aug; 16(8):638-42.

Lenzi TL, Pires CW, Soares FZM, Raggio DP, Ardenghi TM, de Oliveira Rocha R. Performance of Universal Adhesive in Primary Molars After Selective Removal of Carious Tissue: An 18-Month Randomized Clinical Trial. *Pediatr Dent.* 2017 Sep 15;39(5):371-376.

Liu Y, Tjäderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Li N, Mao J, Pashley DH, Tay FR. Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. *J Dent Res.* 2011 Aug;90(8):953-68.

Ma DH, Lai JY, Cheng HY, Tsai CC, Yeh LK. Carbodiimide cross-linked amniotic membranes for cultivation of limbal epithelial cells. *Biomaterials.* 2010 Sep;31(25):6647-58.

Macedo GV, Yamauchi M, Bedran-Russo AK. Effects of chemical cross-linkers on caries-affected dentin bonding. *J Dent Res.* 2009 Dec;88(12):1096-100.

Marquezan M, Corrêa FN, Sanabe ME, Rodrigues Filho LE, Hebling J, Guedes-Pinto AC, Mendes FM. Artificial methods of dentine caries induction: A hardness and morphological comparative study. *Arch Oral Biol.* 2009 Dec;54(12):1111-7.

- Marquezan M, Osorio R, Ciamponi AL, Toledano M. Resistance to degradation of bonded restorations to simulated caries-affected primary dentin. *Am J Dent.* 2010 Feb;23(1):47-52.
- Mazzoni A, Angeloni V, Apolonio FM, Scotti N, Tjäderhane L, Tezvergil-Mutluay A, Di Lenarda R, Tay FR, Pashley DH, Breschi L. Effect of carbodiimide (EDC) on the bond stability of etch-and-rinse adhesive systems. *Dent Mater.* 2013 Oct; 29(10):1040-7.
- Mazzoni A, Apolonio FM, Saboia VP, Santi S, Angeloni V, Checchi V, Curci R, Di Lenarda R, Tay FR, Pashley DH, Breschi L. Carbodiimide inactivation of MMPs and effect on dentin bonding. *J Dent Res.* 2014 Mar;93(3):263-8.
- Mazzoni A, Angeloni V, Sartori N, Duarte S Jr, Maravic T, Tjäderhane L, Pashley DH, Tay FR, Breschi L. Substantivity of Carbodiimide Inhibition on Dentinal Enzyme Activity over Time. *J Dent Res.* 2017 Jul;96(8):902-908.
- Mazzoni A, Angeloni V, Comba A, Maravic T, Cadenaro M, Tezvergil-Mutluay A, Pashley DH, Tay FR, Breschi L. Cross-linking effect on dentin bond strength and MMPs activity. *Dent Mater.* 2018 Feb;34(2):288-295.
- Memarpour M, Shafiei F, Razmjouei F, Soltani M. Shear bond strength and scanning electron microscopy characteristics of universal adhesive in primary tooth dentin: An in vitro study. *Dent Res J (Isfahan).* 2018 Jul-Aug;15(4):264-270.
- Mena-Serrano A, Kose C, De Paula EA, Tay LY, Reis A, Loguercio AD, Perdigão J. A new universal simplified adhesive: 6-month clinical evaluation. *J Esthet Restor Dent.* 2013 Feb;25(1):55-69.
- Nakajima M, Sano H, Burrow MF, Tagami J, Yoshiyama M, Ebisu S, Ciucchi B, Russell CM, Pashley DH. Tensile bond strength and SEM evaluation of caries-affected dentin using dentin adhesives. *J Dent Res.* 1995 Oct;74(10):1679-88.
- Muñoz MA, Luque I, Hass V, Reis A, Loguercio AD, Bombarda NH. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. *J Esthet Restor Dent.* 2013 Feb;25(1):55-69.
- Muñoz MA, Luque-Martinez I, Malaquias P, Hass V, Reis A, Campanha NH, Loguercio AD. In vitro longevity of bonding properties of universal adhesives to dentin. *Oper Dent.* 2015 May-Jun;40(3):282-92.
- Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent.* 1997 Sep;25(5):355-72.
- Perdigao J, Sezinando A, Monteiro PC. Laboratory bonding ability of a multi-purpose dentin adhesive. *Am J Dent.* 2012 Jun;25(3):153-8.
- Scheffel DL, Hebling J, Scheffel RH, Agee KA, Cadenaro M, Turco G, Breschi L, Mazzoni A, Costa CA, Pashley DH. Stabilization of dentin matrix after cross-linking treatments, in vitro. *Dent Mater.* 2014a Feb;30(2):227-33.
- Scheffel DL, Hebling J, Scheffel RH, Agee K, Turco G, de Souza Costa CA, Pashley D. Inactivation of matrix-bound matrix metalloproteinases by cross-linking agents in acid-etched dentin. *Oper Dent.* 2014b Mar-Apr;39(2):152-8.

Scheffel DL, Delgado CC, Soares DG, Basso FG, de Souza Costa CA, Pashley DH, Hebling J. Increased Durability of Resin-Dentin Bonds Following Cross-Linking Treatment. *Oper Dent*. 2015a Sep-Oct;40(5):533-9.

Scheffel DL, Bianchi L, Soares DG, Basso FG, Sabatini C, de Souza Costa CA, Pashley DH, Hebling J. Transdental cytotoxicity of carbodiimide (EDC) and glutaraldehyde on odontoblast-like cells. *Oper Dent*. 2015b Jan-Feb;40(1):44-54.

Schilke R, Lisson JA, Bauss O, Geurtsen W. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. *Arch Oral Biol*. 2000 May;45(5):355-61.

Schwendicke F, Frencken JE, Bjørndal L, Maltz M, Manton DJ, Ricketts D, Van Landuyt K, Banerjee A, Campus G, Doméjean S, Fontana M, Leal S, Lo E, Machiulskiene V, Schulte A, Splieth C, Zandona AF, Innes NP. Managing carious lesions: Consensus recommendations on carious tissue removal. *Adv Dent Res*. 2016 May; 28(2):58-67.

Schwendicke F. Contemporary concepts in carious tissue removal: A view. *J Esthet Restor Dent*. 2017 Nov;29(6):403-408.

Senawongse P, Harnirattisai C, Shimada Y, Tagami J. Effective bond strength of current adhesive systems on deciduous and permanent dentin. *Oper Dent*. 2004 Mar-Apr;29(2):196-202.

Singh S, Nagpal R, Tyagi SP, Manuja N. Effect of EDTA Conditioning and Carbodiimide Pretreatment on the Bonding Performance of All-in-One Self-Etch Adhesives. *Int J Dent* [Internet]. 2015 Oct [citado 05 de jun.2019]; 2015:141890. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4629033/>

Singh P, Nagpal R, Singh UP, Manuja N. Effect of carbodiimide on the structural stability of resin/dentin interface. *J Conserv Dent*. 2016 Nov-Dec;19(6):501-509.

Singh P, Nagpal R, Singh UP. Effect of dentin biomodifiers on the immediate and long-term bond strengths of a simplified etch and rinse adhesive to dentin. *Restor Dent Endod*. 2017; *Restor Dent Endod*. 2017 Aug;42(3):188-199.

Sumikawa DA, Marshall GW, Gee L, Marshall SJ. Microstructure of primary tooth dentin. *Pediatr Dent*. 1999 Nov-Dec;21(7):439-44.

Tezvergil-Mutluay A, Mutluay MM, Agee KA, Seseogullari-Dirihan R, Hoshika T, Cadenaro M, Breschi L, Vallittu P, Tay FR, Pashley DH. Carbodiimide cross-linking inactivates soluble and matrix-bound MMPs, in vitro. *J Dent Res*. 2012 Feb;91(2):192-6.

Thanaratikul B, Santiwong B, Harnirattisai C. Self-etch or etch-and-rinse mode did not affect the microshear bond strength of a universal adhesive to primary dentin. *Dent Mater J*. 2016 Mar;35(2):174-9.

Tjäderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, Geraldini S, Tezvergil-Mutluay A, Carrilho MR, Carvalho RM, Tay FR, Pashley DH. Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. *Dent Mater*. 2013 Jan; 29(1):116-35.

Tomihata, K., Ikada, Y. Cross-linking of gelatin with carbodiimides. *Tissue Eng.* 1996 Winter;2(4):307-13.

Torres CP, Chinelatti MA, Gomes-Silva JM, Borsatto MC, Palma-Dibb RG. Tensile bond strength to primary dentin after different etching times. *J Dent Child (Chic)*. 2007 May-Aug;74(2):113-7.

Torii Y, Itou K, Nishitani Y, Ishikawa K, Suzuki K. Effect of phosphoric acid etching prior to self-etching primer application on adhesion of resin composite to enamel and dentin. *Am J Dent*. 2002 Oct;15(5):305-8.

Van Landuyt KL, Peumans M, De Munck J, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Extension of a one-step self-etch adhesive into a multi-step adhesive. *Dent Mater*. 2006 Jun;22(6):533-44.

Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent*. 2003 May-Jun;28(3):215-35.

Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, De Munck J. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater*. 2010 Feb;26(2):e100-21.

Zeeman R, Dijkstra PJ, van Wachem PB, van Luyn MJ, Hendriks M, Cahalan PT, Feijen J. Successive epoxy and carbodiimide cross-linking of dermal sheep collagen. *Biomaterials*. 1999 May;20(10):921-31.





*Aneco*

---





**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO**

Comitê de Ética em Pesquisa

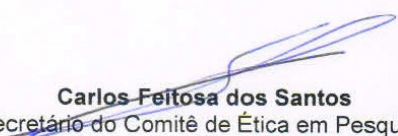
Atest.CEP 001/2019

**ATESTADO**

Atestamos, de acordo com os registros desta Secretaria, que o Protocolo CAAE nº **74699117.8.0000.5419** sobre a pesquisa intitulada “Efeito da Carbodiimida na resistência de união e morfologia da interface adesiva de dentes decíduos afetados por cárie”, sob a responsabilidade de Bruna Maria Moreira, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, em 04/10/2017.

We hereby certify, in accordance with the existing settlements of this Office, that the Protocolo CAAE nº **74699117.8.0000.5419** about the research entitled “Effect of Carbodiimide on the bond strength and morphology of the adhesive interface of deciduous teeth affected by caries”, under responsibility of Bruna Maria Moreira, was approved by the Research Ethics Committee of the School of Dentistry of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Brazil, in 04/10/2017.

Ribeirão Preto, 03 de junho de 2019.

  
**Carlos Feitosa dos Santos**  
Secretário do Comitê de Ética em Pesquisa  
FORP/USP