

4.02.09.00-8 Materiais odontológicos.

## ANÁLISE DO GRAU DE CONVERSÃO DE UM ADESIVO DENTINÁRIO MODIFICADO COM RESVERATROL.

Matheus Corrêa da Silva<sup>1</sup>, Eryck Canabarra Ávila<sup>1</sup>, Marcos Paulo Santana de Oliveira<sup>1</sup>, Ticiano Gomes do Nascimento<sup>2</sup>, Isabel Cristina Celerino Moraes Porto<sup>3</sup>

1. Estudante da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Alagoas (FOUFAL-UFAL)
2. Professor e Pesquisador ESENFAR-UFAL
3. Professora e Pesquisadora da Faculdade de Odontologia da UFAL / Orientadora

### Resumo

Esse estudo teve por objetivo avaliar o grau de conversão de um adesivo dentinário modificado pela adição de resveratrol. Para tal 25µL de solução etanólica de resveratrol foi incorporada ao adesivo dentinário Single Bond 2 (3M ESPE, St. PAUL, MN, USA), para se obter um adesivo modificado com resveratrol nas concentrações de 20µL/ml, 250µL/ml e 500µL/ml. O adesivo puro foi usado como grupo controle. Foram analisados o grau de conversão em espectroscopia no infravermelho (FTIR) dos adesivos modificados, adesivo + 25µL de etanol puro (branco) e adesivo puro (controle). A atividade antioxidante do resveratrol foi analisada pelo método DPPH. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância um fator ( $\alpha=0,05$ ). Não houve diferença estatística significativa entre os valores (%) do grau de conversão dos adesivos modificados e controle, exceto no grupo do adesivo com 20µL/ml de resveratrol, que apresentou redução significativa no grau de conversão quando comparado com os demais grupos. O resveratrol mostrou atividade antioxidante variando entre 61,75 % e 70,51% em concentrações menores do que as usadas nessa pesquisa. Dentro dos limites desse estudo, foi possível concluir que o resveratrol tem boa atividade antioxidante e sua incorporação, nas concentrações de 250µg/mL e 500µg/mL, a um sistema adesivo convencional de dois passos não alterou o grau de conversão do adesivo.

**Palavras-chave:** Flavonoides; Biomateriais; Metaloproteinases da matriz.

**Apoio financeiro:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

**Trabalho selecionado para a JNIC:** UFAL.

### Introdução

Em Odontologia, a adesão acontece por meio da união entre dentina e material restaurador. Essa união é reduzida ao longo do tempo, devido à degradação hidrolítica do material resinoso e à degradação enzimática do colágeno da dentina (PORTO, 2018). Dois processos fundamentais estão envolvidos na adesão à dentina: a remoção da fase mineral da dentina sem alteração da matriz de colágeno, e o preenchimento dos espaços deixados pelo mineral com monômeros resinosos que polimerizam *in situ* e formam uma camada mista chamada camada híbrida. A camada híbrida ideal seria formada por ligações contínuas e estáveis entre o adesivo resinoso e o substrato dentinário. No entanto essa ligação estável a longo prazo ainda não é alcançada (YANG, 2004).

A degradação da camada híbrida é a principal causa da limitada durabilidade a longo prazo das restaurações de resina composta e é resultado da degradação hidrolítica da resina adesiva e da proteólise das fibras de colágeno (LIU, 2011). A utilização de inibidores de metaloproteinases tem sido aceita como uma estratégia efetiva para aumentar a durabilidade da interface adesiva (LOGUERCIO, 2009). Alguns produtos naturais, como o resveratrol, devido a seu alto potencial antioxidante, pode desempenhar um papel importante na proteção das fibras de colágeno desprotegidas dentro da camada híbrida. Estudos anteriores mostraram que o resveratrol significativamente reduz a expressão da metaloproteinase 9 (MMP9), presente no colágeno dentinário (PERCHYONOK, 2013).

Embora o resveratrol tenha apresentado potencial de citotoxicidade em concentrações elevadas (LATRONICO, 2013), em baixas concentrações a citotoxicidade foi significativamente atenuada e mostrou atividade genoprotetora, reduzindo o dano no DNA induzido por adesivos dentinários (ATALAYIN, 2015). Esse trabalho teve como objetivo produzir e analisar o grau de conversão de um sistema adesivo dentinário funcional modificado com resveratrol que atue na prevenção da atividade colagenolítica na dentina após a confecção de restaurações adesivas.

### Metodologia

*Trans*-resveratrol (3,5,4'-trihydroxy-*trans*-stilbeno) foi incorporado ao adesivo dentinário Single Bond 2 (3M ESPE, St. PAUL, MN, USA) para se obter adesivos dentinários modificados contendo resveratrol nas concentrações 20µg/mL, 250µg/mL e 500µg/mL. Para isso, uma solução mãe foi preparada adicionando-se 50 mg de resveratrol a 1mL de etanol, que foi levada ao ultrassom (UltraCleaner 700, Unique) durante 1 minuto para completa solubilização. A partir da solução mãe foi preparada a solução 1 (0,5%), a solução 2 (0,25%) e a

solução 3 (0,02%) de etanol/resveratrol. Os adesivos com 500µg/mL, 250µg/mL e 20µg/mL de resveratrol foram preparados adicionando-se, respectivamente, 25µL da solução 1, 2 ou 3 à 240 mg de adesivo. Para testar o efeito do solvente isoladamente, 25µL de etanol puro foi adicionado à 240 mg de adesivo (branco). Todas as amostras foram mantidas em tubos protegidos de luz, em temperatura ambiente (23° C) até a análise em espectroscopia no infravermelho com transformadas de Fourier (FTIR).

Foram obtidos espectros FTIR (n=5) de amostras polimerizadas e não polimerizadas do adesivo modificado com resveratrol nas concentrações 500µg/mL, 250µg/mL e 20 µg/mL, branco e adesivo puro (controle), totalizando 50 espectros em espectroscopia no infravermelho com transformadas de Fourier - FTIR (IRAFFINITY-1 SERIAL N° A213749, SHIMADZU). Para confecção das amostras polimerizadas foram colocados 25µL de cada adesivo modificado, branco e controle, sobre uma película de poliéster, esperou-se 30 segundos para evaporação do solvente e a seguir o adesivo foi polimerizado por 20 segundos (LED Emitter A; Schuster Com Equip Odontológicos Ltda, RS, Brazil; 1250 mW/cm<sup>2</sup>). Espectros em FTIR foram obtidos 24 horas após a polimerização. As amostras de adesivo não polimerizado (25µL) foram depositadas diretamente no porta-amostras com auxílio de uma pipeta.

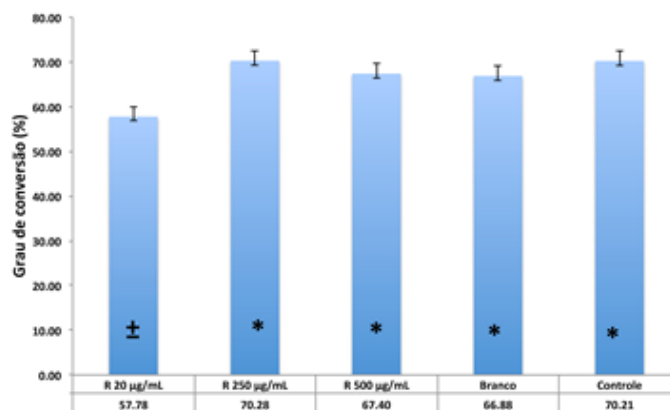
Os espectros foram coletados na região entre 4000 a 700 cm<sup>-1</sup>, com 128 varreduras e resolução de 4 cm<sup>-1</sup> no modo refletância total atenuada (ATR). Para análise dos espectros dos adesivos, foi considerado o intervalo de 1555 a 1660 cm<sup>-1</sup>, para observações da absorbância em 1608 e 1638 cm<sup>-1</sup> que sinalizam, respectivamente, as ligações vinílicas aromáticas e alifáticas do grupamento funcional metacrilato. A técnica consistiu em coletar a radiação refletida a partir da interface entre a solução e o cristal (ATR), mostrando a redução das ligações duplas de carbono (C=C) na faixa de intensidade de 1638 cm<sup>-1</sup>, característica do grau de conversão das resinas a base de metacrilato. O valor do grau de conversão (GC) foi obtido aplicando-se equação: *Grau de conversão (%) = 100 [1 - R (polimerizada) / R (não polimerizada)]*, onde, para as resinas de metacrilato, R é a razão entre a altura do pico da dupla ligação carbono-carbono alifático (C=C) 1640 cm<sup>-1</sup>, e a altura do pico da dupla ligação (C=C) do grupo benzeno aromático a 1610 cm<sup>-1</sup>, cuja intensidade não se modifica durante a polimerização. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com um fator seguido do teste de Tukey para comparações pareadas. Os testes foram realizados com auxílio do software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), versão 21. A margem de erro utilizada nas decisões dos testes estatísticos foi de 5%.

A atividade antioxidante do resveratrol foi analisada pelo método do radical 2,2- difenil-1-picrilidrazila (DPPH).

## Resultados e Discussão

Os dados mostraram que os valores médios do grau de conversão mantiveram-se próximos nos grupos controle, branco (adesivo com diluente), resveratrol 250 µL/mL e 500 µL/mL, sem diferença significativa (p= 0,750). A incorporação de resveratrol 20 µL/mL reduziu significativamente o grau de conversão (p<0,05) comparando-se aos demais grupos testados (Gráfico 1).

**Gráfico 1 – Médias do grau de conversão (%)**



Para que se obtenha adequadas propriedades físico-químicas adequadas de materiais adesivos, é necessário que haja um alto grau de conversão (GC) dos monômeros em polímeros. De acordo com Collares et. al 2014, um alto grau de conversão da dupla ligação carbono-carbono de resinas à base de metacrilato produz propriedades mecânicas favoráveis e reduz da degradação do polímero, com isso aumentando o sucesso dos procedimentos restauradores adesivos.

Ribeiro e cols. (2014) mostraram que o GC do adesivo comercial Single Bond 2 foi de 83,3%. Esse estudo avaliou o GC pelo método FTIR, que variou de 57,78% a 66,88% em função da concentração de resveratrol em

cada adesivo modificado, enquanto que, o grupo controle manteve-se dentro dos limites da literatura. Apenas o grupo do adesivo com resveratrol na concentração de 20 µg/mL apresentou grau de conversão significativamente mais baixo quando comparado com o grupo controle. Segundo Voltarelli 2010, as variáveis fonte de luz, distância e tempo de exposição são capazes de influenciar os valores de GC, o que pode explicar as diferenças entre os resultados obtidos nessa pesquisa e aqueles publicados em estudos anteriores .

Para encontrar a porcentagem de atividade antioxidante foi usada a seguinte fórmula:

$$\text{Atividade Antioxidante (\%)} = [(A(\text{controle}) - A(\text{amostra})) / A(\text{controle})] \times 100$$

Em que: A<sub>(controle)</sub> = absorvância da solução de DPPH sem a amostra; A<sub>(amostra)</sub> = absorvância da amostra com o DPPH.

Quanto maior o consumo de DPPH pela amostra, maior é sua atividade antioxidante. Sendo assim, quanto maior a concentração da amostra, menor será sua absorvância e conseqüentemente maior foi o consumo de DPPH (Tabela 1). O resveratrol apresentou um perfil de atividade antioxidante variando de 61,75 % a 70,51% em concentrações inferiores às utilizadas nos adesivos modificados.

**Tabela 1** - Atividade antioxidante (AAO%) do resveratrol

Concentração	Atividade Antioxidante (%)
10 µg/mL	70,51%
1 µg/mL	62,53%
0,5 µg/mL	62,04%
0,05 µg/mL	61,75%

Sob condições fisiológicas, MMPs são secretadas por odontoblastos durante a dentinogênese e permanecem aprisionadas dentro da matriz extracelular da dentina na forma inativa após a mineralização da matriz (Almahdy et al., 2012; Niu et al., 2014). Por outro lado, as MMPs exercem um importante papel no processo de degradação da camada híbrida, levando à perda da resistência de união da resina à dentina, e tem sido um problema que influencia diretamente a longevidade das restaurações adesivas (Favetti et al., 2017).

Acredita-se que os antioxidantes, moléculas com capacidade de eliminação de radicais, exerçam um efeito protetor contra danos causados pelos radicais livres, e assim, a adição de uma substância antioxidante ao sistema adesivo pode agir como moderador da ação de radicais livres resultantes da degradação polimérica e proteica e proteger o colágeno da dentina

Alguns estudos *in vitro* demonstraram que a atividade antioxidante dos flavonóides é maior que a das vitaminas C e E (Neves et al, 2009), que já foram usadas para inibir MMPs na dentina. Os polifenóis e em particular os flavonóides possuem estrutura ideal para o sequestro de radicais, sendo antioxidantes mais efetivos que as vitaminas C e E. A atividade antioxidante dos flavonóides depende da sua estrutura e pode ser determinada pelos seguintes fatores: reatividade como agente doador de H e elétrons, estabilidade do radical flavanol formado; reatividade frente a outros antioxidantes, capacidade de quelar metais de transição e solubilidade e interação com as membranas (Barreiros et al, 2006).

## Conclusões

Dentro dos limites desse estudo, foi possível concluir que o resveratrol tem boa atividade antioxidante e sua incorporação, nas concentrações de 250µg/mL e 500µg/mL, a um sistema adesivo convencional de dois passos não alterou o grau de conversão do adesivo.

## Referências bibliográficas

- ALMAHDY, A. et al. Effects of MMP inhibitors incorporated within dental adhesives. *Journal of Dental Research*, v. 91, n. 6, p. 605-611, 2012.
- ATALAYIN C, ARMAGAN G, KONYALIOGLU S, KEMALOGU H, TEZEL H, ERGUCU Z, KESER A, DAGCI T, ONAL B. The protective effect of resveratrol against dentin bonding agents induced cytotoxicity. *Dent Mater J* 2015; 34: 766–773.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M.. Estresse Oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e a defesa do organismo. *Química nova* v. 29, p. 113-123, 2006.
- COLLARES FM, PORTELA FF, LEITUNE VCB, SAMUEL SMW. Discrepancies in degree of conversion measurements by FTIR. *Braz Oral Res.*,2014; 28(1): 1-7.
- FAVETTI, MORGANA et al. Effectiveness of pre-treatment with chlorhexidine in restoration retention: A 36-month follow-up randomized clinical trial. *Journal of Dentistry*, 2017.
- LATRONICO T, BRANA MT, MERRA E, FASANO A, DI BARI G, CASALINO E, LIUZZI GM. Impact of manganese neurotoxicity on MMP-9 production and superoxide dismutase activity in rat primary astrocytes. Effect of resveratrol and therapeutical implications for the treatment of CNS diseases. *Toxicol Sci* 2013; 135: 218–228.
- LOGUERCIO AD, STANISLAWCZUK R, POLLI LG, COSTA JA, MICHEL MD, REIS A. Influence of chlorhexidine digluconate concentration and application time on resin- dentin bond strength durability. *Eur J Oral Sci.* 2009; 117: 587-596.
- 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; 90: 953-968.
- NEVES LC, ALENCAR SM, CARPES ST. Determination of antioxidant activity, total phenolic compounds and total flavonoids of samples of apicultural pollen from *Apis mellifera*. *J. Food Technol.*, 2(15), 2009.
- NIU, LI-NA et al. Biomimetic remineralization of dentin. *Dental Materials*, v. 30, n. 1, p. 77-96, 2014.
- PERCHYONOK VT, GROBLER S, ZHANG S, OLIVIER A, OBERHOLZER T. Insights into chitosan hydrogels on dentine bond strength and cytotoxicity. *Open J Stomatol* 2013; 3: 75–82.
- PORTO, Isabel CCM et al. Use of polyphenols as a strategy to prevent bond degradation in the dentin–resin interface. *European journal of oral sciences*, v. 126, n. 2, p. 146-158, 2018.
- RIBEIRO WC. Avaliação do grau de conversão variando o tempo de volatilização dos solventes em sistemas adesivos resinosos. Minas Gerais: Uberaba; 2014.
- VOLTARELLI, Fernanda Regina et al. Influência do tipo de fonte de luz, tempo e distância de fotoativação sobre o grau de conversão de diferentes sistemas adesivos. 2010.
- WANG Y, SPENCER P. Overestimating hybrid layer quality in polished adhesive/dentine interfaces. *J Biomed Mater Res.* 2004; 68A: 735-746.