



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

LETÍCIA DA SILVA SOARES GOMES

**INFLUÊNCIA DA EMULSÃO À BASE DE ÓLEO DE *Copaifera multijuga* Hayne NA ESTABILIDADE DA MATRIZ DENTINÁRIA**

Manaus - AM

2021

LETÍCIA DA SILVA SOARES GOMES

**INFLUÊNCIA DA EMULSÃO À BASE DE ÓLEO DE *Copaifera multijuga* Hayne NA ESTABILIDADE DA MATRIZ DENTINÁRIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas.

Orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carina Toda

Coorientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nikeila Chacon de Oliveira Conde

Manaus - AM

2021

### Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

G633i Gomes, Leticia da Silva Soares  
Influência da Emulsão à base de óleo de Copaifera multijuga  
Hayne na estabilidade da matriz dentinária / Leticia da Silva Soares  
Gomes . 2021  
72 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Carina Toda  
Coorientadora: Nikeila Chacon de Oliveira Conde  
Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Federal  
do Amazonas.

1. Dentina. 2. Colágeno. 3. Fitoterapia. 4. Copaifera . 5. Adesão. I.  
Toda, Carina. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

LETÍCIA DA SILVA SOARES GOMES

**INFLUÊNCIA DA EMULSÃO À BASE DE ÓLEO DE *Copaifera multijuga* Hayne NA  
ESTABILIDADE DA MATRIZ DENTINÁRIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas.

Manaus, 29 de Outubro de 2021.

**BANCA EXAMINADORA**

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Carina Toda  
Faculdade de Odontologia - UFAM

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simone Assayag Hanan  
Faculdade de Odontologia - UFAM

Prof. Dr. Américo Bortolazzo Correr  
Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP

Com amor e gratidão, aos meus pais Cristina e George.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, com todo o meu coração, por ter provido os meios necessários e me permitir chegar até essa importante etapa da minha vida, mesmo em meio as inúmeras dificuldades no caminho, não me deixou perder a fé nos sonhos d'Ele para mim.

Aos meus queridos pais, Cristina e George. Por todo o suporte para que eu pudesse concretizar mais essa etapa, por me incentivarem todos os dias na dedicação aos estudos, por sempre acreditarem em mim, segurarem na minha mão e estarem ao meu lado em todos os momentos, seja os dias de alegria ou nos dias de choro, quando nada parecia dar certo. Sem vocês eu não teria conseguido.

Aos meus familiares, em especial minha avó Maria Inez, obrigada por todas as orações e torcida por mim. Aos meus amigos, por ouvirem as minhas lamentações, sempre ajudarem no necessário e pelas palavras de incentivo e apoio, em especial ao Keven William, Bianca Vale e Louisimara Alencar.

À minha orientadora Profa. Dra. Carina Toda, pelo auxílio, orientação e paciência durante esses anos de mestrado. A Profa. Dra. Nikeila Conde, pela coorientação, apoio e oportunidades. A Profa. Dra. Maria Fulgência Costa Lima Bandeira, pela disponibilidade, confiança e grandes considerações para a melhoria do projeto. Vocês são grandes exemplos para mim, obrigada por todos os ensinamentos durante o período em que estivemos juntas.

À doutoranda, Profa. Msc. Geisy Rebouças, fica a minha enorme gratidão por não medir esforços para me auxiliar e me apoiar durante toda a realização dessa pesquisa, pela paciência, aprendizado, dedicação, por me incentivar a pensar como pesquisadora, por tirar as minhas dúvidas e acreditar nas minhas ideias, muito obrigada.

Aos muitos amigos dentistas, que colaboraram com a coleta de dentes para o Biorrepositório: Dra. Yasmim Tupinambá, Dr. Elton, Dra. Beatriz Ribeiro, Dra. Ariane Amaro, Dra. Rafaela Gomes, Dra. Gabriela (UFC). Em especial a Wanderleia, uma grande amiga que o mestrado me deu, obrigada por dividir esses anos comigo e pelo apoio nos altos e baixos dessa trajetória.

À Profa. Dra. Vanara Passos pela disposição, gentileza e auxílio durante a realização do projeto no Laboratório Multidisciplinar em Pesquisa Odontológica (LAMPO) da Universidade Federal do Ceará. Em especial, a mestrande Ana Laura Mota e aos técnicos Karine Barros e Manoel Florindo, pelo acolhimento, grande apoio e auxílio durante a fase de execução dos testes, fica aqui a minha eterna gratidão.

À coordenação e professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da

Universidade Federal do Amazonas, em especial, as professoras que pude trabalhar no estágio docente Flávia Cohen, Cláudia Andreia, Tânia Cristina (*in memoriam*), por todo os conhecimentos compartilhados. A todos os acadêmicos, mestrandos, doutorandos, pós-doutorandos do LABFITO -UFAM pelas experiências e momentos compartilhados.

Ao Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo a Pesquisa no Amazonas (FAPEAM), pelo apoio e financiamento deste projeto.

*“Consagre ao Senhor tudo o que  
você faz, e os seus planos serão bem  
sucedidos”. (Provérbios 16:3)*



## RESUMO

Buscando proporcionar melhorias na formação da camada híbrida e na adesão dentinária, estudos têm demonstrado que uma emulsão à base do óleo de *Copaifera multijuga* Hayne pode melhorar a formação da camada híbrida e ser eficaz na remoção dos detritos, além de possuir atividade antiproteolítica, resultando em um agente biomodificador da adesão dentinária. Este trabalho teve como objetivo analisar a resposta elástica da dentina frente à biomodificação da matriz orgânica com a utilização da emulsão à base de óleo de Copaíba. Terceiros molares humanos hígidos extraídos, foram utilizados para o preparo dos espécimes seguindo as dimensões 0,5mm x 1,7 mm x 7 mm, totalizando = 90 amostras. Estes espécimes foram imersos em solução de ácido fosfórico 10% por um período de 5 horas, sob agitação constante e posteriormente radiografados para avaliar se houve desmineralização completa da dentina. As amostras foram testadas sem nenhum tratamento (*baseline*), posteriormente, foram imersas em suas respectivas soluções de acordo com os grupos: GC1 (água destilada); GEC (Emulsão à base de óleo de Copaíba); GCLX (Digluconato de Clorexidina 2%) para diferentes avaliações de tempo de imersão (30 e 60 minutos). O módulo de elasticidade (ME) foi avaliado imediatamente após a biomodificação e em 3, 7 e 14 dias após o tratamento. As amostras foram armazenadas em saliva artificial a 37° C, durante o período entre as avaliações. Os espécimes foram testados em flexão de 3 pontos com célula de carga de 5 N montada em uma máquina de teste universal na velocidade de 0,5 mm /min, os valores foram expressos em megapascal (MPa). O pressuposto da distribuição normal da variável foi avaliado pelo teste de Shapiro-Wilk ( $p < 0,05$ ). Os dados foram submetidos a análise estatística usando teste paramétrico de ANOVA três fatores mista para amostras independentes e dependentes. Para identificar quais os pares de médias diferiram entre si, para a interação entre os fatores e para os momentos avaliados, procedeu-se a comparação múltipla de médias com correção de Bonferroni com o software PAWS Statics (v. 21, SPSS Inc, Chicado, IL). Todos os grupos apresentaram uma diminuição no módulo de elasticidade ao longo do tempo. Os corpos de prova imersos na solução de EC 10% apresentaram os maiores valores após 3 e 7 dias, sendo estatisticamente significante, quando comparado com após a biomodificação e 14 dias e entre as soluções de Água Destilada e Digluconato de Clorexidina 2 % no mesmo período (3 e 7 dias). Concluiu-se que o tratamento do colágeno com todas as substâncias-teste em 30 e 60 min de imersão, reduziu imediatamente o ME, no entanto o grupo EC foi o que apresentou maiores valores das médias ME promovendo maior estabilidade ao longo de 14 dias de armazenamento.

**Palavras-chave:** Dentina. Colágeno. Fitoterapia. Copaifera. Adesão. Clorexidina.

## ABSTRACT

Seeking to provide improvements in the formation of the hybrid layer and dentin adhesion, basic studies that an emulsion based on *Copaifera multijuga* Hayne oil can improve the formation of the hybrid layer and be effective in removing debris, in addition to having antiproteolytic activity, filled in a biomodifying agent for dentin adhesion. This work aimed to analyze the elastic response of dentin to biomodification of the organic matrix with the use of an emulsion based on copaiba oil. Extracted healthy human third molars were used to prepare the specimens, following dimensions 0.5 mm x 1.7 mm x 7 mm, totaling = 90 reais. These specimens were immersed in a 10% phosphoric acid solution for a period of 5 hours, under constant restoring and later radiographed to assess whether there was complete dentin demineralization. The samples were tested without any treatment (baseline), later, they were immersed in their respective solutions according to the groups: GC1 (distilled water); GEC (Copaíba oil-based emulsion); GCLX (Chlorhexidine Digluconate 2%) for different immersion time evaluations (30 and 60 minutes). The modulus of elasticity (ME) was evaluated immediately after biomodification and at 3, 7 and 14 days after treatment. Samples were stored in artificial saliva at 37o C, during the period between assessments. The specimens were tested in 3-point bending with a 5 N load cell mounted on a universal testing machine at a speed of 0.5 mm/min, values were expressed in megapascals (MPa). The assumption of the variable's normal distribution was evaluated by the Shapiro-Wilk test ( $p < 0.05$ ). Data were subjected to statistical analysis using a mixed parametric three-way ANOVA test for independent and dependent samples. To identify which pairs of means differed from each other, for the interaction between the factors and for the moments evaluated, a multiple comparison of means with Bonferroni correction was carried out with the PAWS Statics software (v. 21, SPSS Inc, Chicado, IL). All groups showed a decrease in elastic modulus over time. The specimens immersed in the 10% EC solution showed the highest values after 3 and 7 days, being statistically significant when compared with after the biomodification and 14 days and between the Distilled Water and Chlorhexidine Digluconate 2% solutions in the same period (3 and 7 days). It was concluded that the treatment of collagen with all test substances in 30 and 60 min of immersion, immediately reduced the ME, however the EC group was the one with the highest ME mean values, promoting greater stability over 14 days of storage.

**Keywords:** Dentin. Collagen. Phytotherapy. *Copaifera*. Accession. Chlorhexidine.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema de ensaio de flexão de três pontos .....	23
Figura 2- Fluxograma do desenho de estudo .....	35
Figura 3 - Secção dos dentes em máquina de corte .....	37
Figura 4 - Porção coronária após remoção da porção radicular .....	38
Figura 5 - Abrasão da porção coronária .....	38
Figura 6 - Corpos de prova preparados através do corte .....	38
Figura 7 - Imersão dos corpos de prova em solução de ácido fosfórico 10% .....	39
Figura 8 - Corpos de prova radiografados .....	39
Figura 9 - Representação dos grupos-teste .....	40
Figura 10 - Máquina de teste universal .....	41
Figura 11 - Média e o desvio padrão dos valores de módulo de elasticidade expressos em MPa, para o efeito principal solução .....	46
Figura 12 - Média e desvio padrão dos valores de módulo de elasticidade em MPa, para o efeito principal imersão .....	46
Figura 13 - Média e o desvio padrão dos valores de módulo de elasticidade em MPa para o efeito principal tempo .....	47
Figura 14 - Influência do tratamento com diferentes soluções no módulo de elasticidade em corpos de prova de dentina desmineralizada em diferentes tempos de envelhecimento .....	48
Figura 15 - Influência do tratamento com diferentes soluções no módulo de elasticidade em corpos de prova de dentina desmineralizada em diferentes tempos de envelhecimento .....	49

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 - Grupos experimentais e tempos de imersão.....	40
Tabela 1 - Dados descritivos dos grupos de estudo de acordo com as variáveis tempo, solução e minutos.....	43
Tabela 2 - Teste de ANOVA três fatores mista para avaliação dos fatores de estudo.....	44
Tabela 3 - Comparações múltipla das médias e desvio padrão do módulo de elasticidade em MPa nas três soluções testadas em cada um dos 4 períodos avaliados.....	47
Tabela 4 - Comparações múltipla das médias e desvio padrão da resistência a flexão em relação ao tempo de imersão testadas em cada um dos 4 períodos avaliados .....	48

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

®: Marca Registrada

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AT: Ácido Tânico

C: Celsius

CaOH<sub>2</sub>: Hidróxido de cálcio

CEP: Comitê de Ética em Pesquisa

CLX: Digluconato de Clorexidina

COOH: Ácido Carboxílico

CP: corpo de prova

CTPs: Catepsinas

CV: *Cinnamomum veruns*

D: Deslocamento

DPP: Fosforina dentinária

DSP: Sialoproteína da dentina E: Módulo de Elasticidade

DW: Distilled Water

EC: Emulsão à base de óleo de Copaíba

et al.: e outros (abrev. de “et ali”)

g: gramas

GD: Glutaraldeído

GSE: Extrato de Semente de uva

h: horas

HA: Hidroxiapatita

JEC: Junção Cimento-esmalte

LABFITO: Laboratório de Atividades Fitoterápicas em Odontologia

LCCn: Líquido da casca da castanha de caju natural

LCCt: Líquido da casca da castanha de caju técnico

M: Molar

ME: Módulo de Elasticidade

MEV: Microscópio Eletrônico de Varredura

min: minutos

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

mm: milímetro

MMPs: Metaloproteinases da matriz

MPa: Mega Pascoal

N: Newton

NaOCl: Hipoclorito de sódio

NH<sub>2</sub>: Amina

OMS: Organização Mundial da Saúde

PACs: Proantocinidinas

PM: *Pinus massoniana*

PNPIC: Programa Nacional de Práticas Integrativas e Complementares

RB: Ribose

RDC: Reunião da Diretoria Colegiada

RENISUS: Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS

Rpm: rotações por minuto

SUS: Sistema Único de Saúde

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UFAM: Universidade Federal do Amazonas

UFC: Universidade Federal do Ceará

UHPLC: Cromatografia líquida de ultra eficiência

µl : Microlitros

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>18</b>
2.1 Geral .....	18
2.2 Específicos .....	18
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>19</b>
3.1 Dentina.....	19
3.1.1 Composição dentinária.....	19
3.1.2 Colágeno tipo I .....	20
3.1.3 Módulo de elasticidade da matriz dentinária .....	22
3.2 Fitoterapia e emulsão à base de <i>Copaifera multijuga</i> Hayne .....	30
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>35</b>
4.1 Desenho de Estudo .....	35
4.2 Formulação da emulsão à base de óleo de Copaíba.....	35
4.3 Preparação das amostras .....	36
4.4 Ensaio de estabilidade.....	39
4.4.1 Avaliação das propriedades mecânicas .....	41
4.4.2 Considerações éticas .....	42
4.4.2.1 Critérios de Inclusão .....	42
4.4.2.2 Critérios de Exclusão.....	42
4.4.3 Análise Estatística .....	42
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>44</b>
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>50</b>
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>55</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>56</b>
<b>APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)</b> .....	63
<b>ANEXO 1 - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA (CEP).....</b>	<b>68</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O emprego de restaurações dentárias em resina composta, para reestabelecer a função e forma dos dentes, aumentou de forma considerável com o passar dos anos, pois sua técnica permite a realização de um tratamento minimamente invasivo. Dessa forma, a resina composta é um dos materiais alvo de grandes pesquisas nas duas últimas décadas, devido sua versatilidade, sendo um material de primeira escolha para restaurações dentárias diretas. Para obter sucesso nas restaurações em resina composta se faz necessário ter conhecimento dos materiais adesivos a serem utilizados além da técnica operatória. Visando à melhoria da durabilidade e estabilidade da união resina-dentina, observa-se crescimento no desenvolvimento de estudos relacionados a aplicação de técnicas e uso de materiais que possam proporcionar avanços na qualidade da adesão dentinária (VELO et al., 2016; HEBLING et al., 2005; VIDAL et al., 2016).

O colágeno, constitui grande parte dos tecidos conectivos de nosso corpo, como tendões, vasos sanguíneos, pele, ossos e a dentina. A síntese ocorre a partir do tecido conjuntivo que é secretado para o espaço extracelular, tornando-se parte de uma rede complexa de macromoléculas. Sua aplicabilidade clínica como um biomaterial é utilizada para cosméticos,, tecidos artificiais, recuperação de feridas e queimaduras. E nessas aplicações um colágeno estável é necessário, de forma a desempenhar suas funções inatas (CASTELLAN et al., 2011).

O colágeno tipo I compõe de forma principal a matriz dentinária, e está intimamente relacionado ao processo de união resina-dentina. A camada híbrida, descrita por Nakabayashi em 1982., é formada pela interpenetração dos monômeros que compõem os adesivos e as fibrilas de colágeno desmineralizadas pelo condicionamento ácido, que promovem a adesão do material restaurador pela formação de uma estrutura mista e integrada de colágeno encapsulado por material polimérico, sendo responsável pela retenção micromecânica das restaurações em resina composta. A longevidade clínica dessa camada híbrida depende diretamente da estabilidade das fibrilas colágenas, da qualidade da matriz polimérica que a compõe, e envolve fatores químicos e físicos que influenciam na criação de uma camada compacta e homogênea (BEDRAN-RUSSO et al., 2014; DELGADO et al., 2015).

Na Odontologia restauradora um grande desafio está relacionado à formação de uma



união eficiente entre as estruturas dentais e os compostos resinosos. Em substrato dentinário essa união pode ser prejudicada, quando se utiliza os sistemas adesivos convencionais, pois nessa interface da camada híbrida formada podem ocorrer algumas falhas e mecanismos de degradação a longo prazo devido a alguns fatores como a ação das metaloproteinases da matriz (MMPs), catepsinas (CTPs), bem como o processo de hidrólise relacionado a presença de água em excesso, a ocorrência de infiltração marginal, forças oclusais, mudanças de temperatura, agentes ácidos no fluido dentinário, entre outras interferências que podem desafiar a estabilidade da interface. A infiltração e encapsulamento incompleto das fibras colágenas pelos monômeros resinosos durante a realização da técnica, bem como a degradação do material inerente ao tempo e exposição ao meio bucal, e os fatores químicos e físicos influentes no processo, podem ocasionar a exposição e desorganização das fibras colágenas. É necessário que a rede de fibras colágenas para esta função, apresente condições importantes como estabilidade, maior resistência e insolubilidade (PASHLEY et al., 2011; FRASSETTO et al., 2016; NIU et al., 2014; BRESCHI et al., 2008; BEDRAN-RUSSO et al., 2010).

As metaloproteinases (MMPs) são enzimas cálcio-dependentes e zinco ativadas, que são comuns tanto em ossos como na dentina, podem mediar a desnaturação da matriz extracelular através das colagenase e gelatinases, e se encontram de forma inerte na dentina mineralizada durante o período de odontogênese. Durante os processos adesivos, essas MMPs podem ser expostas e se tornar ativas, podendo causar a degradação proteolítica da camada híbrida. O processo de adesão se dá a partir do encapsulamento do colágeno pelo sistema adesivo, portanto é necessária a inibição dessas enzimas buscando preservar a integridade do colágeno e por conseguinte da interface adesiva. Dos inúmeros inibidores das MMPs, o Digluconato de Clorexidina 2% (CLX) tem sido o mais estudado e amplamente utilizado na clínica odontológica, por suas propriedades antimicrobianas e ação inibidora de degradação enzimática da matriz colagênica da dentina (BRESCHI et al., 2018).

Ligações cruzadas, reticulação polimérica ou cross-links são ligações entre as cadeias laterais de aminoácidos presentes nas moléculas de colágeno. Como resultado dessa reação, as estruturas tendem a perder sua fluidez e tornam-se mais rígidas, aumentando as propriedades mecânicas do colágeno. Quando aplicados junto ao colágeno tipo I, presente em dentina, algumas substâncias com potencial biomodificador tem a capacidade de promover tal reticulação polimérica (BEDRAN-RUSSO et al, 2014).

*A Copaifera multijuga* Hayne é uma espécie comum na Amazônia brasileira, da família

Fabaceae e subfamília Caesalpinioidea cujo óleo constitui o bioativo da Emulsão à base do óleo de copaíba 10% (EC) avaliado neste estudo. Possui propriedades já comprovadas como cicatrizantes, antibacterianas, antifúngicas, antinoceptivas, anti-inflamatórias antiproteolíticas e age como biomodificador da superfície dentinária. (VEIGA JR; PINTO, 2007; LEANDRO et al., 2012, BANDEIRA et al., 2016; TOBOUTI et al., 2017; DE ARAÚJO 2020; ARAÚJO et al., 2021; BANDEIRA et al., 2018).

Considerando os estudos realizados até o momento, sugere-se que as propriedades biológicas da Emulsão de copaíba 10%, possuem vantagem sobre o Digluconato de Clorexidina 2%, por ser um produto natural e com menor citotoxicidade. Acredita-se que esse produto natural possa colaborar para avanços na qualidade da adesão de materiais restauradores à estrutura dentária (ARAÚJO et al., 2021; BANDEIRA et al., 2020).

Considerando tal questão, a análise do módulo de elasticidade da dentina desmineralizada torna-se um método analítico de interesse, uma vez que a rede de fibrilas colágenas desmineralizada é um componente que integra a interface adesiva, em procedimentos onde utiliza-se condicionamento ácido, e sugere-se que o mesmo tenha correlação com a resistência mecânica e estabilidade (CASTELLAN et al., 2010).

Baseado no exposto, a presente pesquisa justifica-se pela necessidade de analisar a capacidade da biomodificação do substrato dentinário de maneira a somar ao estudos atuais os quais concentram-se em novas técnicas e materiais restauradores aprimorados. Este estudo fornece uma contribuição inédita entre os que se propuseram estudar as propriedades relacionadas a emulsão à base de óleo de Copaíba, sendo importante para fomentar uma discussão embasada acerca do tema, suprimindo a ausência de estudos correlacionando a influência da EC no módulo de elasticidade e seu potencial como agente biomodificador da adesão dentinária.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Geral:

- Este trabalho tem como objetivo analisar a resposta elástica da dentina biomodificada com a emulsão à base de óleo de *Copaifera multijuga* Hayne.

### 2.2 Específicos:

- Mensurar o efeito da aplicação da EC 10% no módulo de elasticidade dos espécimes de dentina desmineralizada.
- Avaliar o efeito do tempo de imersão (30 e 60 min) no módulo de elasticidade da dentina biomodificada com a EC 10%.
- Analisar a influência do tempo de envelhecimento no módulo de elasticidade dos espécimes de dentina após biomodificação com a EC 10%.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Dentina

##### 3.1.1 Composição dentinária

O elemento dentário humano é composto por duas estruturas mineralizadas (esmalte e dentina) e uma não mineralizada localizada internamente, a polpa dentária. A dentina constitui a maior parte da estrutura dentária humana, sendo um tecido que em relação ao volume de seus componentes, exibe aproximadamente 70% de material inorgânico, 20% de matriz orgânica (sendo 90% de colágeno e 10% de proteínas não colágenas na matriz) e 10% de água. Este é um tecido conjuntivo mineralizado que reúne algumas características como coloração branco-amarelada, avascular, permeabilidade, elasticidade e sensibilidade (NANCY et al., 2013).

Funcionalmente, a dentina atua como base elástica para o esmalte, compensando sua friabilidade e contribuindo para absorção de cargas às quais o esmalte está exposto e age ainda como proteção para o tecido que constitui a polpa dentária que está na região mais interna. Entre as inúmeras propriedades da dentina, ressalta-se a sua singular permeabilidade, por estruturalmente ser permeada por grande quantidade de túbulos dentinários que formam uma rede complexa, partindo da polpa em direção a junção amelodentinária em sentido radial, atravessando toda a sua extensão. Cada túbulo envolvido por uma bainha hipermineralizada, denominada dentina peritubular. A dentina intertubular ocupa o espaço entre a dentina peritubular, possui grande quantidade de minerais, como a hidroxiapatita; além disso, é composta por fibrilas colágenas, que formam um tipo de malha, dispostas no plano perpendicular ao longo eixo dos túbulos dentinários. Esses túbulos dentinários são preenchidos por fluido dentinário e prolongamentos das células odontoblásticas, que são responsáveis pela formação e, posteriormente, a manutenção da dentina através da secreção de matriz orgânica e regulação da mineralização. A dentina é um tecido sensível e capaz de se reparar, respondendo às agressões através da estimulação dos odontoblastos ou das células da polpa que podem depositar mais ou menos dentina, de acordo com a demanda no decorrer da vida (BERKOVITZ et al., 2009; LI et al., 2015).

A parte inorgânica da matriz dentinária é constituída principalmente por pequenos cristais de Hidroxiapatita (HA) ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_3(\text{OH})_6$ ), dispostos de forma laminar com secções

Transversais, que variam de 3 a 30 nm/50 nm de comprimento. Além de outros componentes como fosfatos, carbonatos, sulfatos e oligoelementos amorfos como: cobre, zinco, ferro, flúor e manganês. Já a parte orgânica é composta pelo que é tido como o suporte mecânico principal da dentina que são as fibras de colágeno tipo I (90%), sintetizadas pelos odontoblastos e compostas por três cadeias polipeptídicas, duas cadeias  $\alpha^1$  e uma cadeia  $\alpha^2$ , entrelaçadas formando uma tripla hélice, medindo em média cerca de 300nm de comprimento e diâmetro das fibras colágenas da dentina varia de 75 a 100 nm constituindo grande suporte estrutural para o depósito dos cristais de HA. Os 10% restante da parte orgânica da matriz dentinária, podem apresentar outros tipos de colágeno, em quantidade menor, além de proteínas exclusivas da dentina como a fosforina dentinária (DPP) e a sialoproteína da dentina (DSP), proteínas semelhantes às do osso como a proteína Gla da dentina, osteonectina e osteopontina, além de proteoglicanos, albumina, fosfolípidos e fatores de crescimento que participam do processo de mineralização (NANCY et al., 2013; PEREIRA et al. 2014).

A composição da dentina em seu aspecto estrutural (túbulos dentinários, dentina peritubular, intertubular e túbulos dentinários) e as características dos túbulos dentinários (densidade, direção e dimensão), podem variar conforme a sua localização na área de dentina investigada, influenciando assim as propriedades mecânicas do elemento dental. Dessa forma, a dentina apresenta uma resposta a tensão-deformação definida como não homogênea e anisotrópica, que possui importância na biomecânica do dente ao ser submetido a forças mastigatórias (PLOTINO et al, 2007; HUO et al., 2005).

### **3.1.2 Colágeno tipo I**

O colágeno é considerado a proteína mais abundante nos vertebrados. Em humanos, o colágeno é responsável por mais de um quarto da massa de proteína seca, estando presente desde o tendão de Aquiles até a córnea. Vários tipos de colágeno compõem os diferentes tecidos conjuntivos do corpo humano. Atualmente, foram identificados vinte e oito tipos diferentes de colágeno, enquanto alguns tipos de colágeno formam fibrilas, outros formam redes e associações de membranas. Estes diferentes tipos de colágeno se combinam entre si em proporções variadas, juntamente com moléculas não colagenosas para formar uma variedade de possíveis andaimes teciduais, incluindo membranas basais, ligamentos, tendões, córneas, pele e vasos sanguíneos (DUTOV et al., 2016).

Cerca de 90% da matriz orgânica na dentina é quase exclusivamente composta de

colágeno tipo I, embora outros tipos de colágeno também tenham sido identificados em pequena quantidade, como colágenos do tipo III e V. Essas proporções variam de acordo com a região do dente e são afetadas por processos fisiológicos, como envelhecimento, e processos patológicos, como cárie dentária (BERTASSONI et al., 2012).

Cada molécula de colágeno tipo I possui uma estrutura em tripla hélice, que é composta por duas cadeias polipeptídicas idênticas, denominadas cadeias  $\alpha^1$ , e uma terceira cadeia ligeiramente diferente, a cadeia  $\alpha^2$ . Além da região helicoidal, existem nas extremidades, regiões não helicoidais de pequeno comprimento que são sequências denominadas peptídeos C-terminal (carboxi-terminal; - COOH) e N-terminal (amino-terminal; NH<sub>2</sub>) (BRESCHI et al., 2018).

A estrutura inerente das moléculas de colágeno é composta por cadeias e em cada cadeia  $\alpha$ , existem sequências de mais de 1000 aminoácidos, entre eles: glicina, lisina, prolina e seus produtos hidroxilados, principalmente hidroxiprolina e hidroxilisina. Os aminoácidos são diisômeros e organizados de forma sequencial, o que permite a formação da estrutura em tripla-hélice. A glicina possui o menor grupo radical e sua repetição ocorre a cada três posições na sequência das cadeias da hélice. Estima-se que 35% são posições de não-glicinas presentes na repetição de unidades Gly- X-Y. A posição X é exclusivamente ocupada pelo aminoácido prolina, e a posição Y é ocupada pela 4-hidroxiprolina. Também possui um aminoácido não-usual chamado hidroxilisina, importante na formação da estrutura, pois bem como a hidroxiprolina, estabilizam e alinham a tripla hélice (BREDAN-RUSSO et al., 2014; SHOULDERS et al., 2009).

A biossíntese de colágeno começa com a transcrição gênica e posterior processamento dos RNA mensageiros pelos ribossomos (onde são fabricadas as cadeias polipeptídicas) no retículo endoplasmático. No lúmen do retículo endoplasmático ocorre a tradução do RNAm em cadeias  $\alpha$  de pró-colágeno, que sofrem sequentes processos de hidroxilação e glicosilação em seus aminoácidos lisina e prolina, formando a tripla hélice. Essa estrutura em tripla hélice é enviada para o complexo de Golgi, onde é secretada para a matriz extracelular e ocorre o processamento e clivagem dos terminais N e C. Ao serem secretadas para o espaço extracelular, as moléculas formadas de tropocolágeno reúnem-se em polímeros de ordem maior como as fibrilas de colágeno. Estas fibrilas agregam-se lateral e longitudinalmente, através do processo de fibrinogênese, dispostas em feixes com vários micrômetros formando as denominadas fibras de colágeno, que são estabilizadas por ligações cruzadas inter- moleculares, intra-moleculares e também por interações iônicas que conferem estabilidade

mecânica e química, resistência a tração e viscoelasticidade das fibrilas de colágeno (ALBERTS et al., 2017; BRESCHI et al., 2018).

Dada sua relevância estrutural e abundância relativamente alta na matriz dentinária, o colágeno exerce funções significativas como esqueleto para deposição de mineral, na resistência à tração, no módulo de elasticidade e nas propriedades bioquímicas da dentina, que dependem da formação de ligações cruzadas (DOS SANTOS et al., 2011).

A ligação resina-dentina depende da infiltração do sistema adesivo na matriz de colágeno da dentina, a qual é exposta através do condicionamento ácido total nos adesivos convencionais ou com os sistemas autocondicionantes. A interface resina-dentina, denominada camada híbrida, cumpre uma função fundamental na retenção micromecânica da restauração (BRESCHI et al., 2018).

### 3.1.3 Módulo de elasticidade da matriz dentinária

Fisicamente, a dentina é um tecido que apresenta propriedade elástica que é fundamental para a biomecânica e funcionamento dos elementos dentais quando submetidos a cargas mastigatórias, por fornecer suporte, flexibilidade e prevenir fraturas no esmalte suprajacente. Na Odontologia, para o desenvolvimento de biomodificadores dentinários, faz-se necessário estudos *in vitro*, relacionados à busca pela melhoria ou manutenção dessas propriedades mecânicas inerentes da matriz dentinária (NANCY et al., 2013; AGUIAR et al., 2014).

A elasticidade é uma propriedade que indica a quantidade de deformação reversível ocorrida quando uma força é aplicada sobre uma estrutura. O conhecimento das propriedades mecânicas é necessário para compreender a absorção e distribuição de cargas que são originadas durante o processo da mastigação; embora os testes *in vitro* possuam limitações em relação à reprodução das condições clínicas, constituem passo inicial para prever e estudar o desempenho clínico dos materiais dentários (YILMAZ et al., 2007; NORONHA, 2019).

O ensaio de flexão é um método de teste onde ocorre a aplicação de uma carga crescente em determinados pontos de uma barra de dimensões retangulares e padronizadas de acordo com o material, podendo estar na condição biapoiada ou encaixada em uma das extremidades. Ocorre a mensuração do valor da carga *versus* a deformação máxima. É um tipo de ensaio que deve ser aplicado para materiais frágeis ou de elevada rigidez. As principais propriedades obtidas através do ensaio de flexão são: módulo de elasticidade (ME), módulo de ruptura em flexão, módulo de resiliência, módulo de tenacidade. São conhecidos

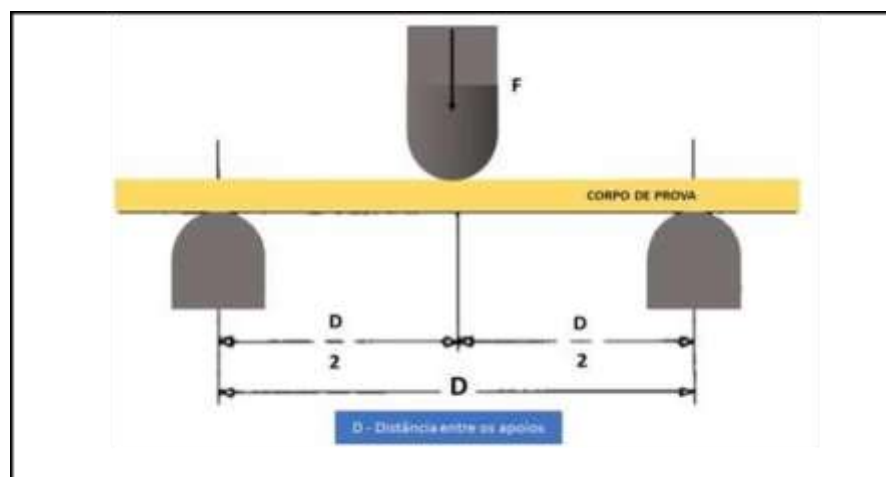
três tipos de ensaios de flexão existentes, sendo os mesmos:

- Ensaio de flexão de três pontos: em que o corpo de prova (CP), em forma de barra, a ser testado é apoiada nas extremidades e a carga é aplicada no centro do comprimento do mesmo.
- Ensaio de flexão em quatro pontos: o cp em forma de barra, a ser testado é biapoiado nas extremidades e a carga é aplicada em dois pontos na região central do comprimento, separadas por uma distância padrão;
- Método de encaixe: consiste em encaixar uma das extremidades e aplicar a carga na ponta oposta do encaixe (GARCIA; SPIM; SANTOS, 2008)

O módulo de elasticidade (ME) define a rigidez ou dureza relativa de um material que é medida da redução da região elástica no diagrama de tensão/deformação, onde parte-se do pressuposto de quanto mais baixa for a deformação para um determinado valor de tensão, maior o valor do módulo de elasticidade obtido. (SABBAGH et al., 2002)

De acordo com Bredan-Russo (2008), o método de flexão de três pontos, é amplamente utilizado para analisar o ME com 3% de deslocamento da matriz orgânica da dentina desmineralizada. Esse método não é destrutivo, pois não produz nenhum tipo de deformação permanente no espécime, e possibilita usar o CP como controle, além de análises múltiplas no mesmo corpo de prova.

A Figura 1 apresenta um esquema do ensaio de flexão de três pontos, que será abordado nessa revisão por ser o tipo de ensaio utilizado neste trabalho. As equações relativas ao cálculo do módulo de elasticidade serão descritas no capítulo metodologia.



**Figura 1.** Esquema de ensaio de flexão de três pontos.



Kinney et al. (2003) relataram que as mensurações do módulo de elasticidade são sensíveis a padrões de preparação do espécime, modelo experimental utilizado e o estresse ao qual é submetido o espécime.

Garcia et al. (2008), ressaltaram que as propriedades obtidas pelos ensaios de flexão de três pontos são similares às obtidas pelos ensaios de tração e compressão, porém com valores diferentes. Além disso, também apresentam variações relacionadas a padronização dos corpos de prova, condições de armazenamento, operação e ambientais.

O ME da interface adesiva pode sofrer influência das propriedades mecânicas do substrato dentinário, sendo o ME da dentina variável conforme sua localização: abaixo de regiões lesadas por cárie, próximo à polpa ou região cervical, o ME da dentina apresenta-se mais baixo que em outras regiões ou de qualidade diferente (HOSOYA; MARSHALL JR 2004).

O processo de biomodificação dentinária é uma estratégia que vem sendo estudada para buscar melhorar as propriedades mecânicas da dentina por meio da formação de ligações cruzadas de colágeno, tornando a rede de colágeno mais estável e resistente a biodegradação devido à redução da hidrofiliabilidade da camada híbrida e inibição de forma inespecífica das enzimas proteolíticas (BEDRAN-RUSSO et al., 2006; AL-AMMAR et al. 2009; TJADERHANE, 2015; SESEOGULLARI-DIRIHAN, et al. 2016). Houve um aumento da densidade de ligações cruzadas de colágeno, tornando a camada híbrida formada mais resistente à degradação enzimática e com maior estabilidade ao longo do tempo, pela melhoria da infiltração de monômeros do adesivo na rede de colágeno biomodificada (BEDRAN-RUSSO et al., 2014; RYOU et al., 2016).

Diversos fatores tornam a adesão à dentina muito complexa, principalmente a sua composição orgânica. A dentina compreende grande parte da estrutura dental e está diretamente relacionada a formação da camada híbrida que cumpre uma função importante na retenção micromecânica de restaurações adesivas. Diversos estudos têm sido realizados objetivando um sistema de união entre resina e dentina eficiente, e principalmente que seja estável ao longo do tempo. O conhecimento de suas propriedades mecânicas é essencial na odontologia clínica, para a compreensão dos efeitos da ampla variedade de procedimentos odontológicos restauradores. As propriedades elásticas da dentina são relevantes em todas as discussões relacionadas a resistência dentária (ALMEIDA et al., 2017; BRESCHI et al., 2018; KINNEY et al., 2003).

As fibras colágenas inerentes a composição orgânica da estrutura dentinária podem

sofrer ação degradativa de enzimas proteolíticas ou processo de hidrólise, que interferem na resistência de união e acabam prejudicando a camada híbrida. (SKUPIEN, 2010). Tendo em vista reduzir os danos causados por essas degradações, propõe-se através da literatura, algumas estratégias para a utilização de compostos químicos de origem sintética ou natural, como agentes de ligações cruzadas ou agentes biomodificadores, que interagem com o colágeno formando ligações entre os aminoácidos, aumentando as propriedades mecânicas e atuam também como inibidores de MMPs e CTPs no substrato dentinário (BEDRAN-RUSSO et al., 2014; VIDAL et al., 2014). De acordo com Araújo (2021) uma emulsão à base do óleo de Copaíba atualmente apresentou eficácia como biomodificador dentinário com capacidade de inibição das MMPs -2 e -9 (ARAÚJO et al., 2021).

A fim de analisar o efeito de soluções de hipoclorito de sódio (NaOCl) (3%, 5%) e solução saturada de hidróxido de cálcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ), na resistência à flexão e ME da dentina, Grigoratos et al. (2001) dividiram 121 barras padronizadas de dentina ( $1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm} \times 11.7 \text{ mm}$ ), em cinco grupos teste e um grupo controle, sendo as barras imersas até o teste, em respectivamente: grupo controle (solução salina); grupo 2 - NaOCl a 3%, por 2 h; grupo 3 - 5% de NaOCl, por 2 h; grupo 4 - solução saturada de ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ), por 1 semana; grupo 5 - NaOCl a 3%, 2 h e depois Solução saturada de Ca ( $\text{OH})_2$  por 1 semana; grupo 6 - NaOCl a 5%, 2 h depois solução saturada de Ca ( $\text{OH})_2$  por 1 semana. O ensaio de flexão de três pontos foi realizado, em máquina de ensaio universal. Cada barra foi posicionada nos suportes da peça de teste, e foi mantida úmida durante o teste com água destilada. Os resultados revelaram uma diminuição significativa do módulo de elasticidade e da resistência à flexão dos corpos de prova tratados com 3% e 5% NaOCl. Já o Saturado de ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) não reduziu o ME, e uso em sequência das duas soluções não apresentou efeito de enfraquecimento adicional.

No trabalho realizado por Bendran-Russo et al. (2008), testou-se o efeito de dois agentes de reticulação de colágeno, o glutaraldeído (GD) e o extrato de semente de uva (GSE) no módulo de elasticidade da dentina desmineralizada. Doze molares humanos hígidos extraídos foram utilizados nesta investigação, foram seccionados em palitos retangulares 0,5 mm de espessura x 1,7mm de largura x 7.0 mm de comprimento, na direção mesio-distal com uma lâmina de diamante de baixa velocidade, sob irrigação constante com água. Os fragmentos foram totalmente desmineralizados e divididos em cinco grupos, de acordo com o tipo e a concentração dos agentes de reticulação: 2,5% GD; 5% GD, 25% GD; 0,65% GSE; 6,5% de GSE. As amostras foram imersas em suas respectivas soluções e testadas em *baseline*, 10 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, através de teste de flexão de três pontos. As vantagens desse teste é que

ele não é destrutivo, portanto, permitiu a realização de medições repetidas. As amostras foram

testadas em compressão enquanto imersas em líquido usando uma máquina de teste universal, com uma célula de carga de 50 g na velocidade de 0,5 mm / min. As curvas de carga-deslocamento foram convertidas em curvas tensão- deformação e o ME foi calculado a 3% de deformação. O deslocamento (D) durante a compressão foi exibido em milímetros e calculado com uma deformação máxima de 3%. O ME foi significativamente afetado pelo tratamento ( $p < 0,01$ ) e tempo de exposição ( $p < 0,01$ ). Houve interação estatisticamente significativa entre os dois fatores avaliados (tratamento versus tempo  $p < 0,01$ ). Os valores médios de *baseline* variaram entre 4,8 e 6,2 MegaPascal (MPa) na água; após 4 h de tratamento, os valores aumentaram entre 34,9 e 242,5MPa, que foram dependentes do tempo de tratamento e do agente. Concluiu-se que o uso desses reticuladores de colágeno para aumentar a rigidez da dentina desmineralizada dependia da concentração e do tempo.

Castellan et al. (2011) demonstraram que o pré tratamento com *cross-linkings* naturais ricos em proantocianidinas (PACs) promove melhoria das propriedades mecânicas e da estabilidade ao longo do tempo, conferindo um substrato mais resistente e duradouro para restaurações adesivas. Quinze terceiros molares hígidos tiveram o terço coronário desgastado e as raízes seccionadas 1mm abaixo da JEC. Os dentes foram cortados e acabados em forma de barras medindo (1,7mm x 7mm x 5mm). Os espécimes foram emergidos em solução contendo ácido fosfórico a 10% por 5h para completa desmineralização e radiografados posteriormente. extratos de proantocianidina obtidos a partir de semente de uva, semente de cacau, *cranberry*,

canela e açaí foram testados na concentração de 6,5% e pH 7,2 sobre dentina desmineralizada. Para o controle negativo foi utilizado solvente puro e etanol-água. As amostras ficaram imersas nas soluções teste e foram testadas nos tempos de 10 min, 30 min, 60 min, 120 min e 240 min, e armazenadas em saliva artificial após as mensurações. As avaliações foram realizadas imediatamente, 3, 6 e 12 meses após os tratamentos, por meio de teste de flexão de 3 pontos em máquina de ensaio universal, com célula de carga de 1 N e velocidade de 0,5mm/min. Os resultados apresentaram significância estatística entre dois fatores: tratamento e tempo de exposição. Os extratos de semente de uva, semente de cacau e canela, aumentaram o módulo de elasticidade da matriz dentinária, onde os resultados do extrato de semente de uva e de cacau foram dependentes do tempo, ou seja, aumento do tempo de exposição aumentou aparentemente o módulo de elasticidade. A partir dos resultados, os autores concluíram que os extratos ricos em PACs são agentes importantes para adaptar e manter a estabilidade da matriz colágena com ligações cruzadas por longos períodos de tempo.

O estudo de Aguiar et al. (2014) descreveu o perfil químico de extratos naturais ricos em proantocianidinas de sete plantas que usaram cromatografia líquida de ultra eficiência (HPLC) para determinar a composição geral desses extratos e, paralelamente, avaliar seu efeito nas propriedades mecânicas da dentina. A biomodificação da dentina foi avaliada pelo ME, mudança de massa e resistência à biodegradação enzimática. Em relação ao ME, foram utilizados vinte e quatro molares humanos extraídos seccionados e um total de 120 barras de dentina ( $1,7 \times 0,5 \times 6,0$  mm) foram obtidos, e foram totalmente desmineralizadas em 10% de  $H_3PO_4$ , 5 horas em temperatura ambiente. O grupo controle foi estabelecido por imersão de amostras em tampão HEPES 0,02 M pelo mesmo tempo de exposição. As barras foram divididas aleatoriamente em 8 grupos ( $n = 15$ ) e mantidas em suas respectivas soluções por 1 hora, foram avaliados sem tratamento (*baseline*) e após 1 hora nas respectivas soluções. O ME foi determinado em um teste de flexão de três pontos com uma célula de carga 1 N montada em uma máquina de teste universal, a velocidade de 0,5 mm/min, e os dados foram expressos em MPa. Observou-se que os extratos com alto teor de polifenóis e proantocianidinas de *Vitis vinifera*, *Theobroma cacao*, *Camellia sinensis* e *Pinus massoniana*, induziram um aumento significativo no ME em massa. A análise UHPLC mostrou a presença de múltiplos tipos de polifenóis, variando de ácidos fenólicos simples oligoméricos e taninos altamente condensados. O efeito protetor contra a degradação enzimática foi observado para todos os grupos experimentais.

Moreira et al. (2017) estudaram vários polifenóis de fontes renováveis em relação à biomodificação da dentina, objetivando comparar a biomodificação do colágeno dentinário de

polifenóis do extrato de casca de Aroeira, PACs do extrato de semente de uva (*Vitis vinifera*), cardol e cardanol. Foi realizado o teste de flexão de três pontos para obter o módulo de elasticidade dos feixes de dentina totalmente desmineralizados antes e após a biomodificação. Como resultados do estudo notou-se que o aumento do módulo elástico após a biomodificação foi na ordem cardol > cardanol > aroeira = PACs, atingindo um aumento médio de 338,2%. Em conclusão, os principais componentes do cardol e cardanol produziram os melhores resultados globais de biomodificação da dentina quando aplicados por um minuto.

Daoud et al. (2018) investigaram o efeito da glicação não enzimática na resistência da união e na durabilidade de amostras de dentina desmineralizada em um adesivo de dentina modificado para condicionar e enxaguar em duas etapas. Doze terceiros molares sadios extraídos recentemente foram selecionados aleatoriamente, foram seccionadas barras de 0,5 mm  $\pm$  0,2 mm de espessura (n = 10) usando uma lâmina de diamante de baixa velocidade sob constante refrigeração de água. As barras de dentina foram imersas em solução de ácido fosfórico a 35% por um período de 15s, e após a verificação completa da desmineralização das barras, os espécimes foram submetidos a enxague por 15 minutos com água deionizada para remover resíduos fosfóricos. Foram divididas em quatro grupos de tratamento: (1) controle (sem biomodificador), (2) 1% Ribose + adesivo, (3) 2% de Ribose + adesivo e (4) 3% de Ribose + adesivo. A rigidez basal dos feixes de dentina desmineralizada tratados foi medida usando um teste de flexão de três pontos com suporte de 2,5 mm e deslocamento de 0,5 mm/min. As amostras foram inseridas em água deionizada e a força de compressão foi medida em uma célula de carga 1 N. O ME foi calculado usando a inclinação mais acentuada da curva de deslocamento de carga. O ME e as concentrações dentárias de MMP-2 e catepsina K foram analisados separadamente usando ANOVA one way. Concluiu-se que a incorporação de Ribose (RB) a 1% no adesivo experimental de condicionamento e enxaguamento em duas etapas melhorou a resistência da ligação adesiva sem afetar adversamente o grau de polimerização. O adesivo recém-desenvolvido aumentaram a resistência do colágeno dentinário à degradação, inibindo as MMPs da matriz endógena e as catepsinas decisteína. A aplicação de Ribose a 1% à dentina condicionada com ácido proporcionou melhoria das propriedades mecânicas, um aumento progressivo e estatisticamente significativo da rigidez (p < 0,05).

No estudo realizado por Aydin et al (2018), os extratos de PACs selecionados com base na diversidade estrutural foram investigados para determinar as principais propriedades de PAC que impulsionam os efeitos sustentados nas matrizes de dentina durante um período de

18 meses. Os corpos de prova de dentina (n = 15) foram preparados a partir de molares humanos

para determinar o ME ao longo de 18 meses de envelhecimento. A suscetibilidade da matriz dentinária à degradação por proteases endógenas e exógenas foi determinada pela presença de colágeno solubilizado no sobrenadante e resistência à degradação pela collagenase bacteriana. Após 18 meses, as matrizes de dentina modificadas por extratos de *Pinus massoniana* (PM), *Cinnamomum verum* (CV), contendo apenas proantocianidina foram altamente estáveis mecanicamente ( $p < 0,05$ ). As amostras tratadas com CV apresentaram menor degradação pela collagenase bacteriana após 1h e 18 meses de envelhecimento ( $p < 0,05$ ), enquanto as matrizes de dentina tratadas com PM apresentaram menor perda de massa e solubilização de colágeno pelas enzimas endógenas ao longo do tempo ( $p < 0,05$ ). A resistência contra a degradação a longo prazo foi observada em todos os grupos experimentais, porém, a biomodificação dentinária mais potente e duradoura resultou de PACs.

Um estudo de Farina et al (2019), buscou avaliar as propriedades mecânicas e a morfologia da matriz extracelular da dentina após a remoção química de proteoglicanos para elucidar os papéis estruturais dos proteoglicanos na dentina. Os CPS foram obtidos a partir de molares hígidos extraídos seccionados em amostras de 1,7 x 6,0 x 0,5 mm e desmineralizadas em solução de ácido fosfórico a 10% por 5 h e enxaguadas com água destilada por 10 min. Após reidratação, as amostras foram divididas aleatoriamente em dois grupos ( $n = 20$ ): grupo 1 = a extração de proteoglicanos com GuHCl 4 M em acetato de sódio 50 mM e tampão de ácido iodoacético 1 mM pH 7,0 a 4 ° C; e grupo 2 = nenhuma extração de proteoglicanos (controle) em tampão sem GuHCl. As soluções de incubação foram preparadas na hora e trocadas diariamente por 10 dias. O ME das amostras foi determinado no *baseline* e diariamente durante os 10 dias de incubação. O ME das amostras de dentina foi avaliado em um teste de flexão de três pontos com uma célula de carga 1 N montada em uma máquina de teste universal em uma velocidade de 0,5 mm / min. Os resultados demonstraram que a remoção parcial de proteoglicanos induziu modificações significativas na matriz da dentina, particularmente no colágeno tipo I. A remoção de proteoglicanos diminuiu significativamente o ME da matriz extracelular da dentina ( $p < 0,0001$ ).

Outro estudo de Mendes et al. (2019), buscou avaliar o potencial do ácido tânico (AT) em diferentes concentrações como agente de biomodificação e seu efeito no colágeno de dentina desmineralizada. Avaliou-se ME através de um teste de flexão de três pontos ( $n=10$ ) e a variação de massa dos espécimes ( $n=10$ ), por meio de uma balança de precisão. Os grupos testes foram o ácido tânico (0,1; 1 e 10%), proantocianidina (6,5%) e água destilada foi usada como controle.

As barras de dentina foram padronizadas 1,7mm x 0,5 x 6 mm ( $\pm 0,1$ ), e preparadas através de

desmineralização em solução de ácido fosfórico a 10% durante 5 horas, sob agitação e em temperatura ambiente. Distribuiu-se em cinco grupos distintos (n=10) e os CPs foram mantidos nas respectivas soluções por 60 min. A análise do ME foi determinada em um ensaio de flexão de três pontos, onde foi utilizada célula de carga de 5,0 N montada em uma máquina de ensaios universal, com velocidade de 0,5 mm/min, para calcular o aumento do ME utilizou-se a razão entre o valor final e o *baseline*, expressos em MPa. O ME dos grupos tratados com ácido tânico apresentou valores estatisticamente maiores ( $p < 0,05$ ) que os outros grupos testados, não apresentando diferenças entre suas diferentes concentrações. O teste de variação de massa dos grupos demonstrou que os corpos de prova foram imersos em biomodificadores demonstraram valores estatisticamente superiores ao grupo água destilada (controle) ( $p < 0,05$ ). Concluiu-se através dos testes que o ácido tânico apresenta-se como um agente com potencial biomodificador do colágeno da matriz dentinária.

Carneiro et al. (2021) avaliaram o efeito do Líquido da casca da castanha de caju natural (LCCn) e do LCC técnico (LCCt) sobre as propriedades mecânicas da dentina desmineralizada. Trinta terceiros molares humanos, foram preparados e desmineralizados em solução de ácido fosfórico 10%, o ME foi aferido em *baseline* em teste de flexão de 3 pontos usando carga de 5 N. Os espécimes foram tratados por 1 min de acordo com os seguintes grupos (n=15): controle negativo (água destilada), controle positivo (GA 5%), LCCn a 2% e LCCt a 2% e ME dos espécimes foi avaliado novamente de forma imediata e a cada 7 dias durante 4 semanas de armazenamento em saliva artificial a 37°C. O ME apresentou uma redução logo após a biomodificação seguido de aumento gradual, onde após 4 semanas de armazenamento foi maior para o grupo tratado com LCCt, seguido pelo GA, aumentando a rigidez do colágeno em 422% e 250%, respectivamente. O LCCn não mostrou diferença estatística no ME quando comparado ao controle negativo no mesmo período de armazenamento. Concluíram que o LCCt apresenta potencial como agente de biomodificação dentinária, comparado ao glutaraldeído que é um agente biomodificador padrão-ouro, mas apresenta como desvantagem elevada citotoxicidade.

### 3.2 Fitoterapia e emulsão à base de *Copaifera multijuga* Hayne

A Fitoterapia é o estudo das plantas medicinais e suas aplicabilidades terapêuticas, visando ao tratamento e à cura de doenças. Desde a antiguidade, as plantas têm sido relatadas e utilizadas como um importante recurso pelo ser humano, sendo o conhecimento popular e de uso obtidos transmitidos de geração em geração, além de oferecer alternativas viáveis e importantes às populações dos países em desenvolvimento, já que seu custo é diminuído. O reconhecimento da prática do desenvolvimento e estudo de fitoterápicos impulsionou as pesquisas de extratos de plantas para o uso e aplicabilidade na área odontológica, com potencial de ação anestésica, antibacteriana, anti-inflamatória, controle do biofilme dentário, bem como de outras afecções bucais (CARVALHO et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2013).

Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) da ANVISA nº 26/2014:

“Fitoterápico é definido como o produto obtido de matéria-prima vegetal, exceto substâncias isoladas, com finalidade profilática, curativa ou paliativa, incluindo fitoterápico e produto tradicional fitoterápico, podendo ser simples, quando o ativo é proveniente de uma única espécie, vegetal medicinal, ou composto, quando o ativo é proveniente de mais de uma espécie vegetal e planta medicinal é a espécie vegetal, cultivada ou não, utilizada com propósitos terapêuticos” (BRASIL, 2014).

A Amazônia brasileira destaca-se como o bioma detentor da maior biodiversidade no planeta. O Brasil possui diversas espécies de plantas medicinais que são um patrimônio incalculável e representam um recurso indispensável para a saúde das populações detentoras do conhecimento popular e tradicional. Objetivando estimular a inserção da Fitoterapia no Sistema Único de Saúde (SUS), em 2006 o Ministério da Saúde, através da Portaria nº 971 e o Decreto nº 5.813, que foram publicados no Diário Oficial da União, apresentou a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), onde foram incluídas as plantas medicinais e a fitoterapia, além de outras práticas, como opção terapêutica no SUS. Após, em 2008, criou-se também o Programa Nacional de Plantas medicinais e Fitoterápicos e a Relação Nacional de Plantas Medicinais de interesse do SUS (RENISUS) (BRASIL, 2009). Além disso as Resoluções da Diretoria Colegiada (RDC) ANVISA/Ministério da Saúde regulamentam a manipulação, uso, pesquisa e questões éticas relacionadas aos fitoterápicos.

Na área odontológica, o uso da Fitoterapia foi reconhecido e regulamentado como prática integrativa e complementar, somente no ano de 2008, conforme a Resolução nº 082/2008, do Conselho Federal de Odontologia.

Para que os efeitos das plantas medicinais sejam melhor entendidos e dessa forma o uso



de forma efetiva e segura contribua na assistência à saúde, inclusive na Odontologia, a busca do conhecimento científico instigado pelo conhecimento popular e tradicional é de grande importância. A Organização Mundial da Saúde (OMS) tem incentivado pesquisas científicas para estudar esse tipo de alternativa terapêutica por suas vantagens relacionadas principalmente ao fácil acesso e baixo custo, porém, a incorporação da fitoterapia nos procedimentos de rotina na odontologia clínica ainda representa um grande desafio a ser superado (REIS et al., 2014).

Bohneberger et al. (2019) realizaram uma revisão da literatura a respeito do uso popular de fitoterápicos relacionado com as evidências científicas na Odontologia, onde foram estudadas as plantas medicinais: Calêndula (*Calendula officinalis L.*), Aloé vera (*Aloe vera L.*), Camomila (*Matricaria chamomilla L.*), Malva (*Malva sylvestris*), Papaína (*Carica papaya*), Copaíba (*Copaifera L.*), Penicilina (*Alternanthera brasiliana*), Própolis (*Apis mellifera L.*), Romã (*Punica granatum*) e Tansagem (*Plantago major L.*). Todas as plantas estudadas apresentaram algum potencial terapêutico e aplicabilidade odontológica, destaca-se por exemplo, que todas apresentaram potencial antiinflamatório. Além disso, potencial antibacteriano foi identificado na Calêndula, Aloé vera, Copaíba, Própolis, Romã, Papaína, e Tansagem. Já a ação cicatrizante com o uso da Calêndula, Aloé vera, Papaína e Própolis, e a ação analgésica com a Copaíba, Malva, Camomila, e Penicilina.

Dessa forma, na odontologia, inúmeras pesquisas têm sido realizadas visando alcançar agentes que apresentem biocompatibilidade para o uso nos tecidos dentais para diversos fins terapêuticos. Atualmente, os estudos com a espécie *Copaifera multijuga* Hayne estão sendo desenvolvidos objetivando um produto biomodificador dentinário com atividades biológicas como: antiproteolítica (ARAÚJO et al. 2021), antibacteriana, anti- inflamatória (DE ARAÚJO et al. 2020), que apresente níveis genotoxicidade e citotoxicidade adequados e que possa auxiliar na melhoria da adesão dos materiais restauradores à estrutura dental, proporcionando camada híbrida, uniforme e homogênea que possa prevenir a degradação da interface adesiva, reduzindo ou eliminando a nanoinfiltração marginal, feito almejado por pesquisadores há décadas.

Milério (2015) e Araújo (2015) analisaram, durante um ano, a estabilidade e atividade antibacteriana da EC 10% como agente de limpeza cavitária, com relação as propriedades físico-químicas de atividade antibacteriana e controle de qualidade, seguindo às orientações de padronização e normas das boas práticas de fabricação da Farmacopeia Brasileira e da ANVISA.

Onde a emulsão apresentou atividade antibacteriana contra todos os microrganismos do ensaio, além de condições de estabilidade e qualidade, sem contaminantes, sendo melhor ambiente de armazenamento foi a geladeira.

A análise da morfologia da superfície dentinária, em MEV, cortada e tratada com e suspensão de extrato etanólico de própolis e emulsões de óleo de copaíba a 10%, foi executada por Bandeira et. al (2016). Doze pré-molares superiores hígidos foram extraídos por razões ortodônticas, preparados e distribuídos em oito grupos experimentais: G1- sem tratamento; G2- spray de ar/água; G3- Emulsão à base do óleo de copaíba a 10%; G4- Emulsão à base do óleo de copaíba a 30%; G5- Emulsão à base do óleo de copaíba + A a 10%; G6- Emulsão à base do óleo de copaíba + A a 30%; G7- Suspensão de extrato etanólico de própolis e; G8- Digluconato de Clorexidina a 2%. Os corpos de prova foram confeccionados de forma a obter discos de dentina e com uma lixa d'agua, foi tirado aproximadamente 1 mm de dentina, para produzir uma camada de lama dentinária, em seguida foram tratados de acordo com os grupos experimentais. Os espécimes foram preparados e observados no Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) onde o aumentou variou de 100 a 5.000 vezes. As fotomicrografias obtidas foram analisadas e comparadas morfologicamente entre os espécimes. Os resultados, obtidos através da análise da morfologia da superfície dentinária mostrada no MEV sugeriram que as emulsões-teste tem a viabilidade de também serem utilizados como agente de limpeza.

Bandeira et al. (2018) e Araújo (2021) analisaram o efeito das emulsões à base de óleo de copaíba com diferentes concentrações de conservante na inibição de metaloproteinases em células da linhagem de fibrossarcoma humano HT1080 e na matriz dentinária frente aos sistemas adesivos convencional e autocondicionante, por meio de estudos *in vitro* e *in situ*. Em cultura de células, a análise zimográfica foi realizada utilizando a linhagem HT1080 tratadas com a EC 10% com variação do conservante em X, Y, Z, Digluconato de Clorexidina a 2% (CLX) e água destilada, nos tempos de 24 e 48 horas. Na zimografia *in situ*, trinta dentes foram seccionados a 2 mm abaixo da junção esmalte-dentina; em seguida, foi padronizada a smear layer e divididos em quatro grupos. Uma gelatina conjugada com fluoresceína foi utilizada e depois levada ao microscópio para avaliação. No ensaio zimográfico, a emulsão de copaíba como biomodificador da adesão dentinária apresentou melhor resultado referente à diminuição da atividade enzimática das metaloproteinases -2 e -9 quando comparados ao grupo CLX. E na matriz dentinária, notaram diferença estatística entre a EC 10% como biomodificador dentinário e o adesivo convencional, em relação ao grupo controle e CLX. Com isso, o estudo demonstrou o potencial das ECs na inibição das metaloproteinases que norteia futuros estudos *in situ* e *in vivo*.

As ECs, nas concentrações determinadas, apresentaram diminuição da atividade de MMP-2 e -9 nos testes em células da linhagem HT1080. Dessa forma nota-se que a emulsão anteriormente tratada como agente de limpeza cavitária, pode ser denominada com agente biomodificador dentinário, pois apresenta mecanismos para inativar as metaloproteinases (BETANCOURT et al., 2019).

Na pesquisa de Meira et al. (2020), foi realizada avaliação histomorfométrica para avaliar a ação das ECs sobre o colágeno da matriz dentinária, averiguando se ocorre interferência na utilização do sistema adesivo. Para avaliar a exposição de fibrilas colágenas foram utilizados trinta terceiros molares hígidos, que após profilaxia adequada, receberam preparo de superfície, obtendo no final 80 espécimes divididos em 10 grupos, de acordo com as soluções-teste: G1- dentina hígida+água, G2-dentina cariada+água, G3-dentina hígida+CLX, G4-dentina cariada+CLX, G5-dentina hígida+CM e conservante A (CM+A), G6-dentina cariada+CM+A, G7-dentina hígida+CM e conservante B (CM+B), G8-dentina cariada+CM+B, G9-dentina hígida+CM e conservante C (CM+C), G10-dentina cariada+CM+C. Passados três meses de imersão dos espécimes, os mesmos foram preparados, com os cortes histológicos corados em Tricômico de Goldner e analisados. Para análise da reprodutibilidade do examinador foi utilizado o teste de correlação de Pearson. A análise qualitativa do material histológico obtido para o estudo foi feita por três patologistas ao mesmo tempo. Os espécimes que receberam tratamento com as emulsões à base de copaíba apresentaram espessura maior de colágenos exposto e hibridizado e comparação com os grupos CLX e água. Em dentina cariada, o grupo CLX apresentou maior proporção de espécimes com colágeno hibridizado. E o grupo G7, camada híbrida com melhor homogeneidade e 100% de espécimes com colágeno hibridizado.

Outro estudo de Bandeira et al. (2020) analisou o efeito da aplicação prévia de emulsões de óleo de copaíba (EC) como substância de limpeza de dentina na microinfiltração e na resistência adesiva à microtração. Vinte e cinco pré-molares e sessenta e quatro molares para testes de microinfiltração e microtração. Na microinfiltração, as amostras com cavidades classe V padrão foram divididas (n = 5), de acordo com as emulsões à base de Copaíba testadas: EC 10% X, EC 10% Y e EC 10% Z, bem como Clorexidina 2% (CLX) e destilada água (DW), como controles positivo e negativo, respectivamente. Foram feitas restaurações usando os sistemas Adper Single Bond® e / ou Clearfil SE Bond®. As seções cervicais, oclusais, distais e mesiais foram avaliadas com relação ao grau de penetração do marcador na interface composto / dente. Para o ensaio de microtração, molares saudáveis foram divididos em dezesseis grupos, nos quais cáries artificiais foram induzidas em metade dos grupos.

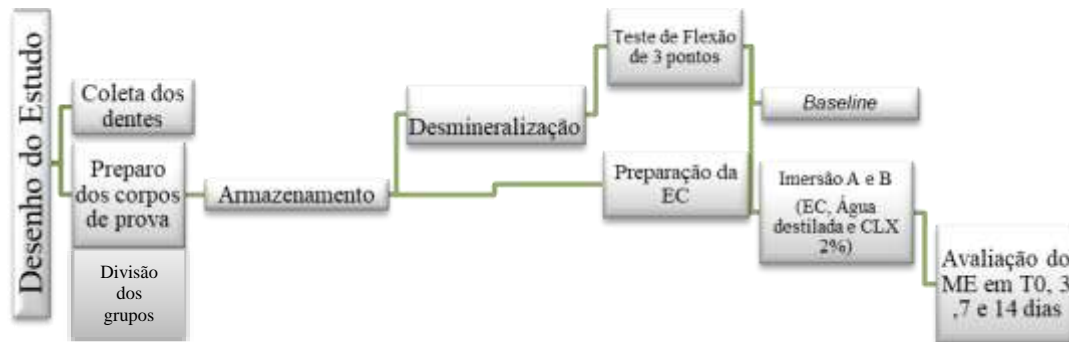
As superfícies de dentina foram tratadas com emulsões EC 10% X e CO10% Y, CLX e DW. A resistência da ligação microtênsil foi medida fixando cada amostra na placa de uma máquina de teste universal na velocidade de 0,5 mm/minuto. A dentina com tratamento de EC 10% X esboçou menor taxa de infiltração do que a dentina tratada com as outras emulsões de EC, CLX2% e DW. Na microtração, a dentina saudável e afetada, tratada com EC 10% X e sistema adesivo Adper Single Bond®, apresentou maior resistência adesiva. Concluiu-se que a emulsão de EC, usada como agente biomodificador em dentina, interferiu positivamente na microinfiltração e melhorou a resistência do adesivo após o ataque ácido no sistema adesivo Adper Single Bond® ou antes de aplicar o sistema de autocondicionamento Clearfil SE Bond®.

O estudo de Moura (2021) buscou avaliar a morfologia da superfície dentinária e da camada híbrida com os sistemas adesivos autocondicionante convencional em dentina hígida e afetada por cárie após a utilização da EC 10%. 96 Terceiros molares humanos hígidos foram coletados, onde 48 dentes foram submetidos indução artificial de cárie e os outros 48 dentes foram mantidos hígidos, foram preparados em discos de dentina e separados em grupos de acordo com as substâncias testes (EC, solução de hidróxido de cálcio, Digluconato de Clorexidina a 2% e água destilada) durante 60 segundos, substrato dentinário cariado ou hígido e tipo de Sistema adesivo usado Clearfil SE Bond® e Adper Single Bond 2®. Foi realizada análise em MEV, onde observou-se que o tratamento da superfície dentinária com a EC não apresentou qualquer barreira física à infiltração do adesivo. Já o tratamento com CLX 2% apresentou na superfície dentinária alguns sais de fosfato nos dois tipos de dentina. No tratamento com solução de hidróxido de cálcio a deposição de precipitado mineral foi resultante, e uma obstrução da luz dos túbulos dentinários em dentina hígida. Não houve diferença estatística entre as camadas híbridas formadas com o adesivo Adper SingleBond® nos tipos de dentina tratados com as substâncias testadas. A utilização da emulsão à base de óleo de copaíba não causou alteração morfológica nas superfícies dentinárias cariada ou hígida, apesar do condicionamento com ácido fosfórico, além disso foi obtida camada híbrida uniforme, com grande infiltração monomérica e regular, independente do sistema adesivo usado.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Desenho de Estudo

A presente pesquisa tratou-se de cunho experimental, *in vitro*, laboratorial, prospectiva e com abordagem quantitativa.



**Figura 2.** Fluxograma do desenho de estudo.

O projeto obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), com o número (CAAE-14945719.1.0000.5020) (Anexo 1).

O estudo foi conduzido inicialmente em Manaus, na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Amazonas (FAO-UFAM), nas dependências do Laboratório de Atividades Fitoterápicas em Odontologia (LABFITO) para produção da EC (Figura 3) e Laboratório de Pesquisa da Faculdade de Odontologia, para preparação dos corpos de prova. O ensaio de flexão para análise do módulo de elasticidade foi conduzido nas dependências do Laboratório Multidisciplinar em Pesquisa Odontológica (LAMPO) da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Ceará - UFC. Para o desenvolvimento da pesquisa, terceiros molares hígidos foram fornecidos através de um Biorrepositório na Faculdade de Odontologia da UFAM, respeitando os aspectos éticos, com assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A).

### 4.2 Formulação da emulsão à base de óleo de Copaíba

O óleo resina da *Copaifera multijuga* Hayne, encontrada na Reserva Ducke, no Km 17 da Rodovia Manaus-Itacoatiara, foi catalogado sob o n° 69 pelo Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA). A coleta foi realizada e a *exsicata* foi depositada no herbário

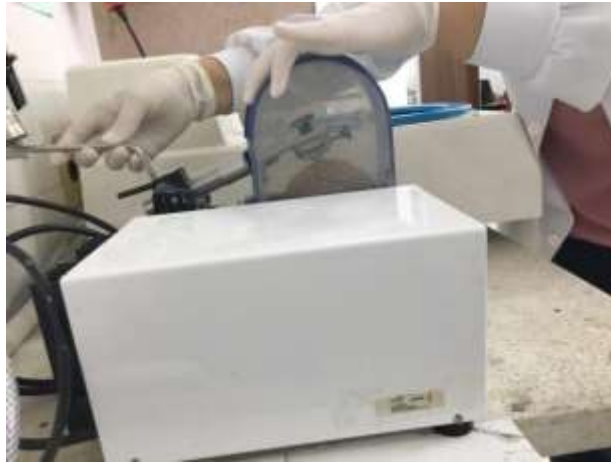
do INPA sob o n° 270709 e foi realizado o cadastramento no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio genético e do Conhecimento tradicional associado (SISGEN) do Ministério do Meio Ambiente (n°A1D4687)

A emulsão à base do óleo resina de *Copaifera multijuga* Hayne foi formulada, obedecendo às orientações da Farmacopeia Brasileira (2010) e seguindo as proporções propostas por De Bari et al. (2016) e está sob processo de patente (BR 10 2020 016782 0). A emulsão foi mantida em temperatura refrigerada, em frasco de vidro, de cor âmbar, com tampa rosqueável e selado com Parafilm ®.

### 4.3 Preparação das amostras

Trinta terceiros molares humanos hígidos extraídos foram coletados após procedimentos cirúrgicos dos doadores do biorrepositório e utilizados para produção das amostras utilizadas para a análise do módulo de elasticidade, totalizando 90 corpos de prova (cp) n = 15. Os dentes foram limpos de debris, e seccionados com o auxílio de disco diamantado de 0,5 mm adaptado na máquina de corte Mecatome® P100 (PRESI, Grenoble, França), sob refrigeração, com velocidade de 300 rpm e 200 g de força (Figura 3). A porção radicular foi cortada a 1 mm abaixo da junção esmalte-cimento (JEC) e a raiz descartada (Figura 4). A porção oclusal foi removida expondo dentina coronária através de abrasão com auxílio de lixas d'água (3M) de granulação 600, sob refrigeração constantee velocidade de 600 rpm, adaptadas a uma politriz AROTEC® (Aropol 2V, Arotec S.A. Indústria e Comércio, série 040865 Cotia, SP, Brasil), para obter uma superfície plana de dentina (Figura 5). Essa porção coronária foi cortada em fatias de 0,5 mm ( $\pm 0,1$ ) na direção mesio-distal, por meio de disco de diamante 0,5 mm, acoplado novamente a máquina decorte Mecatome® P100 (PRESI, Grenoble, França), sob refrigeração constante. As fatias foram posteriormente desgastadas através de broca cilíndrica de alta rotação e disco de lixa em baixarotação, até se atingir a dimensão retangular padrão final de 0,5mm de espessura x 1,7 mm de altura x 7 mm de comprimento. As dimensões dos espécimes foram mensuradas através de um paquímetro digital (FORTGPRO-FG8331) (Figura 6). Uma marcação foi confeccionada em uma extremidade das superfícies para permitir que as medições fossem repetidas na mesma superfície do corpo de prova. (CASTELLAN et al., 2011).

Os espécimes foram imersos em solução de ácido fosfórico a 10%, por um período de 5 horas, em temperatura ambiente, sob agitação constante para completa desmineralização (Figura 7) e posteriormente todos foram radiografados em aparelho de raio X odontológico de parede (Digital 70Kv – X DENT) com tempo de exposição de 0,32 segundos, utilizando películas radiográficas periapicais (E- Speed), para avaliar se houve desmineralização completa do tecido dentinário (Figura 8). Em seguida, foram enxaguados abundantemente com água destilada por 10 minutos, para remoção de qualquer resíduo de ácido. (BEDRAN-RUSSO et al., 2008).



**Figura 3.** Secção dos dentes em máquina de corte Mecatome® P100 (PRESI, Grenoble, França), sob refrigeração, com velocidade de 300 rpm e 200 g de força.



**Figura 4.** Porção coronária após remoção da porção radicular à 1 mm da junção esmalte-cimento (JEC).



**Figura 5.** Abrasão da porção coronária com auxílio de lixas d'água de granulação 600, adaptadas a uma máquina politriz AROTEC®

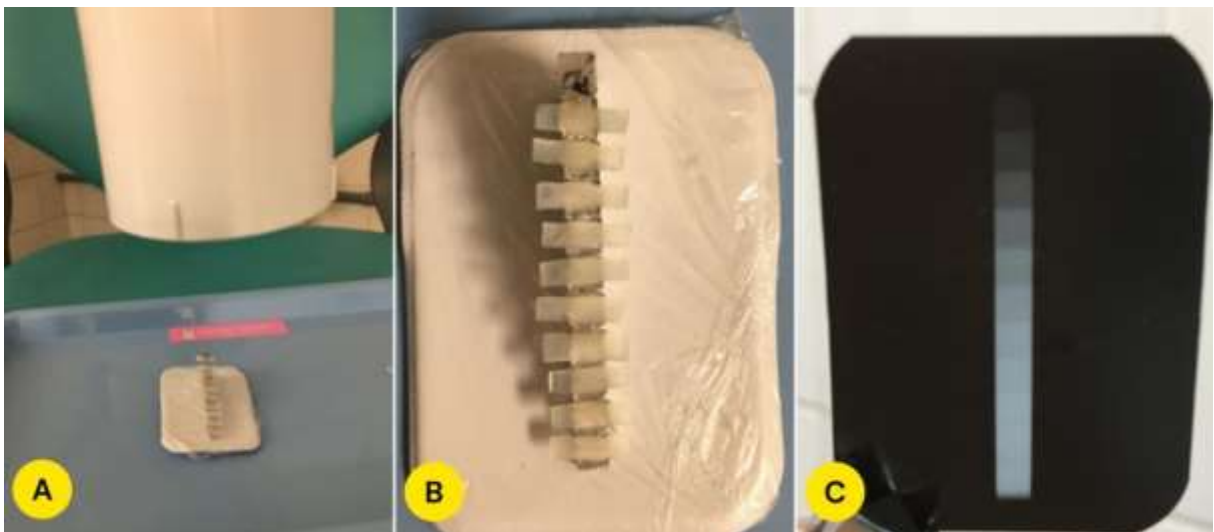


**Figura 6.** Corpos de prova preparados através do corte, com dimensão retangular padrão final de 0,5mm de espessura x 1,7 mm de altura x 7 mm de comprimento, armazenados em água destilada.





**Figura 7.** Imersão dos corpos de prova em solução de ácido fosfórico 10%, sob agitação.



**Figura 8.** Corpos de prova radiografados para avaliar se houve desmineralização completa do tecido dentinário. A – Tomada radiográfica sendo realizada. B – Corpos de prova posicionados em dispositivo metálico para realização da exposição radiográfica. C – Película radiográfica demonstrando desmineralização completa dos corpos de prova.

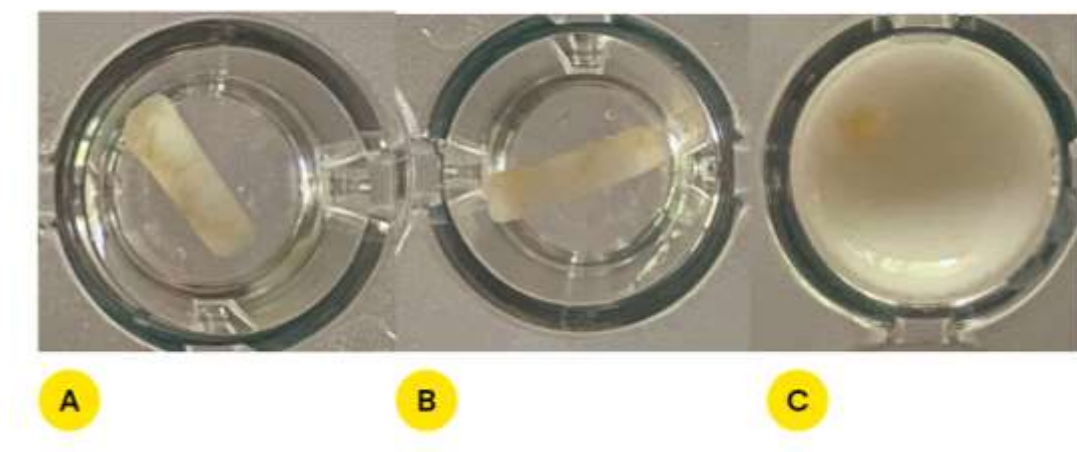
#### 4.4 Ensaio de estabilidade

As amostras foram testadas sem nenhum tratamento (*baseline*). Posteriormente, foram alocadas em placa de 96 poços eimersas em 20  $\mu$ l de sua respectiva solução-teste, de acordo com número de corpos nos seguintes grupos: GC1 (água destilada); GEC (EC 10%);

GCLX (Digluconato de Clorexidina 2%) para diferentes avaliações imediatas de tempo de aplicação (30 e 60 minutos) nos períodos de mensuração (Quadro 1 e Figura 10). Após o período das avaliações iniciais T0 (após a biomodificação), para a verificação da estabilidade, os espécimes foram armazenados em saliva artificial com composição seguindo as recomendações do Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira (2010), com PH 7,0, em incubadora a 37°C. Após 3, 7 e 14 dias, foram realizadas novas aferições do módulo de elasticidade, nos mesmos espécimes ao longo do tempo.

**Quadro 1.** Grupos experimentais e tempos de imersão, por solução-teste.

Grupos experimentais	Soluções-teste	Imersão TEMPO A 30 min	Imersão TEMPO B 60 min	Total por grupo
<b>GC1</b> Controle negativo	Água Destilada	15 cp	15cp	30 cp
<b>GEC</b>	EC 10%	15cp	15cp	30 cp
<b>GCLX</b> Controle positivo	CLX 2%	15cp	15cp	30 cp



**Figura 9.** Representação de um poço de placa de 96 poços contendo os corpos de prova imersos em seus respectivos grupos-teste. A: Grupo: GC1 – Controle negativo (Água destilada); Grupo: GCLX – Controle positivo; Grupo: EC 10%.

#### 4.4.1 Avaliação das propriedades mecânicas

Os espécimes foram testados em flexão de 3 pontos usando uma célula de carga de 5 N montada em uma máquina de teste universal (INSTRON com Laptop Dell Latitude E5510) na velocidade de 0,5 mm/min (Figura 11). O Deslocamento (D) durante a compressão foi exibido em milímetros e calculado com uma deformação máxima de 3% usando a seguinte fórmula (MOREIRA, 2017):

$$D = \varepsilon L^2 / 6T$$

Onde,  $\varepsilon$  é tensão, L a distância entre os suportes e T é a espessura da amostra. O módulo elasticidade (ME) dos espécimes foi expresso em MPa (Mega Pascal) e calculada usando a seguinte fórmula:

$$E = PLt / 4DbT$$

Onde, P é a carga máxima, L a distância entre os suportes, D o deslocamento, b é a largura e T a espessura do corpo de prova.



Fonte : Gomes (2021)

**Figura 10.** Máquina de teste universal (INSTRON com Laptop Dell Latitude E5510).

## 4.4.2 Considerações éticas

### 4.4.2.1 Critérios de Inclusão

Foram incluídos na pesquisa elementos dentários hígidos (dentes livres de cárie e/ou restaurações), sendo terceiros molares extraídos, provenientes de pacientes de idade e gênero aleatórios que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

### 4.4.2.2 Critérios de Exclusão

Foram excluídos da pesquisa dentes que apresentarem trincas, fraturas, má formação na região coronária, áreas hipoplásicas, lesão cariada ou restaurações.

## 4.4.3 Análise Estatística

Para avaliar se o tipo de solução, tempo imersão A e B (30 e 60 minutos) e tempo (*baseline*, T0-após biomodificação, 3 dias, 7 dias e 14 dias) afetam significativamente o módulo de elasticidade da matriz dentinária desmineralizada, recorreu-se ao teste paramétrico de ANOVA três fatores mista para amostras independentes e dependentes. O pressuposto da distribuição normal da variável foi avaliado pelo teste de Shapiro-Wilk ( $p < 0,05$ ). O pressuposto de homogeneidade de variância foi avaliado com o Teste de Levene ( $p < 0,05$ ) e a esfericidade pelo teste de Mauchly ( $p < 0,05$ ). Utilizou-se um nível de significância de  $\alpha = 0,05$  para todas as análises de inferência. Para identificar quais os pares de médias diferem entre si, para a interação entre os fatores e para os momentos avaliados, procedeu-se a comparação múltipla de médias com correção de Bonferroni. As análises estatísticas descritivas, gráficas e inferências foram executadas com o software PAWS Statics (v. 21, SPSS Inc, Chicado, IL).

## 5. RESULTADOS

A tabela 1 apresenta os dados descritivos de todos os grupos que foram testados GC1 – Controle negativo (água destilada); GEC (EC 10%) ; GCLX (Digluconato de Clorexidina 2%) nos respectivos tempos de imersão e de análise do módulo de elasticidade.

**Tabela 1.** Dados descritivos das médias do ME dos grupos de estudo de acordo com as variáveis tempo, solução e minutos.

Tempo	Solução	Minutos	Média (MPa)	Desvio Padrão
<i>Baseline</i>	GEC 10%	30 minutos	3,1300	1,22208
		60 minutos	2,9780	,52647
	GC1	30 minutos	2,4570	,62325
		60 minutos	1,7960	,70247
	GCLX 2%	30 minutos	2,6060	,76452
		60 minutos	1,3870	,53041
Após a biomodificação	GEC 10%	30 minutos	1,6850	,54075
		60 minutos	1,6820	,59008
	GC1	30 minutos	1,5500	,30667
		60 minutos	1,2240	,44315
	GCLX 2%	30 minutos	1,7610	,87538
		60 minutos	1,4140	,74922
3 dias	GEC 10%	30 minutos	2,4360	,64350
		60 minutos	1,8210	,50143
	GC1 - Água destilada	30 minutos	1,8890	,41927
		60 minutos	1,1370	,49596
	GCLX 2%	30 minutos	1,6890	,74327
		60 minutos	1,2120	,64946
7 dias	GEC 10%	30 minutos	1,8080	,45934
		60 minutos	1,9670	,42101
	GC1	30 minutos	1,6090	,55441
		60 minutos	1,1290	,69257
	GCLX 2%	30 minutos	1,4990	,79655
		60 minutos	1,2520	,51027
14 dias	GEC 10%	30 minutos	1,9040	,69242
		60 minutos	1,4730	,50295
	GC1	30 minutos	1,6950	,47122
		60 minutos	1,1850	,52999
	GCLX 2%	30 minutos	1,8810	,78482
		60 minutos	1,6470	,51996

A Tabela 2 mostra o sumário do teste de ANOVA três fatores para avaliação dos fatores de estudo.

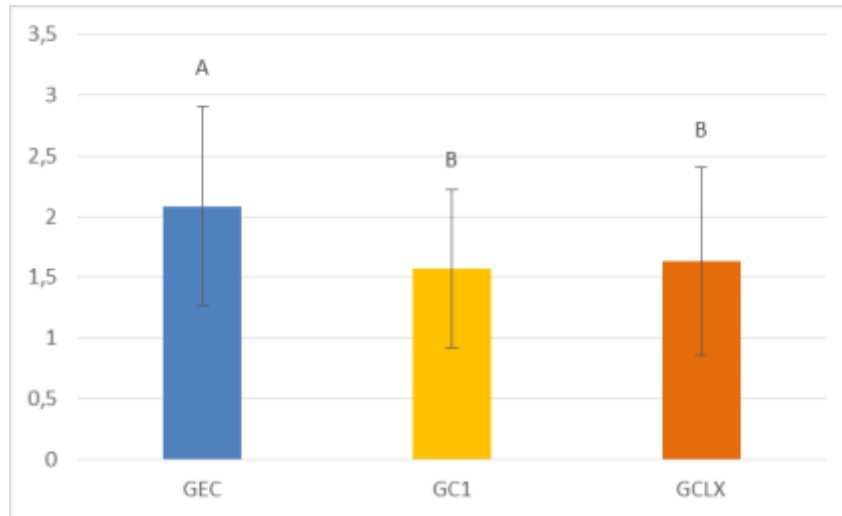
**Tabela 2.** Teste de Anova três fatores mista para avaliação dos fatores de estudo.

	Tipo III Soma dos Quadrados	gl	Quadrado Médio	F	Sig.	Potência observada
<b>Entre Grupos</b>						
Solução	16,070	2	8,035	9,049	,000*	,968
Imersão	13,209	1	13,209	14,877	,000*	,966
Solução*Imersão	1,695	2	,847	,954	,391	,207
Erro	47,946	54	,888			
<b>Dentro dos Grupos</b>						
Tempo	30,602	4	7,651	27,393	,000*	1,000
Tempo*Solução	8,455	8	1,057	3,784	,000*	,987
Tempo*Imersão	2,940	4	,735	2,632	,035*	,730
Tempo*Solução*Imersão	2,962	8	,370	1,326	,232	,600
Erro (tempo)	60,327	216	,279			

\*Significante ( $p < 0,05$ )

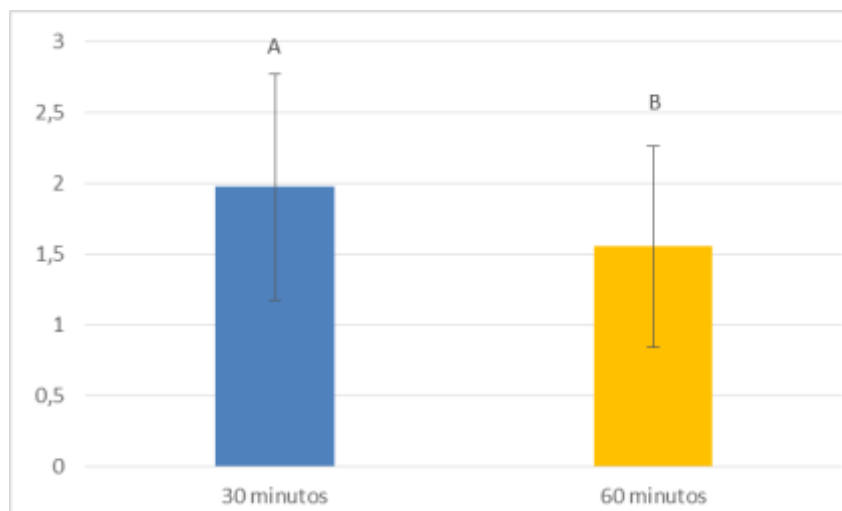
Os efeitos principais entre os grupos solução, imersão e tempo, e as interações duplas, Tempo\*Solução e Tempo\*imersão, apresentaram diferenças estatisticamente significantes com valores de  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$  e  $p = 0,035$ , respectivamente, com consequente complexidade na interpretação das diferenças entre as médias do ME.

A Figura 11 mostra a média e o desvio padrão para o efeito principal solução. A solução de EC apresentou os maiores valores de ME pós-flexão ( $2,09 \pm 0,82$ ), sendo estatisticamente significante quando comparados com as soluções de Água destilada ( $1,57 \pm 0,65$ ) e Digluconato de Clorexidina 2% ( $1,64 \pm 0,77$ ), que não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre si.



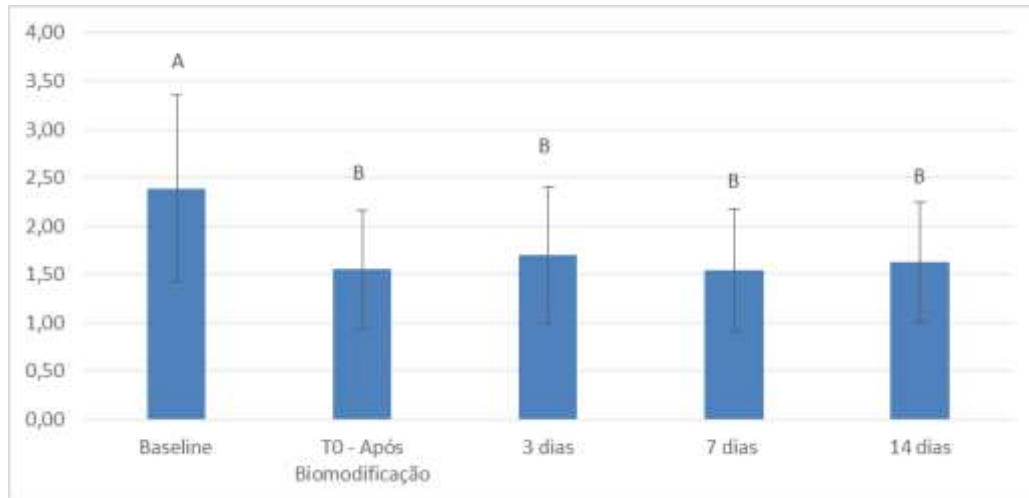
**Figura 11.** Média e o desvio padrão dos valores de módulo de elasticidade expressos em MPa, para o efeito principal solução. Letras diferentes mostram diferenças estatisticamente significantes com  $p < 0,05$  (teste de Bonferroni).

A Figura 12 mostra a média e o desvio padrão para o efeito principal imersão. O ME expresso em megapascal (MPa) apresentou maiores valores quando os corpos de prova foram imersos durante um período de 30 minutos ( $1,97 \pm 0,80$ ) sendo estatisticamente significante quando comparado com o grupo de 60 minutos ( $1,55 \pm 0,71$ ).



**Figura 12.** Média e desvio padrão dos valores de módulo de elasticidade em MPa, para o efeito principal imersão. Letras diferentes mostram diferenças estatisticamente significantes com  $p < 0,05$  (teste de Bonferroni).

A Figura 13 mostra a média e o desvio padrão para o efeito principal tempo. Os maiores valores de ME foram obtidos para o grupo *baseline* ( $2,39 \pm 0,96$ ) sendo estatisticamente significante quando comparado com os grupos T0 - biomodificação ( $1,55 \pm 0,62$ ), 3 dias ( $1,70 \pm 0,71$ ), 7 dias ( $1,54 \pm 0,63$ ) e 14 dias ( $1,63 \pm 0,62$ ).



**Figura 13.** Média e o desvio padrão dos valores de módulo de elasticidade em MPa para o efeito principal tempo. Letras diferentes mostram diferenças estatisticamente significantes com  $p < 0,05$  (teste de Bonferroni).

O efeito do tempo (*baseline*, T0 - após biomodificação, 3 dias, 7 dias e 14 dias) no módulo de elasticidade da dentina desmineralizada, dependeu do tipo de solução (EC 10%, Água destilada e Clorexidina), como demonstra a interação significativa Tempo\*Solução ( $p < 0,001$ ). A Tabela 3 demonstra o efeito da interação sobre os dois fatores avaliados.

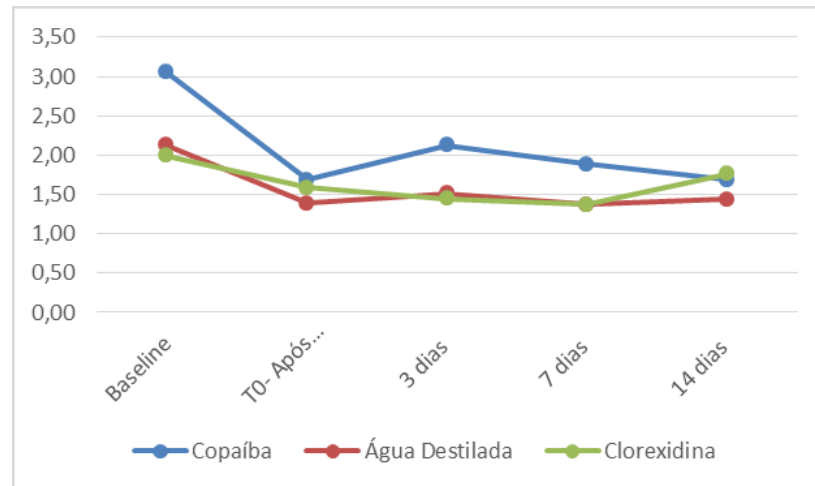
**Tabela 3.** Comparações múltipla das médias e desvio padrão do ME em MPa nas três soluções testadas em cada um dos 4 períodos avaliados.

	<i>baseline</i>	<b>Após biomodificação</b>	<b>3 dias</b>	<b>7 dias</b>	<b>14 dias</b>
<b>GEC</b>	3,05± 0,92 Aa	1,68± 0,55 Ab	2,13± 0,64 Ab	1,89± 0,44 Ab	1,69± 0,63 Ab
<b>GC1</b>	2,13± 0,73 Ba	1,39± 0,41Ab	1,51± 0,59 Bb	1,37± 0,66 Bb	1,44± 0,55 Ab
<b>GCLX</b>	2,00± 0,90 Bac	1,59± 0,81 Aabc	1,45± 0,72 Bbc	1,38± 0,66 Bbc	1,76± 0,66 Ac

Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa no sentido vertical. Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa no sentido horizontal (Teste de Bonferroni,  $p < 0,05$ ).

Todos os grupos apresentaram uma diminuição no ME ao longo do tempo. Os corpos de prova imersos na solução de EC apresentaram os maiores valores após 3 e 7 dias, sendo estatisticamente significante ( $p < 0,05$ ), quando comparado com T0 e 14 dias e entre as soluções de Água Destilada e Digluconato de Clorexidina 2% no mesmo período (3 e 7 dias). O Gráfico 4 mostra o comportamento da variável tempo para os três tipos de soluções.





**Figura 14.** Influência do tratamento com diferentes soluções no módulo de elasticidade em corpos de prova de dentina desmineralizada em diferentes tempos de envelhecimento.

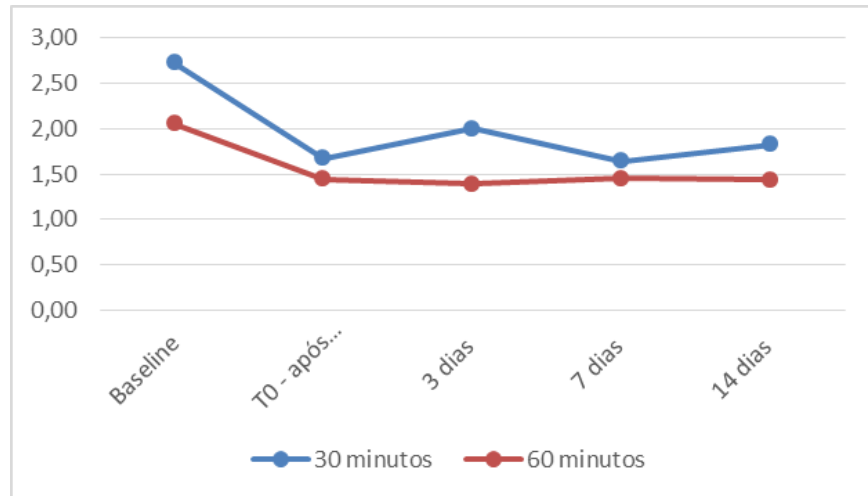
Em relação ao efeito do tempo (Baseline, T0 – após biomodificação, 3 dias, 7 dias e 14 dias) na resistência a flexão dependeu do tipo de imersão (30 e 60 minutos), como demonstra a interação significativa Tempo\*Imersão ( $p < 0,001$ ). A Tabela 4 demonstra o efeito da interação sobre os dois fatores avaliados.

**Tabela 4.** Comparações múltipla das médias e desvio padrão da resistência a flexão em relação ao tempo de imersão testadas em cada um dos 4 períodos avaliados.

	Baseline	Após biomodificação	3 dias	7 dias	14 dias
<b>30 minutos</b>	2,73± 0,92 Aa	1,67± 0,61 Abcd	2,01± 0,68 Abd	1,64± 0,61Acd	1,83± 0,65 Ad
<b>60 minutos</b>	2,05± 0,89 Ba	1,44± 0,62 Ab	1,39± 0,62 Bb	1,45± 0,65 Ab	1,44± 0,54 Bb

Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa no sentido vertical. Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa no sentido horizontal (Teste de Bonferroni,  $p < 0,05$ ).

Todos os grupos apresentaram uma diminuição do ME ao longo do tempo, após os tempos de imersão. Os corpos imersos durante 30 minutos apresentaram os maiores valores durante todos os períodos, sendo estatisticamente significante, quando comparados com a imersão durante 60 minutos, exceto no tempo de 30 minutos e 7 dias. O grupo de *baseline* apresentou os maiores valores quando comparados com os outros tempos. O Gráfico 5 mostra o comportamento da variável tempo para os três tipos de soluções.



**Figura 15.** Influência do tratamento com diferentes soluções no ME em corpos de prova de dentina desmineralizada em diferentes tempos de envelhecimento.

## 6. DISCUSSÃO

É necessário aferir através do ME da dentina, se as forças de ligação estão distribuídas na junção da interface dentina-resina, pois as propriedades mecânicas de todos os componentes da camada híbrida desempenham papel importante no sucesso da resistência adesiva a longo prazo, sendo este dependente da estabilidade de seus componentes (HOZAKA et al., 2010; YASUDA et al., 2008; MENDEZ et al., 2012). O presente estudo buscou através de teste de flexão de três pontos analisar a influência da imersão de corpos de prova padronizados sobre o ME na dentina desmineralizada tratada com EC 10%, CLX 2% e água destilada. Os resultados deste estudo foram expressos em Megapascal (MPa) e foram positivos, onde observou-se que os valores das médias encontradas se aproximaram do que é descrito nos diversos estudos na literatura, quanto aos valores de módulo de elasticidade da dentina, em grande parte dos resultados dos testes ao longo do tempo. Sabe-se que quanto maior o módulo de elasticidade atingido para determinado valor de tensão, menor a deformação, determinando assim a dureza ou rigidez relativa. Existe uma variação de valores do módulo de elasticidade da dentina na literatura, onde podemos encontrar valores expressos entre 12 a 25,07 GPa (Gigapascal) o que representa  $1,2 \times 10^4$  Megapascal (MPa) a  $2,507 \times 10^4$  Megapascal (MPa) (SABBAGH et al., 2002; XU et al., 1998; DOS SANTOS et al., 2011; FARES et al., 2005; ANGKER et al., 2008).

Segundo Bedran- Russo (2008) dentre os diversos métodos de mensuração e teste para analisar o ME da dentina desmineralizada, o ensaio de estabilidade por meio de teste de flexão de três pontos com 3% de deslocamento apresenta vantagem por ser um método que não causa destruição. O que corrobora com o presente estudo, onde utilizando esse método para análise do ME, os corpos de prova que foram testados e não sofreram danos permanentes após a análise inicial no *baseline*, dessa forma, foi possível utilizar o corpo de prova como controle e realizar avaliações após a imersão em agente com potencial de biomodificação repetindo os testes ao longo dos tempos de armazenamento no mesmo corpo de prova.

Bem como este estudo, é necessário avaliar através de testes *in vitro* os valores de ME quando se trata do desenvolvimento de produtos que objetivem melhorias na adesão ao substrato dentinário, os chamados agentes biomodificadores ou agentes de reticulação podem proporcionar estabilização, resistência à biodegradação e fortalecimento da matriz de colágeno, mantendo os valores de módulo de elasticidade estáveis ou promovendo o aumento ao longo do tempo. A maior estabilidade e resistência das fibras colágenas é muito significativa, por sua função como suporte para infiltração dos sistemas adesivos, podendo

contribuir para aumento da longevidade de restaurações em resina composta. (BEDRAN-RUSSO et al., 2009; EPASINGHE 2014)

Neste estudo, na análise dos valores do ME, todos os grupos independente de tipo solução e tempo de imersão foram efetivos em manter o ME da dentina, em valores semelhantes aos encontrados na literatura, como mencionado anteriormente. Todos os grupos apresentaram uma diminuição no ME inicial, imediatamente após os tempos de imersão nas soluções com potencial de biomodificação EC 10%, CLX 2% e grupo controle, o ME da dentina tratada em todos os grupos não apresentou aumento imediatamente após a biomodificação, mas sim de forma gradual. Os resultados demonstraram que os corpos de prova imersos na solução de EC apresentaram os maiores valores de módulo de elasticidade após 3 ( $2,13 \pm 0,64$ ) e 7 dias ( $1,89 \pm 0,44$ ), sendo estatisticamente significativa, quando comparado com os valores após a biomodificação e em 14 dias e entre as soluções de Água Destilada e CLX 2% no mesmo período (3 e 7 dias).

O presente estudo mostrou que o grupo-teste CLX 2% apresentou uma redução inicial do ME após a biomodificação, apresentando resultados similares aos encontrados por Kim et al. (2011) que demonstraram em seu estudo a capacidade da CHX de promover a remineralização da dentina desmineralizada a partir do módulo de elasticidade e imagens do MEV, os resultados expressaram que na concentração CHX 2% em 14 dias, houve uma redução inicial do módulo de elasticidade quando comparado ao *baseline*. Os mesmos autores também denotaram aumento significativo no ME nos grupos tratados com CHX após 6 semanas do tratamento biomodificador. Sabe-se que a Clorexidina 2% (CHX) é a substância mais estudada entre os agentes com capacidade de ação inibitória das MMPs e CTPs, além da atividade antimicrobiana, a literatura sugere a utilização da solução de Digluconato de CHX 2% como um passo da técnica operatória anterior a aplicação do sistema adesivo, pela capacidade de inibição em períodos curtos de aplicação e baixa concentração. Porém devido a ligação eletrostática reversível da CHX com a dentina, a longevidade da inibição é dependente da substantividade no substrato, com duração média de 180 meses, no entanto seu potencial citotóxico é conhecido e seu uso em camadas com profundidade próxima a polpa dentária não é indicado (HEBLING, 2005; LAFUENTE, 2012; BETANCOURT et al., 2019; CARRILHO et al., 2007; BRESCHI et al., 2009; BRESCHI et al., 2010; RIOS et al., 2015).

Não existe uma unanimidade ou consenso nos estudos a respeito do agente biomodificador ideal, mas a literatura demonstra um aumento do uso de produtos naturais nas pesquisas visando melhorias na camada híbrida, sendo uma opção favorável para futuras aplicações clínicas. Diversas moléculas de origem natural não tem seu mecanismo de ação como biomodificadores bem elucidado na literatura, em sua maioria os polifenóis.

Outros agentes com características análogas são descritos com potencial biomodificador possuindo atividades terapêuticas como propriedade anti-inflamatórias, anticancerígenas e atividade antiproteolítica. (BEDRAN-RUSSO et al., 2014; VIDAL et al., 2014; KARAS et al., 2017). Corroborando com as propriedades terapêuticas do óleo de Copaíba comprovadas em diversos estudos, já mencionados anteriormente no capítulo revisão de literatura.

Analisando os dados de nosso estudo quanto ao fator solução o melhor resultado em relação ao tipo de solução, foi a EC 10% apresentando os maiores valores de ME (Mpa) pós-tratamento ( $2,09 \pm 0,82$ ), sendo estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) quando comparados aos outros grupos-teste de Água destilada ( $1,57 \pm 0,65$ ) e Digluconato de Clorexidina 2% ( $1,64 \pm 0,77$ ), que não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre si. Sendo este um estudo novo em relação ao uso da EC 10% e seu potencial biomodificador e de ação na matriz dentinária desmineralizada, não existe na literatura estudos que possam subsidiar esses achados, em relação a outros estudos relacionados ao ME e o uso da EC. No entanto, sabe-se que a EC apresenta um PH básico

Porém, estudos realizados com as emulsões à base Copaíba demonstraram potencial biomodificador semelhante ao da CLX 2 % (BANDEIRA et al., 2020). Além de testes evidenciando que essa emulsão não é genotóxica e nem citotóxica, as ECs apresentaram maior porcentagem de viabilidade celular quando comparadas a CLX e atividade inibitória das MMPs -2 e -9 (SOUZA et al., 2016; ARAÚJO et al., 2021). Além de atividade antimicrobiana frente às bactérias encontradas na cavidade oral (DE BARI et al, 2016) e agente bioativo para limpeza cavitária (BANDEIRA et al, 2016) bem como outros estudos relacionados a melhoria na resistência adesiva e na formação da camada híbrida (MEIRA et al., 2020). Por não ter o seu mecanismo de ação ainda bem definido, supõe-se que atividade antiproteolítica das EC sobre as MMPs, possua relação com o alto peso molecular de seu óleo, ocupando assim espaços formados entre as fibras colágenas, pois os solventes dos adesivos não conseguem ocupar essa área, dentre outras hipóteses (BETANCOURT et al, 2019; ARAÚJO et al., 2021;)

Nos resultados deste estudo, o grupo controle (Água Destilada) apresentou os menores valores de módulo ME independente do tempo de imersão e ao longo do tempo de envelhecimento, o que corrobora com os estudos de Castellan (2011) e Ferreira (2020) onde após imersão dos espécimes em água destilada durante 1 hora, observou-se redução do ME imediatamente ao tempo de tratamento e ao longo dos tempos testados. No entanto Bridi (2018), descreve uma redução imediata após o tratamento, porém, um ganho no valor de ME semelhante aos outros grupos após 3 meses e 6 meses.

Os resultados deste estudo com relação ao tempo de imersão, demonstraram que corpos de prova imersos durante 30 minutos apresentaram os maiores valores de ME pós- tratamento, durante todos os períodos de envelhecimento, sendo estatisticamente significante ( $p < 0,05$ ), quando comparados com a imersão durante 60 minutos. Mendes (2018) ao avaliar tempo clínico aplicável de 1 min não observou aumento significativo no módulo de elasticidade dos corpos de prova de forma imediata, quando comparado com imersão por 1 hora, onde o efeito se mostrou-se dependente do tempo de imersão. Segundo o estudo de Liu Y. (2013), esses longos tempos de imersão nas substâncias-teste são impraticáveis clinicamente, mas podem ser justificados no desenho de estudo pela espessura dos corpos de prova, pois nos testes *in vitro* existe uma diferença das condições clínicas reais objetivando-se apenas analisar o efeito biomodificador, sendo o tempo de imersão não condizente com um tempo clínico passível de aplicação menor, pois clinicamente o colágeno exposto após desmineralização com ácido apresenta-se em escalas micrométricas, sendo esta uma limitação do presente modelo de estudo. Dessa forma pressupõe-se que o potencial de alguns agentes biomodificadores possuirá maior eficiência em zona mais fina de interação.

Apesar de não ser um dos objetivos do estudo, observou-se que após a imersão na EC bem como nos outros grupos, não houve alteração de cor perceptível nos espécimes, o que é favorável tendo em vista aplicação futura na prática clínica, o que não corrobora com o estudo de Moreira (2017) onde após tratamento com PACs e extrato de Aroeira, visualmente notou-se pigmentação dos espécimes com coloração fortemente escura, não sendo desejável essa alteração de cor da dentina.

Embora os corpos de prova de dentina desmineralizada tratados com EC tenham apresentado bons resultados em relação a manutenção do ME, outros estudos são necessários para compreender ao longo do tempo como funciona o mecanismo de variação de massa, interação e formação de ligações cruzadas por esse agente, além da relação com seus componentes químicos, durante maior tempo de armazenamento.

Os resultados deste estudo em conjunto com às pesquisas anteriores relacionadas a Emulsão à base de Copaíba, demonstram evidências do potencial para emprego futuro de um produto amazônico na odontologia, no entanto, testes de longa duração são necessários para compreender o seu mecanismo de ação, e ensaios clínicos randomizados para comprovar a eficácia e eficiência de aplicação clínica à partir dos testes pré-clínicos já realizados.

## 7. CONCLUSÃO

Após a análise dos resultados, concluiu-se que o tratamento do colágeno da matriz dentinária desmineralizada com soluções com potencial biomodificador durante 30 e 60 min, reduziu imediatamente o ME após os tempos de imersão 30 e 60 min, no entanto, a emulsão à base de Copaíba foi o grupo que apresentou maior estabilidade dos valores de ME ao longo tempo de armazenamento avaliado, sendo efetivo em manter o ME da dentina em valores semelhantes aos descritos na literatura, em relação à dentina desmineralizada, melhorando suas propriedades mecânicas do colágeno e mantendo estáveis após 14 dias de armazenamento.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, T. R. et al. Dentin biomodification potential depends on polyphenol source. **Journal of dental research**, v. 93, n. 4, p. 417-422, 2014.
- AL-AMMAR, A. et al. The use of collagen cross-linking agents to enhance dentin bond strength. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v. 91, n. 1, p. 419-424, 2009.
- ALBERTS, B. et al. *Biologia Molecular da Célula*. 6. ed. - Porto Alegre: **Artmed**, 2017.
- ALMEIDA, G. S., et al. ZnCl<sub>2</sub> incorporated into experimental adhesives: Selected physicochemical properties and resin-dentin bonding stability. **BioMed Research International**, v. 564, p. 1-8, 2017.
- ANGKER, L. et al. Micro-mechanical characterisation of the properties of primary tooth dentine. **J Dent**, v. 31, n. 4, p. 261-267, 2003.
- ARAÚJO, E. A. Emulsão à base de Copaíba (*Copaifera Multijuga*) para a limpeza de preparo cavitário: Controle de qualidade físico-químico. **Relatório Final de iniciação Científica**. 27 p, 2015.
- ARAÚJO, E. M. et al. Effect of a Copaiba Oil-Based Dental Biomodifier on the Inhibition of Metalloproteinase in Adhesive Restoration. **Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences**, v. 2021, p. 1-10, 2021.
- AYDIN. B. et al. Evidence to the role of interflavan linkages and galloylation of proanthocyanidins at sustaining long-term dentin biomodification. **Dental Materials**, v.2, n. 35, p. 328-334, 2018.
- BANDEIRA M. F. C. L. et al. Dentin Cleaning Ability of an Amazon Bioactive: Evaluation by Scanning Electron Microscopy. **The Open Dentistry Journal**, v. 10, n. 1, p. 182-87, 2016.
- BANDEIRA, M. F. C. L. et al. Adhesive resistance of a copaiba oil-based dentin biomodifier. **Braz. oral res.**, v. 34,p. 1-10, 2020.
- BANDEIRA, M.F.C. L et al. Biopharmaceutical products and biomaterials of the Amazon region used in dentistry. **Biomaterial-supported Tissue Reconstruction or Regeneration**, p. 113-126, 2018.
- BANDEIRA, M.F.C. L. et al. Dentin Cleaning Ability of an Amazon Bioactive: Evaluation by Scanning Electron Microscopy. **The Open Dent J**, v. 10, n.1, p. 182- 87, 2016.
- BEDRAN-RUSSO A.K. et al. Dentin biomodification: strategies, renewable resources and clinical applications. **Dental Materials**, v. 30, n. 1, p. 62-76, 2014.
- BEDRAN-RUSSO, A. K. B. et al. Mechanical properties of tannic-acid-treated dentin matrix. **Journal of dental research**, v. 88, n. 9, p. 807-811, 2009.
- BEDRAN-RUSSO, A. K. et al. Application of crosslinkers to dentin collagen enhances the ultimate tensile strength. **J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater.**, v. 80, n. 1, p. 268-



272, 2006.

BEDRAN-RUSSO, A. K. et al. Long-term effect of carbodimide on dentin matrix and resin-dentin bonds. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v. 94, n.1, p. 250-255, 2010.

BEDRAN-RUSSO, A.K.B. et al. Changes in stiffness of demineralized dentin following application of collagen crosslinkers. **Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials**, v. 86, n. 2, p. 330-334, 2008.

BEDRAN-RUSSO, Ana K. et al. Dentin biomodification: strategies, renewable resources and clinical applications. **Dental materials**, v. 30, n. 1, p. 62-76, 2014.

BERKOVITZ, B. K. B. et al. Oral Anatomy, Histology and Embriology (4ª edição). **Mosby Elsevier**, 2009.

BERTASSONI, L. E. et al. The dentin organic matrix - limitations of restorative dentistry hidden on the nanometer scale. **Acta Biomater**, v. 8, n. 7, p. 2419-2433, 2012.

BETANCOURT, D.E et al. . Resin-Dentin bonding interface: Mechanisms of degradation and strategies for stabilization of the hybrid layer. **Int J Biomater**, v. 2019, p.1-11, 2019.

BOHNEBERGER, G. et al. Fitoterápicos na odontologia, quando podemos utilizá-los? Phytotherapy in dentistry, when can we use them?. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 4, p. 3504-3517, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n° 26 de 13 de maio de 2014. **ANVISA**, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Programa nacional de plantas medicinais e fitoterápicos, 2009.

BRESCHI, L. et al. Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: a 2 year in vitro study. **Dental Materials**, v. 26, n. 4, p. 320-325, 2010.

BRESCHI, L. et al. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. **Dental materials**, v. 24, n. 1, p. 90-101, 2008.

BRESCHI, L. et al. Dentin bonding systems: From dentin collagen structure to bond preservation and clinical applications. **Dental Materials**, v. 34, n.1. p. 78-96, 2018.

BRESCHI, L.et al. Influence of chlorhexidine concentration on the durability of etch-andrinse dentin bonds: a 12-month in vitro study. **J. Adhes. Dent**, v. 11, n. 3, p. 191-198, 2009.

BRIDI, E. C. et al. Long-term evaluation of the stability of dentin matrix following treatments with aqueous solutions of titanium tetrafluoride at different concentrations. **Archives of oral biology**, v. 91, p. 51-56, 2018.

CARNEIRO, F.L. et al. Avaliação do potencial de biomodificação dentinária do líquido da casca da castanha de caju. **Brazilian Journal of Health Review**, v.4, n.1, p 1718-1735, 2021.

- CARRILHO, M.R.O. et al. Chlorhexidine Preserves Dentin Bond in vitro. **J. Dent. Res**, v.81, n.1, p. 90-94, 2007.
- CARVALHO, A. C. B. et al. The Brazilian market of herbal medicinal products and the impacts of the new legislation on traditional medicines. **J. Ethnopharmacol.**, v. 212, p. 29-35, 2018.
- CASTELLAN, C. S. et al. Long-term stability of dentin matrix following treatment with various natural collagen cross-linkers. **J Mech Behav Biomed Mater**. vol. 4, n. 7, p. 1343-1350, 2011.
- CASTELLAN, C. S. et al. Mechanical characterization of proanthocyanidin-dentin matrix interaction. **Dental Materials**, v. 26, n.10, p. 968–973, 2010.
- DAOOD, U. et al. In vitro assessment of ribose modified two-step etch-and-rinse dentine adhesive. **Dental Materials**, v.34, n. 8, p. 1175-1187, 2018.
- DE ARAÚJO, LCR. et al. Atividade do óleo de copaíba sobre radicais livres formados durante a resposta inflamatória. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 53538- 53553, 2020.
- DE BARI, C.C. et al.; Amazon emulsions as cavity cleansers: antibacterial activity, cytotoxicity and changes in human tooth color. **Rev. bras.farmacogn**, v.26; n.4; p.497-501, 2016.
- DELGADO, C. C. et al. Redução da atividade proteolítica da dentina após curtos períodos de aplicação de proantocianidina. **Rev. odontol. UNESP**, v. 44, n. 6, p. 355-359, 2015.
- DOS SANTOS, P. H; KAROI S.; BEDRAN-RUSSO A. K; Nanomechanical properties of biochemically modified dentin bonded interfaces. **J Oral Rehabil**, v. 38, n.7, p. 541-546, 2011.
- DUTOV, P. et al. Measurement of Elastic Modulus of Collagen Type I Single Fiber. **PLOS One**, v. 11, n. 1, 2016.
- EPASINGHE, D. J. et al. Effect of flavonoids on the mechanical properties of demineralised dentine. **Journal of dentistry**, v. 42, n. 9, p. 1178-1184, 2014.
- FARES, N.H. et al. Resistência flexural e módulo de elasticidade da resina composta. **Rev de Clin Pesq Odontol**, v.2, p. 53-5, 2005.
- FARINA, A. P. et al. Structural and biomechanical changes to dentin extracellular matrix following chemical removal of proteoglycans. **Odontology**, v. 107, n. 3, p. 316-323, 2019.
- FEJERSKOV, O.; KIDD, E. Cárie Dentária: Fisiopatologia e Tratamento., v. 3, **Ed. Santos**, 2016.
- FERREIRA, Andreza Camurça et al. Biomodifying Effect of Different Cross-Linking Agents on the Mechanical Properties of Dentin Collagen. **Rev. Bras. Odontol**, v. 77, p. 1836-1841, 2020.
- FRASSETTO, A. et al. Mechanisms of degradation of the hybrid layer in adhesive dentistry and therapeutic agents to improve bond durability—A literature review. **Dental Materials**, v. 32, n. 2, p. 41-53, 2016.

- GARCIA, A.; SPIM, J. A.; SANTOS, C. A.; Ensaios dos materiais. **LTC- Livros Técnicos Científicos**. 247p. 2008.
- GOH, K. L. et al. Stress transfer in collagen fibrils reinforcing connective tissues: effects of collagen fibril slenderness and relative stiffness. **J Theor Biol**, v. 245, n. 2, p.305–311.2007
- GRIGORATOS, D. et al. Effect of exposing dentine to sodium hypochlorite and calcium hydroxide on its flexural strength and elastic modulus. **International Endodontic Journal**, v. 34, p. 113-119, 2001.
- HARA A.T, et al. Influence of the mineral content and morphological pattern of artificial root caries lesion on composite resin bond strength. **Eur J Oral Sci**, vol. 112, n. 1, p. 67-72, 2004.
- HEBLING, J. et al. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. **J Dent Res**, v. 84, n. 8, p. 741-6, 2005.
- HOSAKA, K. et al. Relationship between mechanical properties of one-step self-etch adhesives and water sorption. **Dent Materials**, v. 26, n. 4, p. 360-7, 2010.
- HOSOYA, Y.; MARSHALL, G. W. The nano-hardness and elastic modulus of carious and sound primary canine dentin. **Operative dentistry-university of washington**, v. 29, n. 2, p. 142-149, 2004.
- HUO, B. et al. An inhomogeneous and anisotropic constitutive modelo of human dentin. **Journal of Biomechanics**, v. 38, n.1, p. 587-594, 2005.
- KARAS, et al. Galloylation of polyphenols alters their biological activity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 105, p. 223-240, 2017.
- KIM, D. et al. The influence of chlorhexidine on the remineralization of demineralizeddentine. **Journal of Dentistry**, v.39, n. 12, p; 855-862, 2011.
- KINNEY, J.; MARSHALL, G.; The Mechanical Properties of Human Dentin: a Critical Review and Re-evaluation of the Dental Literature. **American Association of Oral Biologists**, v.14, n.10, p. 13-29, 2003.
- LAFUENTE, D. SEM Analysis of Hybrid Layer and Bonding Interface After Chlorhexidine Use. **Oper Dent**. v.37, n.2, 172-180, 2012.
- LEANDRO, L.M. et al. Chemistry and biological activies of terpenoids from copaiba (*Copaifera spp.*) oleoresins. **Molecule**, v.17, p. 3866-89, 2012.
- LI, X. et al. Determination of elastic and plastic mechanical properties of dentin based on experimental and numerical studies. **Applied Mathematics and Mechanics**, v. 36, n. 10, p. 1347-1358, 2015.
- LIU, Yi et al. Enhancement in dentin collagen's biological stability after proanthocyanidins treatment in clinically relevant time periods. **Dental Materials**, v. 29, n. 4, p. 485-492, 2013.
- MEIRA, D. F. J et al. Avaliação histomorfométrica do efeito de um biomodificador de dentina à base de óleo de copaiba (*Copaifera multijuga* Hayne) na camada híbrida. **Brazilian**

**Journal of Development**, v. 6, n. 9, p. 65445-65458, 2020.

MENDES, T. A. D et al. Ácido tânico como agente biomodificador de dentina. **Journal of Health & Biological Sciences**, v.7, n.2, p. 182-186, 2019.

MENDES, T. A. D. Associação entre a técnica úmida etanólica e diferentes agentes de biomodificação de colágeno no procedimento adesivo em dentina. 2018. Dissertação (Mestrado) - Curso de Odontologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

MENDEZ, J.C. et al. Effect of water storage on microtensile bond strength of a two-step self-etch adhesive and a two-step etch-and-rinse adhesive. **Acta Odontol Latinoam**. v.25, n2, p.176-80, 2012.

MILÉRIO, P. S. L. L. Emulsão de Copaifera multijuga Hayne para limpeza de preparo cavitário: controle de qualidade físico-químico e avaliação da atividade antibacteriana. 94 p. Dissertação (Mestrado) - Curso de Odontologia, Universidade Federal do Amazonas, 2015.

MOREIRA, M. A. et al. Effectiveness of new natural biomodification agents of Anacardiaceae extracts in dentin collagen cross-linking. **Dental materials**, v.33,n.10, p. 1103-1109, 2017.

MOURA, L. G. et al. . Dentin surface and hybrid layer morphological analysis after use of a copaiba oil- based dentin biomodifier. **Conjecturas, [S. l.]**, v. 21, n. 4, p. 78–97, 2021.

MUNÓZ, M. et al. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. **Journal of Dentistry**, v. 41, n. 5, p.404-11, 2013NAKABAYASHI, N.; NAKAMURA, M.; YASUDA, N.; Hybrid layer as a dentin-bonding mechanism. **J Esthet Dent**, v.3, n.4, p. 133-8, 1991.

NANCY, A. et al. Ten Cate's Oral Histology: development, sctructure, and function. 8th ed. **Mosby Elsevier**, 2013.

NIU, Li-na et al. Biomimetic remineralization of dentin. **Dental materials**, v. 30, n. 1, p. 77-96, 2014.

NORONHA, F. Dentina intratubular: evolução e considerações clínicas. 30 p. Dissertação (Mestre em Medicina Dentária) - Universidade Fernando Pessoa, 2019.

OLIVEIRA, G. P. et al. Antimicrobial activity in vitro of extracts of the stem bark and fruit of *Libidibia ferrea* L. against microorganisms of the oral cavity. **Revista Fitos**, v. 8, n. 2, p. 73-160, 2013.

PASHLEY, D. H. et al. State of the art etch-and-rinse adhesives. **Dental materials**, v. 27, n. 1, p. 1-16, 2011.

PEREIRA, J. C.; NETTO, CAMILLO A.; GONÇALVES, S. A. Dentística: uma abordagem multidisciplinar. **Artes Médicas Editora**, 2014.

PLOTINO, G. et al. Flexural properties of endodontic posts and human root dentin. **Dental Materials**, v. 23. n. 9, p. 1129-1135, 2007.

- REIS, L. B. M. et al. Conhecimentos, atitudes e práticas de Cirurgiões-Dentistas de Anápolis-GO sobre a fitoterapia em odontologia. **Rev. odontol. UNESP**, v. 43, n. 5, p. 319-325, 2014.
- RIOS, L. F. F. et al. Chlorhexidine does not improve but preserves bond strength to eroded dentin. **American journal of dentistry**, v. 28, n. 1, p. 28-32, 2015
- RYOU, H. et al. On the stiffness of demineralized dentin matrices. **Dental Materials**, v. 32, n. 2, p. 161-170, fev. 2016.
- SABBAGH, J.; VREVEN, J.; LELOUP, G.; Dynamic and static moduli of elasticity of resin-based materials. **Dental Materials**, v. 18, n. 1. p. 64-71, 2002.
- SESEOGULLARI-DIRIHAN, R. et al. Use of crosslinkers to inactivate dentin MMPs. **Dental Materials**, v. 32, n. 3, p. 423-432, 2016.
- SHOULDERS, M. D.; RAINES, R. T.; Collagen structure and stability. **Annual review of biochemistry**, v. 78, p. 929-958, 2009.
- SKUPIEN, J.A. et al. Micromorphological Effects and the Thickness of the Hybrid Layer – A Comparison of Current Adhesive. **J Adhes Dent**, v. 12, p. 435-442, 2010.
- SOUZA, Juliana Pinto. Adesão dentinária: Citotoxicidade e genotoxicidade da emulsão à base de óleo de copaíba como coadjuvante na adesão dentinária. 2016. 66f. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Amazonas, 2016.
- TAYLOR, D. R. et al. Relationship between filler and matrix resin characteristics and the properties of uncured composite pastes. **Biomaterials**, v. 19, n.1. p. 197-204, 1998.
- TJÄDERHANE, L. et al. Matrix metalloproteinases and other matrix proteinases in relation to cariology: the era of ‘dentin degradomics. **Caries research**, v. 49, n. 3, p. 193-208, 2015.
- TOBOUTI, P.L. et al. Antimicrobial activity of copaiba oil: A review and a call for further research. **Biomed Pharmacother**, v. 94, p. 93-9, 2017.
- VEIGA JUNIOR, V.F. et al. Chemical composition and anti-inflammatory activity of copaiba oils from *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke, *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera multijuga* Hayne comparative study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, p. 248 - 54, 2007.
- VELO, M. M. A. C. et al. Longevity of restorations in direct composite resin: literature review. **RGO, Rev. Gaúch. Odontol**, v.64, n. 3, p. 320-326, 2016.
- VIDAL, C.M.P et al.; Collagen-collagen interactions mediated by plant-derived proanthocyanidins: a spectroscopic and atomic force microscopy study. **Acta Biomaterialia**, v. 41, n.1, p. 110-118, 2016
- VIDAL, C.M.P. et al. Galloyl moieties enhance the dentin biomodification potential of plant-derived catechins. **Acta biomaterialia**, v. 10, n. 7, p. 3288-3294, 2014.

XU, H. H. et al. Indentation damage and mechanical properties of human enamel and dentin. **J Dent Res**, v. 77, p. 472-480, 1998.

YASUDA, G. et al. Changes in elastic modulus of adhesive and adhesive-infiltrated dentin during storage in water. **J Oral Sci**, v. 50, n. 4, p. 481-486, 2008.

YILMAZ, H. A. C., et al. Flexural Strength and fracture toughness of dental core ceramics. **J Prosthet Dent**, v. 98, n. 2, p. 120-128, 2007.

## APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)



Universidade Federal do Amazonas  
Faculdade de Odontologia  
Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica

1/5

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nós, Maria Fulgência Costa Lima Bandeira e Geisy Rebouças Lima, pesquisadores da Universidade Federal do Amazonas, estamos convidando a ceder seu dente extraído para a pesquisa intitulada em: **“ENSAIO CLÍNICO DA EMULSÃO À BASE DE ÓLEO DE *Copaifera multijuga* Hayne COMO BIOMODIFICADOR DA ADESÃO DENTINÁRIA”** e gostaríamos da sua autorização.

**Título do Projeto:** ENSAIO CLÍNICO DA EMULSÃO À BASE DE ÓLEO DE *Copaifera multijuga* Hayne COMO BIOMODIFICADOR DA ADESÃO DENTINÁRIA

**Investigador:** Pesquisadora **Maria Fulgência Costa Lima Bandeira** (professora titular da disciplina de Dentística da FAO/UFAM, pode ser contatada pelo telefone: **092 98114-2527** ou pelo email [fulgencia@ufam.edu.br](mailto:fulgencia@ufam.edu.br));

Pesquisadora **Geisy Rebouças Lima** (aluna do Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica da FCF/UFAM, pode ser contatada pelo telefone **092 99332-0279** ou e-mail [geisylima@hotmail.com](mailto:geisylima@hotmail.com)).

**Endereço:** Rua Ministro Waldemar Pedrosa, 1539, Praça 14 de Janeiro. CEP 69025-050, Manaus–AM, Brasil.

Rubricas:  
Participante da Pesquisa e /ou responsável  
legal \_\_\_\_\_  
Ou impressão datiloscópica:

Pesquisador Responsável \_\_\_\_\_  
Orientador \_\_\_\_\_ Orientado \_\_\_\_\_



Universidade Federal do Amazonas  
 Faculdade de Odontologia  
 Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica

2/5

O material será coletado após o procedimento cirúrgico que o senhor (a) será submetido (a) previsto no planejamento do tratamento apresentado ao senhor(a) pelo serviço de saúde que está sendo atendido. O dente será coletado em frascos individuais, identificados com a numeração sequencial disponibilizada pelos pesquisadores e armazenados em frascos contendo água destilada mantidos a uma temperatura de 5°C até a sua utilização.

O dente doado será utilizado na pesquisa científica: Ensaio Clínico da emulsão à base de óleo de *Copaifera multijuga* Hayne como biomodificador da adesão dentinária que obrigatoriamente deve ser enviado ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos para apreciação e liberação de parecer. Os dentes doados somente serão utilizados caso obtenham parecer positivo.

O estudo realizado com o material doado envolverá pesquisa na área de Odontologia (Dentística). Esta pesquisa será útil para os avanços científicos dos estudos em laboratórios a cerca do comportamento de diferentes materiais e/ou condições de exposição da superfície dentária.

Ao convidá-lo, gostaríamos de esclarecer que:

1. A doação do dente é livre e não causará quaisquer prejuízos pessoais ou ao andamento do seu atendimento no Serviço de Saúde.
2. Suas informações pessoais serão mantidas em sigilo e privacidade, pois suas respostas serão analisadas em conjunto com as respostas de todos os outros voluntários.
3. Você é livre para desautorizar o uso de suas respostas/amostras a qualquer momento, sem prejuízo ou penalização alguma às partes envolvidas.

Rubricas:  
 Participante da Pesquisa e /ou responsável legal \_\_\_\_\_  
 Ou impressão datiloscópica:

Pesquisador Responsável \_\_\_\_\_  
 Orientador \_\_\_\_\_ Orientado \_\_\_\_\_





Universidade Federal do Amazonas  
Faculdade de Odontologia  
Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica

3/5

4. Você será comunicado sobre a necessidade de descarte do material armazenado, o que poderá ocorrer se a amostra não atender a critérios mínimos de qualidade para pesquisa, se houver dificuldades institucionais para seu armazenamento (espaço) ou se a pesquisa deixar de existir. Nos dois últimos casos, deveremos ofertar seu material à uma instituição de pesquisa que possui Biobanco aprovado pela CONEP e informar ao CEP da UFAM, que informará a CONEP;
5. Você terá livre acesso aos resultados obtidos nas pesquisas realizadas com seu material biológico;
6. O material concedido ficará sob a guarda e cuidado dos pesquisadores, e será utilizado como dados de pesquisa científica, podendo vir a ser divulgados em artigos e/ou congressos, resguardando-se sempre o sigilo quanto à sua identidade e dos demais voluntários.
7. A realização da pesquisa utilizando o material doado aos pesquisadores necessita obrigatoriamente de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa institucional e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), o qual deverá estar ciente da utilização deste material.
8. Você terá acesso gratuito;
  - a) às informações associadas ao seu material biológico humano armazenado;
  - b) às informações obtidas a partir de seu material biológico humano utilizado;

Rubricas:  
Participante da Pesquisa e /ou responsável  
legal \_\_\_\_\_  
Ou impressão datiloscópica:

Pesquisador Responsável \_\_\_\_\_  
Orientador \_\_\_\_\_ Orientado \_\_\_\_\_



Universidade Federal do Amazonas  
 Faculdade de Odontologia  
 Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica

4/5

- c) às informações genéticas obtidas à partir do seu material biológico humano utilizado, inclusive, aquelas que impliquem em riscos para doenças não preveníveis ou riscos familiares;
  - d) ao consentimento genético, quando aplicável;
  - e) às informações sobre as finalidades do armazenamento, incluindo seu responsável, os riscos e benefícios potenciais, as garantias de qualidade de conservação e integridade de seu material biológico, e as medidas para garantir a privacidade e confidencialidade.
9. Este TCLE está sendo elaborado em duas vias, rubricado em todas as páginas pelo participante da pesquisa ou seu responsável e pelo pesquisador responsável.
10. Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como um participante de pesquisa, você pode contatar o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) do Setor de Ciências da Saúde da UFAM, pelo telefone Fone: (92) 3305-1181 Ramal 2004 / (92) 9171-2496. O CEP é constituído por um grupo de profissionais de diversas áreas, com conhecimentos científicos e não científicos que realizam a revisão ética inicial e continuada da pesquisa para mantê-lo seguro e proteger seus direitos, localizada na Escola de Enfermagem de Manaus – EEM/UFAM Rua Teresina, 495– Adrianópolis – CEP: 69057-070, ou através do responsável pela pesquisa, Prof<sup>ª</sup> Msc. Geisy Rebouças Lima pelo telefone (92) 993320279 ou pelo e-mail [geisylima@hotmail.com](mailto:geisylima@hotmail.com).

Rubricas:  
 Participante da Pesquisa e /ou responsável  
 legal \_\_\_\_\_  
 Ou impressão datiloscópica:

Pesquisador Responsável \_\_\_\_\_  
 Orientador \_\_\_\_\_ Orientado \_\_\_\_\_



Universidade Federal do Amazonas  
 Faculdade de Odontologia  
 Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica

5/5

Aceito conceder o material para os pesquisadores da pesquisa intitulada: Ensaio Clínico da emulsão à base de óleo de *Copaífera multijuga* Hayne como biomodificador da adesão dentinária a ser realizada na Universidade Federal do Amazonas:

( ) SIM

( ) NÃO

Diante destas informações, declaro meu consentimento livre para ceder o dente \_\_\_\_ para o orientador e pesquisador responsável Msc. Geisy Rebouças Lima, mestranda Letícia da Silva Soares Gomes e a acadêmica Larissa Carolina Ramos Araújo, Assistente da Pesquisa para a realização da pesquisa Ensaio Clínico da emulsão à base de óleo de *Copaífera multijuga* Hayne como biomodificador da adesão dentinária, assinando o presente termo.

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
 (Assinatura do Participante de pesquisa ou responsável legal)

\_\_\_\_\_  
 Assinatura do Pesquisador

\_\_\_\_\_  
 Assinatura do Pesquisador

## ANEXO 1 - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA (CEP)



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** ENSAIO CLÍNICO DA EMULSÃO À BASE DE ÓLEO DE Copaifera multijuga Hayne COMO BIOMODIFICADOR DA ADESÃO DENTINÁRIA

**Pesquisador:** Geisy Rebouças Lima

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 14945719.1.0000.5020

**Instituição Proponente:** Universidade Federal do Amazonas - UFAM

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.691.444

#### Apresentação do Projeto:

Trata-se de uma EMENDA cujo o objeto é a solicitação para constituição de biorrepositório de dentes coletados.

O estudo encontra-se descrito abaixo:

Esta pesquisa divide-se em dois estudos, sendo o primeiro estudo a avaliação da estabilidade do colágeno presente na dentina de 30 dentes permanentes humanos adquiridos no Biobanco da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Amazonas (FAO – UFAM) frente à emulsão à base do óleo de Copaiba (ESTUDO I).

O segundo trata-se de Ensaio Clínico, cego, paralelo e constituído de um grupo caso com a emulsão à base de óleo de Copaiba (Copaifera multijuga Hayne) e um grupo controle (emulsão de digluconato de clorexidina a 2%) em 40 dentes decíduos, que será realizada a comparação ex vivo da superfície dentinária do desfecho entre o grupo caso e o grupo controle, observando a morfologia da camada híbrida formada após

Endereço: Rua Teresina, 495

Bairro: Adriaópolis

UF: AM

Município: MANAUS

CEP: 69.057-070

Telefone: (52)3305-1181

E-mail: cep.ufam@gmail.com



Continuação do Parecer: 3.891.444

as aplicações da emulsão proposta em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e análise histomorfolométrica. (ESTUDO II).

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Primário:

Analisar o efeito da emulsão à base de óleo de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne) na morfologia da camada híbrida formada com o sistema adesivo convencional em dentes decíduos.

Objetivo Secundário:

\* Realizar ensaio clínico com a aplicação da emulsão à base do óleo de Copaíba; \* Comparar as superfícies dentinárias cortadas e tratadas com a emulsão formuladas à base do óleo de Copaíba e digluconato de clorexidina a 2% através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV);

\* Comparar histomorfológicamente as superfícies dentinárias tratadas com a emulsão à base do óleo de Copaíba e Digluconato de clorexidina;

\* Analisar a Estabilidade do colágeno frente à emulsão à base de óleo de Copaíba.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos segundo a pesquisadora:

Os dentes serão fornecidos pelo Biobanco da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Amazonas e pode haver quebra de confidencialidade do doador do elemento dentário. Serão tomados os cuidados junto aos responsáveis ao Biobanco que estes dentes sejam devidamente codificados, resguardando a identidade do doador (ESTUDO I). Toda pesquisa com seres humanos envolve riscos. O risco de constrangimento pela exposição da identidade e dos dados da história odontológica, inclusive as imagens fotográficas e radiográficas dos participantes, este risco será minimizado por meio da adoção da medida de proteção de sua confidencialidade, garantindo o anonimato, pois os dados de identificação não serão divulgados e as imagens serão apresentadas de forma a não permitir seu reconhecimento. Durante o procedimento restaurador da estrutura dental, o paciente poderá sentir algum desconforto ou dor, sintomatologia inerente ao procedimento necessário, mas o atendimento será realizado por profissional habilitado, podendo receber nesses casos pode receber anestesia local para evitar a dor. Existe o risco de contaminação e exposição de radiação pelas tomadas radiográficas do participante, mas todas as medidas de biossegurança serão tomadas, como a utilização de materiais esterilizados e

Endereço: Rua Teresina, 495

Bairro: Adriápolis

CeP: 69.057-070

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)3305-1181

E-mail: cep.ufam@gmail.com



Continuação do Parecer: 3.691.444

Equipamentos de Proteção Individual e de proteção radiológica.

Benefícios segundo a pesquisadora:

Esse teste pode evidenciar que a emulsão à base de óleo de Copaiba pode atuar como um biomodificador da adesão dentinária (ESTUDO I). Esses participantes terão seu atendimento odontológico desde o exame clínico, profilaxia dentária e atendimento odontológico, se necessário serão encaminhados para realizar outros procedimentos dentários. A pesquisa poderá contribuir na evidenciação que a emulsão à base de óleo de Copaiba atua como biomodificador da adesão (ESTUDO II).

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisa tem relevância clínica e acadêmica. A equipe apresenta experiência no tema proposto.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os termos de apresentação obrigatória já foram avaliados nas submissões anteriores e encontram-se em concordância com a resolução 466/12.

Para a presente Emenda a pesquisadora inseriu no TCLE a informação de que o órgão dental será cedido ao Biorepositório da pesquisa. O TCLE apresentado nesta emenda está em concordância com a Resolução 466/12

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

A pesquisadora apresentou Emenda cujo o objeto é a constituição de Biorepositório para sua pesquisa. Como justificativa a pesquisadora argumenta que o biobanco da Faculdade de Odontologia da UFAM está sob reformulação, de modo que o mesmo encontra-se hoje incapacitado de fornecer o material para sua pesquisa, conforme proposto na versão original do projeto já aprovado por este comitê. Sob estas circunstâncias a pesquisadora propôs a constituição de um biorepositório para seu trabalho.

Conclusão:

A presente EMENDA tem como parecer APROVADA.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Endereço: Rua Teresina, 495	CEP: 69.057-070
Bairro: Adriadópolis	
UF: AM	Município: MANAUS
Telefone: (92)3308-1181	E-mail: cep.ufam@gmail.com



Continuação do Parecer: 3.691.444

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_144478_6_E1.pdf	30/09/2019 11:13:57		Aceito
Outros	tcleterceiromolar.docx	30/09/2019 11:08:29	Geisy Rebouças Lima	Aceito
Outros	oficiobiorrepositorio.jpeq	30/09/2019 11:06:19	Geisy Rebouças Lima	Aceito
Parecer Anterior	parecer.pdf	10/07/2019 10:55:17	Geisy Rebouças Lima	Aceito
Outros	cartaresposta2.jpeq	10/07/2019 10:54:23	Geisy Rebouças Lima	Aceito
Outros	cartaresposta1.jpeq	10/07/2019 10:53:56	Geisy Rebouças Lima	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	cartarespostapdf.pdf	10/07/2019 10:48:50	Geisy Rebouças Lima	Aceito
Outros	oficiofao.jpeq	10/07/2019 10:45:10	Geisy Rebouças Lima	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.docx	10/07/2019 10:43:00	Geisy Rebouças Lima	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	biobanco.jpeq	10/07/2019 10:42:31	Geisy Rebouças Lima	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	consentimentoeASSENTIMENTO.docx	10/07/2019 10:41:04	Geisy Rebouças Lima	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	23/05/2019 15:31:39	Geisy Rebouças Lima	Aceito
Outros	MEV.pdf	23/05/2019 15:19:02	Geisy Rebouças Lima	Aceito
Outros	labfito.jpeq	23/05/2019 15:14:37	Geisy Rebouças Lima	Aceito
Outros	patologia.jpeq	21/05/2019 10:56:01	Geisy Rebouças Lima	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

Endereço: Rua Teresina, 495  
 Bairro: Adrianópolis  
 UF: AM Município: MANAUS  
 CEP: 69.057-070  
 Telefone: (92)3305-1181 e-mail: csp.ufam@gmail.com



UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
AMAZONAS - UFAM



Continuação do Processo: 3.052.444

MANAUS, 07 de Novembro de 2019

---

Assinado por:

**Eliana Maria Pereira da Fonseca**  
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Tereza, 425

Bairro: Adriaópolis

CEP: 68.057-070

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (00)3205-1161

e-mail: [ppp.ufam@gmail.com](mailto:ppp.ufam@gmail.com)

Page 5 of 10